


Sıçanlarda Akciğer Doku Yağ Asit Düzeyleri Üzerinde Kobalt Ve Silibinin Etkileri

H.Turan AKKOYUN 

¹Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji ABD, Siirt

*Sorumlu Yazar: turanakkoyun@hotmail.com

Geliş Tarihi: 16.05.2024 Düzeltme Geliş Tarihi: 06.06.2024 Kabul Tarihi: 18.07.2024

ÖZ

Çalışmada kobalt ve önemli bir flavonoid olan silibin uygulanan sıçanlarda akciğer dokusunun yağ asit içeriğindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlandı. 250±300 gr ağırlığında Wistar Albino cinsi 24 sıçan Control(0.5 mL,i.pizotonik), Kobalt(150 mg/kg/gün/oral), Silibinin(100 mg/kg/gün/oral), Kobalt+Silibinin(150 mg/kg/gün+100 mg/kg/gün/oral) olarak 4 gruba ayrıldı. Doku yağ asit analizleri GC kullanılarak gerçekleştirildi. Yağ asitleri analiz sonuçları incelendiğinde, Kontrole kıyasla genel olarak bütün gruplarda doymuş yağ asit düzeylerinde azalma gözlenirken ($p>0,05$, $p<0,01$), 16:1 n-7,18:1 n-7,18:1 n-9,18:2 n-6c,18:3 n-3, gibi doymamış yağ asitlerinde kontrole oranla kobalt uygulanan grupta artış, 15:1, 17:1, 22:5 n3, 22:6 n3 ise azalmalar tespit edildi. Silibin uygulanan grupta ise kontrole kıyasla 15:1, 17:1, 18:1 n-9, 20:4 n:6, 22:5 n3, 22:6 n:3, 20:4 n:6 yağ asitlerinde azalmalar belirlenirken bu azalmalardan bazılarının istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü($p<0.01$, $p<0.05$). Kobalt uygulanan gruba kıyasla; Kobalt+Silibinin uygulanan grupta, 24:0 yağ asit'i hariç diğer tüm doymuş yağ asitlerine (14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 17:1, 18:0) kısmi artışlar, bütün tekli doymamış yağ asitlerinde(15:1, 16:1 n-7, 18:1 n-7, 18:1, n-9) değişen oranlarda belirgin artışlar ($p<0,01$, $p<0,05$, $p<0,001$) tespit edildi. Çoklu doymamış yağ asitleri kobalta kıyasla yine Kobalt +Silibinin grubunda; 18:2 n-6c yağ asidi dışındaki tüm çoklu doymamış yağ asitlerinde (18:3 n-3, 20:4 n6, 22:5 n3, 22:6 n3) belirgin artışlar tesbit edildi($p<0,05$, $p<0,001$). Sonuç olarak; Kobalt toksisitesine karşı Silibinin uygulanan sıçan akciğer yağ asit profilini belirlemek üzere yapılan çalışmada; doymuş yağ asidi miktarlarının kontrole oranla, kobalt grubunda azalma göstermesinin bir hasar göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Yine kobalt grubunda bazı doymamış yağ asitlerinin artış göstermesinin nedeni olduğunu düşündüğümüz yağ asidi sentezi-enzim aktivitesinin, ileri düzeyde çalışmalarla aydınlatılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Kobalt, silibinin, sıçan, yağ asidi

Effects Of Cobalt And Silibin On Lung Tissue Fatty Acid Levels In Rats

ABSTRACT

The study aimed to determine the changes in the fatty acid content of lung tissue in rats administered cobalt and silybin, an important flavonoid. 24 Wistar Albino rats weighing 250±300 g, Control (0.5 mL, i.pisotonic), Cobalt(150mg/kg/day/oral), Silibinin(100mg/kg/day/oral), Cobalt+Silibinin(150mg/kg/day+100 mg/kg/day/oral) were divided into 4 groups. Tissue fatty acid analyzes were performed using GC. When the fatty acid analysis results were examined, a decrease in saturated fatty acid levels was observed in all groups compared to the control ($p>0.05$, $p<0.01$). There was an increase in unsaturated fatty acids such as 16:1 n-7,18:1 n-7,18:1 n-9,18:2 n-6c,18:3 n-3, in the cobalt applied group compared to the control. Decreases were detected in 15:1, 17:1, 22:5 n3, 22:6 n3. In the silybin applied group, decreases were determined in 15:1, 17:1, 18:1 n-9, 20:4 n:6, 22:5 n3, 22:6 n:3, 20:4 n:6 fatty acids compared to the control. Some of these decreases were found to be statistically significant ($p<0.01$, $p<0.05$). Compared to the cobalt applied group; In the Cobalt + Silibinin applied group, partial increases in all saturated fatty acids (14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0) except 24:0

fatty acid, all monounsaturated fatty acids were increased. Significant increases in fatty acids (15:1, 16:1 n-7, 18:1 n-7, 18:1, n-9) at varying rates ($p<0.05$, $p<0.001$) detected. Compared to cobalt, polyunsaturated fatty acids are again in the Cobalt + Silibinin group; Significant increases ($p<0.05$, $p<0.001$, $p<0,01$) were detected in all polyunsaturated fatty acids (18:3 n-3, 20:4 n6, 22:5 n3, 22:6 n3) except 18:2 n-6c fatty acid.

In conclusion; In the study conducted to determine the lung fatty acid profile of rats administered Silibinin against cobalt toxicity; It is thought that the decrease in the amount of saturated fatty acids in the cobalt group compared to the control may be an indicator of damage. Again, fatty acid synthesis, which we think is the reason for the increase in some unsaturated fatty acids in the cobalt group.

Key words: Cobalt, silibinin, rat, fatty acid.

GİRİŞ

Bilinen kimyasal elementlerin yaklaşık %75'ini metaller oluşturur. Bunların yüksek konsantrasyonlarda, biyota için toksisiteye neden olabildiği ve tüm çevrenin sağlığını tehlikeye atabildiği bilinmektedir (Zhao ve ark., 2017). Kobalt (Co), B12 vitamininin bir bileşeni olmasının yanı sıra çoğu organizma için gereklidir (Adam ve Garnier-Laplace, 2003). İnsan vücudundaki kobalt birçok enzimin bir bileşenidir ve proteinlerin, folatların, yağ asitlerinin metabolizmasına ve kobalamin – B12 üretimine katılır (Deren ve ark., 2021), Co metali, yüksek dozlarda toksik olarak kabul edilir ve uzun süreli maruz kalınması olumsuz sağlık etkilerine neden olur (Watanabe ve ark., 2017). Ayrıca bu metalin, boya bileşenleri, kesici takım imalatına yönelik alaşımlar, Co mıknatıslar gibi çeşitli endüstriyel kullanımları da söz konusudur. Algler üzerine kobaltın toksisitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, kobalta maruz kalmanın lipid sınıflarının bileşiminde değişikliklere yol açtığı rapor edilmiştir (Dos Reis ve ark., 2021). Kobalt-EDTA'nın (Co-EDTA) veya Kobalt-asetat'ın lityum tuzunun ruminal infüzyonlarının, SCD(Steroil CoA desaturaz) ürün/substrat konsantrasyon oranlarındaki azalmalarla karakterize edilen sığırlarda süt yağı bileşimini değiştirdiği bildirilmiştir (Shingfield ve ark., 2008; Taugbøl ve ark., 2008; Karlengen ve ark., 2013). İntravenöz veya intramüsküler enjeksiyon ile veya oral uygulanan Koasetatın'da ineklerden (Taugbøl ve ark., 2010), koyundan (Frutos ve ark., 2014) ve domuzlardan (Karlengen ve ark., 2011) elde edilen sütün yağ asidi bileşiminde yine benzer değişikliklere neden olduğu rapor edilmiştir; Bu sonuçlar meydana gelen lipid değişiminin işkembedeki lipid metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklı olmadığını göstermiştir. Doğal olarak oluşan bir polifenolik flavonoid olan silibinin (SLB) (Yan ve ark., 2005). *Silybum marianum*'un (devedikeni bitkisi) tohum ve meyvelerinden ekstraksiyon yoluyla elde edilen Silymarin ekstraktının bileşenidir (Kiruthiga ve ark., 2010). SLB, assilibinin, isosilibinin, silicristin ve silidianin gibi bir dizi flavonolignan içeren silimarinin aktif bileşenidir (Chhabra ve ark., 2013). Doğal bir antioksidan olan silibininin ($C_{25}H_{22}O_{10}$), fibroblastlar ve akciğer kanseri hücreleri dahil olmak üzere farklı hücre hatlarında antikanserijenik, immün sistemi uyarıcı, hücre döngüsü durdurma ve apoptozu indüklemeye gibi geniş bir farmakolojik etki yelpazesine sahip olduğu belirlenmiştir (Mateen ve ark., 2010; Nejati-Koshki ve ark., 2012; Surai, 2015; Amirsaadat ve ark., 2017). SLB, lipoksijenaz enzimini inhibe ederek çoklu doymamış yağ asitlerinin lökotrienlere dönüşümünü azalttığı bildirilmiştir (Musazadeh ve ark., 2022). Hücre koruyuculuğu, antiinflamatuvar etkinliği ve antikanserijen gibi antioksidan etkileri bilinen SLB'nin, fitoterapötik bir ajan olarak rapor edilmiştir (Křen ve Walterova, 2005). Ayrıca SLB'nin bazı antioksidan enzimlerin düzeylerini arttırarak oksidatif stresin proteinler,kinin redüktaz, lipidler, nükleik asitler, Glutatyon transferaz (GST) ve süperoksit dismutaz (SOD) üzerindeki zararlı etkilerini azalttığı rapor edilmiştir. (Biedermann ve ark., 2014; Kaur ve ark., 2009; Kumar ve ark., 2015). Diğer taraftan; SLB'nin süperoksit radikal salınımını azalttığı buna bağlı olarak lipid peroksidasyon ürünlerinin birikimini düşürdüğü, glutatyon (GSH) seviyesini yükselttiği ve antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (De Groot ve Rauen, 1998; Victorrajmohan ve ark., 2005).

Sunulan çalışmada; metal toksisitesi oksidatif stresle ilişkilendirildiği (Jomova ve Valko, 2011) ve daha önceki çalışmalarda kobalt kaynaklı reaktif oksijen türlerinin varlığı (ROS) (Triantafyllou ve ark., 2006) rapor edildiği için, ayrıca silibinin de bildirilen antioksidan özelliklerinden yola çıkılarak sıçanlarada yağ asit profiline etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Deney Hayvanları ve Deneysel Uygulama

Bingöl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 18.05.2021 tarihinde onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı(Toplantı sayısı:2021/02-Karar:02-04). 250 ± 300 gr ağırlığında Wistar Albino cinsi sıçanların Bingöl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinde bakımı gerçekleştirildi. Tüm deneyler Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzuna uygun olarak gerçekleştirildi. Yiyecek ve su temini ad libitum olarak verildi. Aydınlatma normal ışık ve karanlık (12L:12D) olarak ayarlandı. Deney sırasında ortamlarının sıcaklığı ve bağıl

nemi sırasıyla 20 ± 3 °C ve % 40-60 aralığında ayarlandı. Çalışmada 24 adet sıçan kullanıldı ve her bir grupta (n=6) adet olacak şekilde kontrol (0.5 mL i.p izotonik su), Kobalt (150 mg/kg/gün/oral)(Merck, USA)(Salcan ve ark., 2000), Silibinin(100 mg/kg/gün/oral)(Sigma,USA) (Beydilli ve ark., 2015), Kobalt+Silibinin(150 mg/kg/gün+100 mg/kg/gün/oral) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. 7.günün sonunda Sıçanlar (60 mg/kg i.p.) ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg Xylazine i.p. ile anestezide tutuldu. Akciğer dokusu median laparotomi sonrası çıkarıldı, fosfat tamponlu salina (PBS) ile yıkandı ve yağ asidi analizi yapılmaya kadar muhafaza edildi.

Doku Homejanatlarının Hazırlanması

Tris-HCl tamponu kullanılarak homojenize edilen Akciğer dokuları +4°C'de 9000 rpm'de 15 dak santrifüj edildi. Bu şekilde ayrılan pellet kısmından ise yağ asidi analizi yapıldı (Demir ve Yılmaz, 2014).

Yağ Asitlerinin Metil Ester Formlarının Hazırlanması

Doku yağ asidi düzeylerinin belirlenmesi için hazırlanan doku homojenatının süpernatantlarının üzerine %2 konsantrasyonunda 5 ml metanolik sülfürik asit ilave edilip vorteksenerek örnekler karıştırıldı. Karışım etüvde (55 °C) 15 saat metilleşmeye bırakıldı. Sonrasında etüvden çıkarılıp soğutulan tüplerin üzerine 5 ml % 5'lik sodyum klorür ve hekzan eklenerek karışması sağlandı. Hekzan fazında toplanması için yağ asitleri 3-4 saat bekletildi. Hekzan fazında oluşan yağ asidi metil esterleri ekstrakte edildikten sonra, üst hekzan faz cam pipetle alınarak ayrıldı. Ardından 5 ml % 2'lik KHCO₃ ilave edildi ve faz ayrımı için yine 4 saat bekletildi (Christie, 1990, Christie,1992). Metil esterlerini içeren karışım, etüvde (37°C) bekletildikten sonra kalan kalıntı 1 mL kloroform içinde çözüldü.

Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografisi ile Analizi

Lipit ekstraktının içindeki yağ asitleri, metil esteri formuna dönüştürüldükten sonra SHIMADZU GC 2010 PLUS gaz kromatografisi cihazı kullanılarak analiz yapıldı ve kolon (145-220 °C), enjeksiyon (240 °C) ve dedektör (280 °C) sıcaklıkta ayarlandı. Sıcaklık artışı 180 °C'ye kadar 3 °C/dk ve 200 °C'den 220 °C'ye kadar 4 °C/ dk olarak belirlendi. Taşıyıcı gaz olarak helyum gazı kullanıldı. Ölçümler yapılırken, numunelere ait yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar cihaza enjekte edilerek yağ asidinin referans alıkonma süreleri ayarlandı. Bu işlemin ardından gerekli programlamalar yapılarak örneklerin yağ asidi metil esterlerinin analizleri gerçekleştirildi (Tvrzicka ve ark., 2002).

İstatistiksel Analiz

SPSS 20.00 paket programı kullanılarak istatistik analizler yapıldı. Kontrol ve deneysel gruplar karşılaştırılırken ANOVA (tek yönlü varyans analizi; one-way ANOVA) testi, grupların kendi içinde karşılaştırmada LSD testi uygulandı. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ olarak kabul edildi (a: $p > 0,05$, b: $p < 0,05$ ise, c: $p < 0,01$ ise, d: $p < 0,001$).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Akciğer dokusunda gözlenen doymuş yağ asit kompozisyonu Tablo 1'de verildi. Akciğer dokusu yağ asit bileşimi içinde miristik asit (14:0), pentadekanoik asit (15:0), palmitik asit (16:0), Margarik asit (17:0), stearik asit (18:0), Lignoserik asit (24:0) gibi yağ asitlerinin bulunduğu belirlendi. Bu yağ asitleri içinde palmitik asit, stearik asit ve miristik asitin yüksek olduğu belirlendi (Tablo 1). Bu yağ asitlerinin dağılımı gruplar arasında incelendiğinde, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0 ve 18:0 miktarlarının kontrol grubuna göre Kobalt grubunda değişen oranlarda istatistik farklılıklar gösterdiği saptandı ($p > 0,05$, $p < 0,05$, $p < 0,01$). Kobalt grubu ile kıyaslandığında miristik asit (14:0), pentadekanoik asit (15:0), palmitik asit (16:0) ve Margarik asit (17:0), asitlerinin miktarının Silibin uygulanan grupta arttığı; stearik asit ve lignoserik asit miktarlarının azaldığı belirlendi. Kobalt uygulaması yapılan grup Kobalt+silibinin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında lignoserik asit dışındaki doymuş yağ asit düzeylerinin arttığı tesbit edildi.

Tablo 1: Doymuş yağ asitleri miktarı (%)

Doymuş yağ asitleri	Kontrol	Kobalt	Silibinin	Kobalt+Silibinin
Miristik asit (14:0)	1,33±0,09	1,21±0,22 ^a	1,32±0,28 ^{a,b}	1,23±0,18 ^{a,a}
Pentadekanoik asit (15:0)	0,48±0,03	0,37±0,04 ^c	0,39±0,03 ^{b,a}	0,47±0,12 ^{a,b}
Palmitik asit (16:0)	27,10±1,82	24,69±3,13 ^a	25,62±2,73 ^{a,a}	26,95±1,85 ^{a,a}
Heptadekanoik asit (17:0)	0,53±0,03	0,45±0,06 ^a	0,46±0,05 ^{a,a}	0,50±0,07 ^{a,a}
Stearik asit (18:0)	8,32±1,30	7,12±0,92 ^b	7,03±0,54 ^{b,a}	8,37±0,43 ^{a,b}
Lignoserik asit (24:0)	0,20±0,02	0,20±0,02 ^a	0,18±0,02 ^{a,a}	0,16±0,01 ^{b,b}

a: $p > 0,05$ ise gruplar arasında farklılık olmadığı, b: $p < 0,05$ ise gruplar arasında istatistiksel farklılık (kısmen) olduğu, c: $p < 0,01$ ise gruplar arasındaki farklılığın önemli düzeyde olduğu, d: $p < 0,001$ ise gruplar arasındaki farklılığın daha belirgin düzeyde olduğu şeklinde ifade edildi.

Tekli doymamış yağ asit kompozisyonu Tablo 2’de verildi. Tekli yağ asit bileşimi içinde pentadekanoik asit (15:1), palmitoleik asit (16:1, n-7), heptadekanoik asit (17:1), oktadekanoik asit (18:1, n-7), oleik asit (18:1, n-9) gibi yağ asitlerinin bulunduğu gözlemlendi. Bu yağ asitleri içinde ise oktadekanoik asit (18:1, n-7) ve oleik asit (18:1, n-9) ‘in yüksek olduğu belirlendi (Tablo 2). Tekli doymamış yağ asitlerinin dağılımını gruplar arasında değerlendirdiğimizde; pentadekanoik asit (15:1) ve heptadekanoik asit (17:1)’in kontrole kıyasla kobalt grubunda düşüş gösterdiği belirlendi ($p>0,05$, $p<0,05$, $p<0,001$). Buna karşın, palmitoleik asit (16:1, n-7) ve oktadekanoik asit (18:1, n-7) yağ asitlerinin ise kontrole kıyasla kobalt grubunda belirgin artış gösterdiği gözlemlendi ($p<0,05$, $p<0,001$). Kobalt grubuyla kıyaslama yapıldığında ise; Silibinin grubunda pentadekanoik asit (15:1) ve heptadekanoik asit (17:1) düzeylerinde artış ; palmitoleik asit (16:1, n-7), oktadekanoik asit (18:1, n-7) ve oleik asit (18:1, n-9) yağ asitleri düzeylerinde azalış belirlendi. Kobalt grubuna kıyasla Kobalt+Silibinin grubunda; tekli doymamış yağ asitlerinin tamamında değişen oranlarda artış ($p>0,05$, $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$) tespit edildi.

Tablo 2: Tekli doymamış yağ asitleri (%)

Tekli Doymamış Yağ asitleri	Kontrol	Kobalt	Silibinin	Kobalt+Silibinin
Pentadekanoik asit (15:1)	1,93±0,47	1,31±0,64 ^b	1,34±0,48 ^{a,a}	2,16±0,40 ^{a,d}
Palmitoleik asit (16:1, n-7)	1,60±0,37	2,15±0,29 ^b	2,05±0,37 ^{a,a}	2,65±0,32 ^{d,b}
Heptadekanoik asit (17:1)	1,06±0,24	0,69±0,12 ^d	0,74±0,23 ^{c,a}	1,12±0,14 ^{a,d}
Oktadekanoik asit (18:1, n-7)	2,53±0,34	22,33±1,43 ^d	22,15±1,26 ^{d,a}	22,64±0,16 ^{a,a}
Oleik asit (18:1, n-9)	19,24±1,78	19,77±2,35 ^a	16,08±2,46 ^{b,b}	19,99±2,30 ^{a,a}

a: $p>0,05$ ise gruplar arasında farklılık olmadığı, b: $p<0,05$ ise gruplar arasında istatistiksel farklılık (kısmen) olduğu, c: $p<0,01$ ise gruplar arasındaki farklılığın önemli düzeyde olduğu, d: $p<0,001$ ise gruplar arasındaki farklılığın daha belirgin düzeyde olduğu şeklinde ifade edildi.

Çoklu doymamış yağ asit kompozisyonu Tablo 3’de gösterildi. Çoklu yağ asit bileşimi içinde lineoleik asit (18:2, n-6c), linolenik asit (18:3, n-3 LNA), Araşidonik asit (20:4, n6), dokosapentaenoik asit (22:5, n3) ve dokosaheksaenoik asit (22:6, n3) gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin bulunduğu gözlemlendi. Bu yağ asitleri içinde ise lineoleik asit (18:2, n-6c) ve araşidonik asit (20:4, n6)’in daha yüksek düzeylerde olduğu belirlendi. Çoklu doymamış yağ asitlerinden lineoleik asit (18:2, n-6c) ve linolenik asit (18:3, n-3 LNA) ‘in kontrole kıyasla kobalt grubunda değişen oranlarda artışlar gösterdiği tespit edildi ($p<0,05$, $p>0,05$). Diğerlerinde ise değişen oranlarda tam tersi azalış eğilimi olduğu belirlendi ($p>0,05$, $p<0,05$, $p<0,01$). Kobalt grubuna kıyasla çoklu doymamış yağ asit düzeylerini kıyasladığımızda hem Silibinin hemde Kobalt+Silibinin gruplarında araşidonik asit (20:4, n6), dokosaheksaenoik asit (22:6, n3) yağ asitlerinde değişen oranlarda artış tespit edildi ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$) (Tablo 3).

Tablo 3: Çoklu doymamış yağ asit miktarları (%)

Çoklu Doymamış Yağ asitleri	Kontrol	Kobalt	Silibinin	Kobalt+Silibinin
Lineoleik asit (18:2, n-6c)	18,95±4,09	25,05±5,52 ^b	24,15±4,27 ^{a,a}	19,88±4,08 ^{a,b}
Linolenik asit (18:3, n-3 LNA)	0,62±0,12	0,69±0,17 ^a	0,63±0,14 ^{a,a}	5,81±1,16 ^{d,d}
Araşidonik asit (20:4, n6)	9,02±0,55	6,38±2,32 ^b	6,94±2,21 ^{b,a}	8,50±2,93 ^{a,b}
Dokosapentaenoik asit (22:5, n3)	0,30±0,03	0,29±0,05 ^a	0,28±0,01 ^{a,a}	0,38±0,03 ^{c,d}
Dokosaheksaenoik asit (22:6, n3)	0,68±0,08	0,55±0,06 ^c	0,65±0,05 ^{a,b}	0,77±0,06 ^{b,d}

a: $p>0,05$ ise gruplar arasında farklılık olmadığı, b: $p<0,05$ ise gruplar arasında istatistiksel farklılık (kısmen) olduğu, c: $p<0,01$ ise gruplar arasındaki farklılığın önemli düzeyde olduğu, d: $p<0,001$ ise gruplar arasındaki farklılığın daha belirgin düzeyde olduğu şeklinde ifade edildi.

Silibinin doğal bir antioksidan olarak birçok bilim insanının dikkatini çekmiştir (Li ve ark., 2023). Bu çalışma kapsamında toksik etkileri bilinen kobaltın; ayrıca antioksidan özellikleri kanıtlanan silibinin’in sıçan akciğer doku yağ asit profili üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Süt deve dikenini (*Silybum marianum*) tohum meyvelerinden izole edilen silimarinin aktif bileşeni olan silibinin veya silybinin tıbbi faydaları ilk kez Eresoslu

Theoprastus (M.Ö. dördüncü yüzyıl), Pedanios Dioscorides (MS 50) ve Yaşlı Plinius (MS 1. yüzyıl) tarafından rapor edilmiştir (Flora ve ark., 1998). Antioksidanlar, kemopreventifler, antikanser ajanlar ve özellikle hepatoprotektanlar olarak kullanılan silibinin ile ilgili son yıllarda çok sayıda makale yayınlanmıştır. Silibininin anti-nosiseptif ve anti-oksidatif etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (Cristofalo ve ark., 2013). Silibininin, primer sıçan hepatositlerinde Okratoksin A aracılı apoptoza karşı koruma sağladığı (Essid ve ark., 2012), steatotik hepatik hücrelerde oksidatif stresi de inhibe ettiği ve son zamanlarda ise antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Giorgi ve ark., 2012). Aynı zamanda silibinin lipitler, nükleik asitler ve proteinler gibi hücresel bileşenler üzerinde oksidatif stresin zararlı etkilerini hafifleterek azalttığı, metabolik düzeyde bu görevi; kinin redüktaz (QR), katalaz (CAT), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) dahil olmak üzere hücre içi antioksidan enzimlerin artan seviyelerini teşvik ederek yerine getirdiği rapor edilmiştir (Jancova ve ark., 2007; Kumar ve ark., 2015; Singh ve Agarwal, 2005). Son zamanlarda Silibinin kapsülleri (Silibinin-fosfolipit kompleksi)'nin Çin'de akut ve kronik hepatit ve yağlı karaciğer hastalığı olan hastalarda karaciğer fonksiyonunun iyileştirilmesi için kullanıldığı rapor edilmiştir. Yağlı karaciğer hastalığı ise lipogenezin artması, yağ asit'i(FA) oksidasyonunun bozulması, FA, alımının artması ve trigliserit (TG) lipolizisinin azalması ile kendini gösteren, lipit metabolizmasındaki dengesizliğin neden olduğu hepatositlerde yağ birikmesi ile ilişkilendirilmiştir (Huseini ve ark., 2006).Sıçanlarda yapılan çalışmalar, silibininin karaciğer fonksiyonunu düzelterek, serum yağını, bağıl karaciğer ağırlığını ve hepatosit yağ birikimini azaltarak, insülin rezistansını iyileştirerek ve adipoz trigliserit lipaz ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyerek lipolizi güçlendirip, yüksek yağlı diyetin neden olduğu yağlı karaciğere karşı önemli ölçüde koruduğu göstermiştir(Grattagliano ve ark., 2013; Haddad ve ark., 2011; Yao ve ark., 2011, 2013). Yapılan bir çalışmada diazinon kaynaklı oluşan karaciğer hasarına karşı silibinin yüklü nanoyapılı lipit taşıyıcıların (Sili-NLC'ler) hepatoprotektif etkinliği araştırılmış ve hepatik MDA seviyesinin yükselmesiyle lipid peroksidasyonu doğrulanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarıyla yüksek miktarda doymamış yağ asitleri nedeniyle karaciğer dokusunda tahribata ve iltihaplanmaya yatkın olabileceğini gösterilmiştir (Salimi-Sabour ve ark., 2023). Öte yandan silibinin ve SiliNLC'lerle tedavinin MDA'nın hepatik seviyesini azaltarak hepatoprotektif etkiler sergilediğini gösteren bu gözlemlere benzer başka çalışmalar da rapor edilmiştir (Song ve ark., 2022; Saxena ve ark., 2022). Başka bir çalışmada ise; Sili-NLC'lerin sıçanlarda kurşunun neden olduğu karaciğer hasarlarına karşı serbest silibininden daha iyi hepatoprotektif etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir. Bu durum MDA seviyesinde dikkate değer bir azalma ile gösterilmiştir. (Mohammadi ve ark., 2022). MDA oluşumunun membran lipitleriyle ilişkili olduğu ve hücrelerin membranlarındaki doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girerek lipit peroksidasyonunu başlattığı bilinmektedir. Membranda bulunan çoklu doymamış yağ asitleri; serbest oksijen radikalleri tarafından çeşitli ürünlere (peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi) yıkılarak lipit peroksidasyonu oluşur. Bu durum ise biyolojik zararın özelliklerinde ciddi hücre hasarlara yol açarak hastalıkların gelişiminde önemli rol oynar (Akkuş, 1995; Gutteridge, 1995). Bu şekilde meydana gelen membran hasarlarının ise geriye dönüşü yoktur (Halliwell, 1996). Literatür ışığında; çalışmamızda kobaltın yağ asit miktarlarına etki etmesinin temelinde kobalt kaynaklı metal toksitesinin lipit peroksidasyonunu başlatması kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamıza benzer bir çalışmada kobalt uygulamasının kan üzerindeki etkisi incelenmiş; bu çalışmada trigliseritlerde, kolesterolde ve serbest yağda bir artış olduğu gösterilmiştir (Taylor ve Marks, 1978). Çalışmamızda palmitoleik (16:1, n-7), oktadekanoik (18:1, n-7), lineoleik (18:2, n-6c) ve linolenik (18:3, n-3 LNA) yağ asitlerinin kontrole kıyasla kobalt grubunda değişen oranlarda artışlar göstermesi bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. Canlılarda hücrelerdeki yağ asit sentezi üzerinde yağ asit sentetaz (FAS), Δ^9 desaturaz, elongaz, Δ^{12} desaturaz ve Δ^{15} desaturaz enzimlerinin rol aldığı bilinmektedir (Aydın, 2012)., Silibininin O₂ salınımını ve lipit peroksidasyon ürünlerinin birikimini azalttığı ve ilişkili enzimlerin aktivitesini arttırdığı da rapor edilmiştir (De Groot ve Rauen, 1998; Victorrajmohan ve ark., 2005).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Kobalt toksitesine karşı çeşitli antioksidan maddelerin olumlu etkilerinin belirlendiği çok sayıda çalışma olmakla birlikte, silibininin kobaltın zararlı etkisine karşı akciğer dokusunda yağ asit miktarları üzerine etkisine dair bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda doymuş yağ asidi miktarlarının kontrole kıyaslandığında kobalt grubunda azalma göstermesi, yağ asitlerinin enzimler tarafından substrat olarak kullanılmasından kaynaklı olduğunu, buna ek olarak hasarında bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan çalışmamızda kobalt grubunda bazı doymamış yağ asitlerinin kontrole oranla artış göstermesinin nedenini ise yine yağ asit sentezi enzim aktivitesi sonucunda ürün olarak oluşmasından kaynaklı olduğu söylenebilir. Bununla ilgili ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca kobalt+silibinin uygulanan grupta, kobalt uygulanan gruba oranla doymuş ve doymamış yağ asit düzeylerinin genel olarak artması ise silibininin antioksidan özelliğine bağlanabilir. Böylelikle çalışma; kobalt ve silibininin sıçan yağ asit profili üzerine etkilerini açıkça ortaya koymaktadır. Ayrıca çalışma bundan sonra yapılacak olan farklı çalışmalar içinde bir referans teşkil edecektir.

YAZAR ORCID NUMARASI

H.Turan AKKOYUN <https://orcid.org/0000-0002-4547-8003>

KAYNAKLAR

- Adam, C., Garnier-Laplace, J. 2003. Bioaccumulation of silver-110m, cobalt-60, cesium- 137, and manganese-54 by the freshwater algae *Scenedesmus obliquus* and *Cyclotella meneghiana* and by suspended matter collected during a summer bloom event. *Limnol. Oceanogr.* 48, 2303–2313.
- Akkuş, İ. 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Amirsaadat, S., Pilehvar-Soltanahmadi, Y., Zarghami, F., Alipour, S., Ebrahimnezhad, Z., & Zarghami, N. (2017). Silibinin-loaded magnetic nanoparticles inhibit hTERT gene expression and proliferation of lung cancer cells. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 45(8), 1649-1656.
- Aydın S. 2012. Antioxidant Capacities Of Mulberry, Cranberry, Cherry And Walnut Fruits That Are Grown In Elazığ Region, And The Examination Of Their Effects On Oxidative Stress In Some Experimental Models, dissertation PHD, Firat University, Turkey.
- Beydilli, H., Yılmaz, N., Cetin, E. S., Topal, Y., Celik, O. I., Sahin, C., Topal, H., Cigerci, I. H., Sozen, H. Evaluation of the protective effect of silibinin against diazinon induced hepatotoxicity and free-radical damage in rat liver. *Iranian Red Crescent medical journal*.2015; 17(4): e25310.
- Biedermann, D., Vavříková, E., Cvak, L., & Křen, V. (2014). Chemistry of silybin. *Natural product reports*, 31(9), 1138-1157.
- Chhabra, N., Buzarbaruah, S., Singh, R., Kaur, J. (2013). Silibinin: A promising anti-neoplastic agent for the future? A critical reappraisal. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 3(3), 206.
- Christie WW (1990) Gas chromatography and lipids, The Oil Pres, Glaskow.
- Christie WW (1992) Preparation of fatty acid methyl esters. *Inform 3*: 1031–1034.
- Cristofalo R., Bannwart-Castro C.F., Magalhaes C.G., Borges V.T., Peracoli J.C., Witkin S.S., et al. (2013). Silibinin attenuates oxidative metabolism and cytokine production by monocytes from preeclamptic women, *Free Radic. Res.* 47, 268e275.
- Demir E, Yılmaz Ö (2014). The effects of bitter almond oil on some biochemical parameters in serum and erythrocytes of streptozotocin-induced Type-1 diabetic rats. *Marmara Pharm J* 18: 13-21.
- Dereń, K., Bienkiewicz, M., Styczyńska, M., Olejnik, P., & Bronkowska, M. (2021). Assessment Of The Content Of Chromium, Nickel And Cobalt In Chocolate Products With Different Cocoa Mass Content Available On The Polish Market. *Journal of Elementology*, 26(3).
- De Groot, H., Rauhen, U., 1998. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 12, 249–255.
- Dos Reis L.L., Alho L.D.O.G., de Abreu C.B., Melao M.D.G.G. Using multiple endpoints to assess the toxicity of cadmium and cobalt for chlorophycean *Raphidocelis subcapitata*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2021;208:111628.
- Essid E., Dernawi Y., Petzinger E. (2012). Apoptosis induction by OTA and TNF-alpha in cultured primary rat hepatocytes and prevention by silibinin, *Toxins* 4 (2012) 1139e1156.
- Flora K., Hahn M., Rosen H., Benner K. (1998). Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease, *Am. J. Gastroenterol.* 93, 139e143
- Frutos P, Toral PG, Ramos-Morales E, Shingfield KJ, Belenguer A, Hervas G. Oral administration of cobalt acetate alters milk fatty acid composition, consistent with an inhibition of stearoyl-coenzyme A desaturase in lactating ewes. *J Dairy Sci* 2014;97:1036–46.
- Giorgi V.S., Peracoli M.T., Peracoli J.C., Witkin S.S., Bannwart-Castro C.F.(2012). Silibinin modulates the NF-kappab pathway and pro-inflammatory cytokine production by mononuclear cells from preeclamptic women, *J. Reprod. Immunol.* 95, 67e72.
- Grattagliano, I., Diogo, C.V., Mastrodonato, M., de Bari, O., Persichella, M., Wang, D.Q., Liquori, A., Ferri, D., Carratu, M.R., Oliveira, P.J., Portincasa, P., 2013. A silybinphospholipids complex counteracts rat fatty liver degeneration and mitochondrial oxidative changes. *World J. Gastroenterol.:* WJG 19, 3007–3017.
- Gutteridge, J.M.C. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clin Chem*, 41, 1819-1828.
- Haddad, Y., Vallerand, D., Brault, A., Haddad, P.S., 2011. Antioxidant and hepatoprotective effects of silibinin in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM* 2011, nep164.

- Halliwell, B. 1996. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans, *Free Radic Res.*, **25**, 57–74.
- Huseini, H.F., Larijani, B., Heshmat, R., Fakhrzadeh, H., Radjabipour, B., Toliat, T., Raza, M., 2006. The efficacy of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (silymarin) in the treatment of type II diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Phytother. Res.: PTR* **20**, 1036–1039.
- Jomova, K. ve Valko, M. (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease, *Toxicology* **283** (2–3) (2011) 65–87.
- Karlengen IJ, Taugbøl O, Salbu B, Aastveit AH, Harstad OM. Effect of different levels of supplied cobalt on the fatty acid composition of bovine milk. *Br J Nutr* 2013;109:834–43.
- Kaur, M., Deep, G., Agarwal, R. (2009). Silibinin in skin health: efficacy and mechanism of action. *Nutritional Cosmetics*, Elsevier, 2009, pp. 501–528.
- Kiruthiga, P. V., Pandian, S. K., & Devi, K. P. (2010). Silymarin protects PBMC against B (a) P induced toxicity by replenishing redox status and modulating glutathione metabolizing enzymes—an in vitro study. *Toxicology and applied pharmacology*, **247**(2), 116-128.
- Křen, V., & Walterova, D. (2005). Silybin and silymarin-new effects and applications. *Biomedical Papers*, **149**(1), 29-41.
- Karlengen IJ, Harstad OM, Kjos NP, Salbu B, Aastveit AH, Taugbøl O. Cobalt reduces the D9-desaturase index of sow milk. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2011;95:676–84.
- Kumar, R., Deep, G., Agarwal, R. (2015). An overview of ultraviolet B radiation-induced skin cancer chemoprevention by silibinin, *Curr. Pharmacol. Rep.* **1** (3): 206–215.
- Jancova, P., Anzenbacherova, E., Papouskova, B., Lemr, K., Luzna, P., Veinlichova, A., Anzenbacher, P., Simanek, V. (2007). Silybin is metabolized by cytochrome P450 2C8 in vitro. *Drug Metab. Dispos.* **35**, 2035–2039.
- Li Y., Xiong B., , Miao Y., Gao Q. (2023). Silibinin supplementation ameliorates the toxic effects of butyl benzyl phthalate on porcine oocytes by eliminating oxidative stress and autophagy. *Environmental Pollution* **329**, 121734.
- Mateen S, Tyagi A, Agarwal C, Singh RP, Agarwal R. 2010. Silibinin inhibits human nonsmall cell lung cancer cell growth through cell-cycle arrest by modulating expression and function of key cell-cycle regulators. *Mol Carcinog.* **49**:58–247.
- Mohammadi, M., Ariafar, S., Talebi-Ghane, E., Afzali, S., 2022. Comparative efficacy of silibinin and nano-silibinin on lead poisoning in male Wistar rats. *Toxicology.* **475**, 153242 .
- Musazadeh, V., Karimi, A., Jafarzadeh, J., Sanaei, S., Vajdi, M., & Niazkar, H. R. (2022). The favorable impacts of silibinin polyphenols as adjunctive therapy in reducing the complications of COVID-19: A review of research evidence and underlying mechanisms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 113593.
- Nejati-Koshki K, Zarghami N, Pourhassan-Moghaddam M, Rahmati Yamchi M, Mollazade M, Nasiri M, et al. 2012. Inhibition of leptin gene expression and secretion by silibinin: possible role of estrogen receptors. *Cytotechnology.* **64**:719–726.
- Salcan I, Dilber M, Bayram R, Suleyman E, Erhan E, Karahan Yilmaz S, Yazici G.N, Coban A, Suleyman H. Effect of Taxifolin on Cobalt-induced Ototoxicity in Rats: A Biochemical and Histopathological Study. *International Journal of Pharmacology*, 2000; **16**: 522-528.
- Salimi-Sabour E., Tahri R.A., Asgari A., Ghorbani M. (2023). The novel hepatoprotective effects of silibinin-loaded nanostructured lipid carriers against diazinon-induced liver injuries in male mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **197** (2023) 105643
- Saxena, N., Dhaked, R.K., Nagar, D.P., 2022. Silibinin ameliorates abrin induced hepatotoxicity by attenuating oxidative stress, inflammation and inhibiting Fas pathway. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **93**, 103868 .
- Shingfield KJ, Aro A, Ahvenjari S, Vanhatalo A, Toivonen V, Griinari JM, Huhtanen P. Ruminal infusions of cobalt-EDTA reduce mammary D9-desaturase index and alter milk fatty acid composition in lactating cows. *J Nutr* 2008;138:710–7.
- Singh, R.P., Agarwal, R. (2005). Mechanisms and preclinical efficacy of silibinin in preventing skin cancer. *Eur. J. Cancer* **41**, 1969–1979.
- Song, X.Y., Liu, P.C., Liu, W.W., Zhou, J., Hayashi, T., Mizuno, K., Hattori, S., Fujisaki, H., Ikejima, T., 2022. Silibinin inhibits ethanol- or acetaldehyde-induced ferroptosis in liver cell lines. *Toxicol. in Vitro* **82**, 105388.
- Surai PF 2015. Silymarin as a natural antioxidant: an overview of the current evidence and perspectives. *Antioxidants (Basel)*. **4**:204–247.
- Taugbøl O, Karlengen IJ, Bolstad T, Aastveit AH, Harstad OM. Cobalt supplied per os reduces the mammary D9-desaturase index of bovine milk. *J Anim Sci* 2008;86:3062–8.

- Taugbøl O, Karlengen IJ, Salbu B, Aastveit AH, Harstad OM. Intravenous injections of cobalt reduce fatty acid desaturation products in milk and blood of lactating cows. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2010;94:635–40.
- Taylor A., Marks V. (1978). Cobalt: A review. *Journal of Human Nutrition*, 32, 165-177.
- Triantafyllou, A., Liakos, P., Tsakalof, A., Georgatsou, E., Simos, G., Bonanou, S. (2006) Cobalt induces hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in HeLa cells by an iron-independent, but ROS-, PI-3K-and MAPK-dependent mechanism, *Free Radic. Res.* 40 (8) (2006) 847–856.
- Tvrzicka E, Vecka M, Stankova Zak A (2002) Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography flame ionisation detection Quantative aspects. *Anal Chim Acta* 465: 337-350.
- Watanabe, C. H., Monteiro, A. S. C., Gontijo, E. S. J., Lira, V. S., de Castro Bueno, C., Kumar, N. T., Rosa, A. H. (2017). Toxicity assessment of arsenic and cobalt in the presence of aquatic humic substances of different molecular sizes. *Ecotoxicology and environmental safety*, 139, 1-8.
- Victorrajmohan, C., Pradeep, K., Karthikeyan, S., 2005. Influence of silymarin administration on hepatic glutathione-conjugating enzyme system in rats treated with antitubercular drugs. *Drugs in R&D* 6, 395–400.
- Yan, Y., Wang, Y., Tan, Q., Lubet, R. A., You, M. (2005). Efficacy of deguelin and silibinin on benzo (a) pyrene-induced lung tumorigenesis in A/J mice. *Neoplasia*, 7(12), 1053-1057.
- Yao, J., Zhi, M., Minhu, C., 2011. Effect of silybin on high-fat-induced fatty liver in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 44, 652–659.
- Yao, J., Zhi, M., Gao, X., Hu, P., Li, C., Yang, X., 2013. Effect and the probable mechanisms of silibinin in regulating insulin resistance in the liver of rats with nonalcoholic fatty liver. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 46, 270–277.
- Zhao, G., Ye, S., Yuan, H., Ding, X., Wang, J., 2017. Surface sediment properties and heavy metal pollution assessment in the Pearl River Estuary, China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 2966–2979.