

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı**

**DENEYSEL METABOLİK SENDROMDA
RESVERATROL UYGULAMASININ
METİLGLİOKSAL DÜZEYLERİ VE VASKÜLER
FONKSİYON ÜZERİNE ETKİSİ**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Seval DEVELİ-İŞ

Tez Danışmanı:
Prof.Dr. Seldağ Bekpınar

İSTANBUL

2013

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı**

**DENEYSEL METABOLİK SENDROMDA
RESVERATROL UYGULAMASININ
METİLGLİOKSAL DÜZEYLERİ VE VASKÜLER
FONKSİYON ÜZERİNE ETKİSİ**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Seval DEVELİ-İŞ

Tez Danışmanı:
Prof.Dr. Seldağ Bekpınar

İSTANBUL
2013

ÖNSÖZ

Bütün desteklere (!) rağmen köprüden önceki son çıkışı kullanarak başladığım biyokimya serüvenimde, kendim için doğru kararı vermiş olduğumu hissetmenin huzur ve mutluluğuyla;

Kendisiyle birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili hocam ve tez danışmanım **Prof.Dr. Seldağ Bekpınar'a**,

Kendisiyle tanışmaktan ve çalışmaktan çok büyük bir onur duyduğum; gerek asistanlık eğitimim sürecinde gerekse tezimin yapım ve yazımı aşamasında engin bilgisini, tecrübelerini ve değerli zamanını benden esirgemeyen sabrına ve hoşgörüsüne hayran olduğum Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı, değerli hocam **Prof. Dr. Müjdat Uysal'a**

Biyokimya serüvenine başladığım ilk günden itibaren varlığı ve her konuda desteğiyle kendimi yanında hep güçlü ve mutlu hissettiğim, kendisini tanımaktan çok büyük bir onur duyduğum, gözlerindeki ve kalemindeki ışıltının hiç tükenmediği değerli hocam **Prof. Dr. Figen Gürdöl'e**

Asistanlık eğitimimde ve tezimin çalışma aşamasında desteklerini benden esirgemeyen **Prof. Dr. Yeşim Ünlüerçi'ye**

Asistanlık eğitimim boyunca bilgilerini, tecrübelerini ve tebessümlerini benden esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki bütün hocalarıma,

Tezimin yapım aşamasında tanışma fırsatı bulduğum, beni çalışma ortamlarına çok büyük bir sevgi ile kabul eden ve desteklerini benden esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndan **Prof. Dr. Sönmez Uydeş Doğan, Doç. Dr. Gökçe Topal Tanyılmaz ve Uzm. Ecz. Gülsev Özen'e**

Tezimin histopatolojik incelemelerini gerçekleştiren İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan **Doç. Dr. Mine Güllüoğlu'na**

Asistanlık sürecinde harika vakit geçirdiğim, her türlü desteklerini her zaman hissettiğim bütün asistan arkadaşlarıma ve kürsümüzün diğer bütün çalışanlarına,

Her koşulda bana katlanıp, beni hiç yalnız bırakmayan hayat arkadaşım ve sevgili eşim **Dr. Abdulhalim İş'e**

Varlıkları ile her daim huzur bulduğum ve hayatıma anlam katan sevgili ailem ve biricik yeğenim **Erkan Develi'ye** sonsuz teşekkürler...

Dr. Seval Develi-İş
İstanbul/2013

Bu tez İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 35105

İÇİNDEKİLER

ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Metabolik sendrom (MetS)	
2.2. MetS'un tanı kriterleri	
2.3. MetS bileşenleri	
2.4. Früktozun yapısı ve MetS üzerine etkisi	
2.5. Früktozun MetS oluşumundaki etki mekanizmaları	
2.6. Früktozun vasküler reaktivite üzerine etkisi	
2.7. Resveratrolün MetS üzerine etkisi	
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	24
3.1. Gereçler	
3.2. Çalışma protokolü	
3.3. Serum ve/veya plazmada yapılan ölçümler	
3.4. Aortada vasküler yanıtın incelenmesi	
3.5. Karaciğerde histopatolojik incelemeler	
3.6. İstatistik incelemeler	
4. BULGULAR	29
4.1. Yem/su tüketimi ve total kalori alımındaki değişiklikler	
4.2. Vücut ağırlığı ve karaciğer ağırlığındaki değişiklikler	
4.3. Biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler	
4.4. Vasküler yanıtındaki değişiklikler	
4.5. Karaciğerdeki histopatolojik bulgular	
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	44
6. KAYNAKLAR	48
7.ÖZGEÇMİŞ	59

KISALTMALAR LİSTESİ

ACh	Asetilkolin
ADMA	Asimetrik dimetilarginin
AGE	İleri glikasyon son ürünleri
ALT	Alanin aminotransferaz
AMP	Adenozin monofosfat
AMPK	Adenozin monofosfat-kinaz
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
BAG	Bozulmuş açlık glikozu
BGT	Bozulmuş glikoz toleransı
BUN	Kan üre azotu
CAT	Katyonic amino asit taşıyıcıları
COX	Siklooksijenaz
CRP	C-reaktif protein
DDAH	Dimetilarginin dimetilaminohidrolaz
3-DG	3-deoksiglukazon
EC₅₀	Efektif konsantrasyon 50
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
FOXO	<i>Forkhead box O geni</i>
GIR	Glikoz insülin oranı
GLUT	Glikoz transport proteini
H&E	Hematoksilen-eozin
HDL-C	Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü
HOMA	<i>Homeostasis model assessment</i>
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
ICAM-1	İntersellüler adezyon molekülü
KAH	Koroner arter hastalığı
KCl	Potasyum klorür
LDL-C	Düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü
L-NMMA	N-monometilarginin
MCP-1	Monosit kemoatraktan protein-1

MDA	Malondialdehit
MetS	Metabolik sendrom
MG	Metilglioksal
NFκB	Nükleer faktör kappa B
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PCC	Protein karbonil bileşikleri
PGC-1α	<i>PPAR-γ coactivator-1α</i>
Phe	Fenilefrin
PKOS	Polikistik over sendromu
PPAR-α /-γ	<i>Peroxisome proliferator-activated receptors-α /-γ</i>
PRMT	Protein metil transferaz
QUICKI	<i>Quantitative insülin sensitivity index</i>
RCC	Reaktif karbonil bileşikleri
SA-Hcy	S-adenozil homosistein
SAM	S-adenozil metyoninden
SDMA	Simetrikrik dimetilarginin
SGLT1	Sodyum glikoz taşıyıcısı 1
SH	Sülfidril
SIR	<i>Silent information regulator gene</i>
SIRT 1	Sirtuin 1
SNP	Sodyum nitroprussiyat
SOD	Süperoksit dismutaz
T2DM	Tip 2 diabetes mellitus
TG	Trigliserit
VKİ	Vücut kitle indeksi
VLDL-C	Çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü
YA	Yağ asiti
YFMS	Yüksek früktozlu mısır şurubu

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** ABD’de kişi başına düşen toplam şeker tüketimi.
- Şekil 2.** Karbonhidratların bağırsaklardan emilimi.
- Şekil 3.** Normal ve yüksek früktoz ile beslenmede früktozun jejunumdan absorpsiyonunda Glut2 ve Glut5’in yerleşimi.
- Şekil 4.** Früktoz ve glikozdan trigliserit sentezi.
- Şekil 5.** Früktoz metabolizmasının ürik asit oluşumu üzerine etkisi.
- Şekil 6.** Karbonil bileşikleri ve ileri glikasyon son ürünleri oluşumu.
- Şekil 7.** Asimetrik dimetilarginin oluşumu.
- Şekil 8.** Hipertansiyon, karaciğer yağlanması, diyabet ve böbrek hastalığı gelişiminde früktozun etkisi.
- Şekil 9.** Resveratrolün biyolojik etkileri.
- Şekil 10.** SIRT1 aktivatörleri ve etki mekanizmaları.
- Şekil 11.** Asimetrik dimetilarginin fluoressan türevinin oluşumu.
- Şekil 12.** Standartlara ait kromatogram.
- Şekil 13.** Asetilkolinin konsantrasyon-cevap eğrisi üzerindeki etkisi
- Şekil 14.** Sodyum nitroprussiyatın konsantrasyon-cevap eğrisi üzerindeki etkisi
- Şekil 15.** Potasyum klorürün konsantrasyon-cevap eğrisi üzerindeki etkisi
- Şekil 16.** Fenilefrinin konsantrasyon-cevap eğrisi üzerindeki etkisi

TABLolar LİSTESİ

- Tablo 1.** MetS tanı kriterleri
- Tablo 2.** Doğal gıdalardaki resveratrol miktarları
- Tablo 3.** Başlangıç ve bitiş vücut ağırlıkları, karaciğer ağırlıkları, karaciğer indeksi, yem/su tüketimleri ve total kalori miktarları
- Tablo 4.** Serum glikoz, insülin, trigliserit, total kolesterol, HDL-C, LDL-C düzeyleri ve HOMA indeksi
- Tablo 5.** Serum AST ve ALT aktiviteleri, BUN, kreatinin ve total protein düzeyleri
- Tablo 6.** Plazma metilglioksal, L-Arginin, asimetrik dimetilarginin ve simetrik dimetilarginin düzeyleri ile L-arginin/asimetrik dimetilarginin oranları

Tablo 7. Asetilkolinin izole sıçan aortasındaki maksimum gevşeme ve pD₂ değerleri

Tablo 8. Sodyum nitroprussiyatın izole sıçan aortasındaki maksimum gevşeme ve pD₂ değerleri.

Tablo 9. Potasyum klorürün izole sıçan aortasındaki maksimum kasılma ve pD₂ değerleri

Tablo 10. Fenilefrinin izole sıçan aortasındaki maksimum kasılma ve pD₂ değerleri

Tablo 11. Metilglioksal inkübasyonunun izole sıçan aortasındaki asetilkolinin oluşturduğu maksimum gevşeme ve pD₂ değerleri üzerine etkisi

Tablo 12. Metilglioksal inkübasyonunun izole sıçan aortasındaki potasyum klorürün oluşturduğu maksimum kasılma ve pD₂ değerleri

Tablo 13. Metilglioksal inkübasyonunun izole sıçan aortasındaki fenilefrinin oluşturduğu maksimum kasılma ve pD₂ değerleri üzerine etkisi

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Karaciğer dokularındaki histopatolojik görünüm

ÖZET

Amaç: Yüksek früktoz tüketimi metabolik sendrom (MetS) oluşumunda etkin bir rol oynamaktadır. Früktoz deney hayvanlarında insülin direnci, dislipidemi, karaciğer yağlanması ve damarlarda yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olmaktadır. Bu bozuklukların oluşumunda oksidatif stres, nitrik oksit (NO) biyoyararlanımında bozulma, inflamatuvar sitokin oluşumunda artış gibi birçok faktör sorumlu tutulmaktadır. Früktozun oldukça reaktif bir metaboliti olan metilglioksal (MG) özellikle endotel hasarı oluşumunda etkin bir rol oynadığı ileri sürülmüştür. Çalışmamızda amacımız fenol yapılı bir bileşik olan resveratrolün insülin duyarlılığını, lipit profilini ve damarların kasılma ve gevşeme cevabındaki değişiklikler üzerine etkisini ve MG, NO ve asimetrik dimetilargininin (ADMA) rolünü araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Sıçanlara 8 hafta süreyle içme suyuyla früktoz (%30; w/v) uygulandı. Bu sıçanlarda serumda glikoz ve insülin düzeyleri, serum lipit profili, karaciğer histopatolojisi, damarların gevşeme ve kasılma fonksiyonları incelendi. MG, L-arginin ve nitrik oksit sentazın (NOS) bir inhibitörü olan ADMA düzeyleri tayin edildi ve serumda NO oluşum ve biyoyararlanımını gösteren L-arginin/ADMA oranı hesaplandı. Aynı incelemeler früktozla birlikte resveratrol (50 mg/L; içme suyunda) uygulanan sıçanlarda da yapıldı.

Bulgular: Früktoz uygulanan sıçanlarda insülin direnci, hipertrigliseridemi, HDL-kolesterol düzeylerinde azalma ve karaciğerde histopatolojik değişimlere sebep oldu. Früktoz grubundaki sıçanların aorta kesitlerinde yapılan çalışmalarda aortanın gevşeme fonksiyonlarının azaldığı, kasılma fonksiyonunun arttığı bulundu. Bu değişimlerin endotel disfonksiyonundan kaynaklandığını belirledik. Bu koşullarda plazmada ADMA ve MG düzeylerinin değişmediği, L-arginin düzeyleri ile L-arginin/ADMA oranının ise azaldığı bulundu. Resveratrol uygulaması früktoza bağlı insülin direnci ve lipit profilindeki değişimleri etkilemediği halde karaciğerdeki histopatolojik bulgularda bir iyileşme oluşturdu. Früktozun aortada oluşturduğu gevşeme ve kasılma fonksiyonlarındaki değişikliklerde resveratrol tedavisi ile tamamen iyileşme görüldü. Bu koşulda ADMA ve MG düzeyleri etkilenmedi, ancak L-arginin/ADMA oranı arttı.

Sonuç: Bulgularımız resveratrol uygulamasının damarlarda früktoza bağlı olarak vasküler reaktivitede görülen değişiklikleri NO sentez ve biyoyararlanımı etkileyerek düzelttiğini gösterdi.

ABSTRACT

Title: The effect of resveratrol treatment on methylglyoxal levels and vascular functions in experimental metabolic syndrome

Aim: High fructose consumption plays an important role in the pathogenesis of metabolic syndrome (MetS). Fructose results in insuline resistance, dislipidemia, steatosis and structural and functional disturbances in vessels in experimental animals. Several factors such as oxidative stress, the changes in NO bioavailability, increases in inflammatory cytokines play a role in the production of these disturbances. Methylglyoxal (MG), a reactive metabolite of fructose, was reported to be an effective compound in the production of endothelial damage. In our study, we aimed to investigate the effect of resveratrol which is a phenolic compound on insulin sensitivity, lipid profile and relaxation and contraction functions of aortic rings in rats of fructose group together with the role of MG, NO and asimetric dimethylarginine (ADMA).

Materials and Methods: Fructose (30%; w/v, in drinking water) was given for 8 weeks. Serum glucose and insuline levels and lipid profile, liver histopathology and aortic relaxation and contraction functions were determined. The levels of MG, L-arginine and ADMA, an inhibitor of nitric oxide synthase enzyme, were determined and the ratio of L-arginine/ADMA showing NO bioavailability was calculated. Similar investigations were done in rats treated by fructose plus resveratrol.

Results: Fructose resulted in insuline resistance, hypertriglyceridemia, decreases in HDL-cholesterol levels and hepatic histopathological changes. Decreased vascular relaxation and increased contraction function in aortic rings were observed in rats of fructose groups. We observed that these changes occurred due to endothelial dysfunction. In these conditions, plasma ADMA and MG levels remained unchanged, but L-arginine levels and the ratio of L-arginine/ADMA diminished. Although resveratrol treatment did not alter fructose-induced insuline resistance and the changes in lipid profile, the amelioration in histopathological findings was observed. There were a restoration in fructose-induced aortic relaxation and contraction functions due to resveratrol treatment. In this condition, the ADMA and MG levels did not changed. However, the ratio of L-arginine/ADMA increased.

Conclusion: Our results show that resveratrol treatment ameliorated the changes in fructose-induced vascular reactivity by affecting NO bioavailability.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Metabolik sendrom (MetS); hiperglisemi, insülin direnci, dislipidemi ve hipertansiyon ile karakterize bir klinik tablo olup, kalp-damar hastalıkları ve diyabet gelişimi açısından önemli bir risk faktörüdür (91). Son yıllarda yapılan epidemiyolojik ve biyokimyasal çalışmalarda MetS oluşumunda yüksek früktoz içeren gıda tüketiminin etkin bir rol aldığı gösterilmiştir (11,91).

Deney hayvanlarını yüksek früktozlu diyet ve/veya içecekler ile besleme, MetS için deneysel bir model olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır (3,7,11,91). Früktozdan zengin beslenme; kullanım süresi ve dozuna bağlı olarak deney hayvanlarında glikoz intoleransı, insülin direnci, dislipidemi, karaciğer yağlanması ve daha birçok patolojiye neden olmaktadır (3,7).

Früktoza bağlı kalp-damar sistemi hastalıklarının gelişiminde damarların yapı ve fonksiyonlarındaki bozukluklar önemli bir rol oynamaktadır (2,3,4,7,85,92). Bu bozukluklarda oksidatif stres, nitrik oksit (NO) biyoyararlanımında bozulma, inflamatuvar sitokin oluşumunda artış gibi özellikle damarların endotel tabakasını etkileyen bazı faktörler sorumlu tutulmaktadır (42,71). Früktozun oldukça reaktif bir metaboliti olan metilglioksal (MG) isimli glikasyon ürününün de endotel hasarı oluşumunda etkin bir rol oynadığı ileri sürülmüştür (31,34,35,50,63,64,66). Öte yandan, organizmada L-argininden oluşan asimetrik dimetilargininin (ADMA) de nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi üzerine inhibitör etkiyle NO oluşumunda azalmaya ve endotel fonksiyonunda bozulmaya yol açtığı bildirilmiştir (58,94,110). Ancak yüksek früktozlu beslenmenin ADMA oluşumu üzerine etkisi netlik kazanmamıştır. Çalışmamızda ilk amacımız içme suyu ile yüksek oranda früktoz uygulanan sıçanlarda endotel fonksiyonunu değerlendirmek için damarların kasılma ve gevşeme cevabındaki değişiklikleri saptamak ve olası değişikliklerde MG, NO ve ADMA düzeylerinin rolünü araştırmaktır.

Früktoz uygulanan sıçanlarda insülin direnci, dislipidemi, hipertansiyon, vasküler reaktivite ve karaciğer yağlanması gibi MetS bileşenlerinin azaltılması/engellenmesi amacıyla çeşitli antioksidan bileşikler kullanılmış ve bazı olumlu sonuçlar alınmıştır (120). Resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene) de bu amaçla kullanılan ve siyah üzümün kabuğunda bulunan fenol yapısında bir bileşiktir (26). İlimli miktarda tüketilen kırmızı şarabın kalp-damar hastalığı riskine karşı koruyuculuğundan sorumlu bileşiklerden biri olduğu düşünülmektedir (20,47,119). Resveratrolün metabolik sendromun bileşenleri üzerinde iyileştirici bir etki

oluşturduğu bildirilmiştir. Bazı araştırcılar resveratrolün metabolik sendromun önemli bir bileşeni olan endotel disfonksiyonunun düzeltilmesinde önemli bir rolü olabileceğini bildirmişlerdir (2,28,122). Resveratrolün NO sentez ve biyoyararlanımını arttırdığı, trombosit agregasyonunu azalttığı, LDL oksidayonunu baskıladığı ve plazma lipit profilini iyileştirdiği ileri sürölmüştür (25,45,55,69). Ancak resveratrol uygulamasının endotel hasarının oluşumunda etkili olan MG ve ADMA düzeyleri üzerine etkisi açıklık kazanmamıştır. Bu nedenle, çalışmamızda ikinci amacımız, içme suyu ile yüksek oranda früktoz uygulanan sıçanlarda resveratrolün damarların gevşeme ve kasılma fonksiyonları üzerine etkisini ve bu etkide MG, NO ve ADMA'nın rolünü ve katkısını araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metabolik sendrom (MetS)

MetS, insülin direnciyle başlayan, abdominal obezite, glikoz intoleransı veya Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM), dislipidemi, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı (KAH) gibi bozuklukların birbiri üzerine eklendiği sistemik bir endokrinopatidir. İlk kez 1988 yılında Reaven (87) tarafından tanımlanmıştır. Bu araştırmacı insülin direncini glikoz intoleransı, hiperinsülinemi, artmış VLDL-kolesterol (VLDL-C), azalmış HDL-kolesterol (HDL-C) ve hipertansiyon ile ilişkilendirmiş, ancak orijinal tanımlamaya obeziteyi dahil etmemiştir. Obezitenin insülin direnci ile sonuçlanan metabolik değişikliklere yol açabildiği daha sonraki yıllarda fark edilerek sendromun tanımı genişletilmiştir (39). Bu sendroma insülin direnci sendromu, sendrom X, polimetabolik sendrom, ölümcül dörtlü ve uygarlık sendromu gibi farklı isimler de verilmekle birlikte, günümüzde en yaygın olarak MetS terimi kullanılmaktadır (88,105).

MetS bir modern yaşam hastalığıdır. Son yüzyıldaki teknolojik gelişmeler ve ekonomik durumdaki iyileşme batılı ülkelerde sedanter yaşam koşullarına ve yüksek kalori alımına neden olmaktadır. Bu durum MetS insidansının artışına ve epidemik olarak gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeleri tehdit etmesine yol açmıştır (5,96). Hareketsiz ortamlarda çalışan bireyleri tehdit eden MetS'un görülme sıklığı tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de artış göstermektedir. MetS prevalansı erişkinlerde ortalama % 22 olarak bildirilmektedir. Prevalans yaş ile artmakta, 20-29 yaş grubunda % 6.7, 60-69 yaş grubunda ise % 43.5 oranında görülmektedir. 2000 yılı itibariyle Türkiye genelinde 30 yaş ve üzerindeki 9.2 milyon kişide MetS mevcuttur ve KAH gelişen bireylerin % 53'ü aynı zamanda MetS hastasıdır. Ülkemizde MetS görülme sıklığı, erkeklerde % 28, kadınlarda ise % 40 gibi oldukça yüksek değerlerdedir (105). Son yıllarda dünyadaki ve ülkemizdeki en sık ölüm nedeninin KAH olduğu bilinmektedir. Bu nedenle KAH oluşumunda en önemli risk faktörleri olan metabolik sendrom ve diyabet, dünyada ve ülkemizde mortalitesi ve morbiditesi en yüksek olan hastalık gruplarıdır.

Özellikle son birkaç dekatta çok önemli ancak henüz yeterince önemsenmeyen bir diyetel değişiklik yaşamımızı etkilemektedir. Bu değişiklik, yüksek miktarda sakkaroz tüketimi ve yiyecek endüstrisinde çok yaygın olarak kullanılmaya başlayan bir tatlandırıcı olan yüksek früktozlu mısır şurubunun kullanılmasıdır. Son yıllardaki epidemiyolojik ve

biyokimyasal çalışmalar yüksek früktoz alımının MetS gelişiminde çok önemli bir nedensel faktör olabileceğini düşündürmektedir.

2.2. MetS'un tanı kriterleri

MetS için farklı tanı kriterleri önerilmiştir (4,10,77,118). En yaygın kullanılanı 1999'da Dünya Sağlık Örgütü tarafından tanımlanan kriterlerdir (Tablo 1).

Tablo 1. MetS tanı kriterleri (Dünya Sağlık Örgütü-1999)

Aşağıdakilerden en az biri:
<ul style="list-style-type: none"> ✓ İnsülin direnci ✓ Bozulmuş glikoz toleransı ✓ Aşık Diabetes Mellitus (DM)
ve
Aşağıdakilerden en az ikisi:
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Hipertansiyon (kan basıncı >140/90 mmHg veya antihipertansif kullanıyor olmak) ✓ Dislipidemi (Trigliserit düzeyi > 150 mg/dL veya HDL-C düzeyi erkekte < 35 mg/dL, kadında <39 mg/dL) ✓ Abdominal obezite (VKİ >30 kg/m² veya bel/kaçça oranı erkekte >0.90, kadında >0.85) ✓ Mikroalbuminüri (idrar albümin atılımı >20 µg/dakika veya albümin/kreatinin oranı >30 mg/g)

2.3. MetS bileşenleri

2.3.1. İnsülin direnci

Endojen veya ekzojen insüline karşı biyolojik yanıtıdır. Genetik faktörler, fetal malnütrisyon, fiziksel inaktivite, obezite ve yaşlanma gibi faktörler insülin direncine neden olmaktadır. Sağlıklı popülasyonda % 25, bozulmuş glikoz toleransında % 60 ve T2DM'si olanlarda ise % 60-75 oranında insülin direnci görülür (105). İnsülin direnci genelde hiperinsülinemiyle birlikte, fakat her zaman hiperglisemiyle birlikte seyretmez. Hiperglisemi, insülin direncinin ileri evresidir. İnsülin direncinin hesaplanması için klinik pratikte en sık kullanılan yöntem HOMA (homeostasis model assesment) formülüdür (96). GIR (glucose insulin ratio) ve QUICKI (quantitative insulin sensitivity index) de insülin direncini değerlendirmede kullanılan diğer formüllerdir (54,60,70).

- $HOMA = [A\text{çlık insülini } (\mu U/mL) \times a\text{çlık plazma glikozu } (mg/dL)] / 405$
- $GIR = A\text{çlık plazma glikozu } (mg/dL) / A\text{çlık insülini } (\mu u/mL)$
- $QUICKI = 1 / [\log a\text{çlık insülini } (\mu U/mL) + \log a\text{çlık plazma glikozu } (mg/dL)]$

Bu indeksler için eşik değerleri toplumlara göre farklılık göstermektedir (34,64,122). Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Türk toplumunda HOMA için eşik değerini 2.5 olarak bildirmiştir. Normal bireylerdeki HOMA değeri 2.5'den düşüktür, 2.5'nin üzerindeki değerler değişik derecelerde insülin direncini yansıtır (105).

2.3.2. Obezite

Ülkemizin farklı bölgelerinde (15 il-540 merkez) yapılan ve 2002 de yayınlanan "Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans çalışması-I (TURDEP-I)" ve 2010 da yayınlanan TURDEP-II çalışması erişkin yaşlardaki Türk toplumunun 2/3'ünün kilolu veya obez olduğunu göstermektedir (46,93). Abdominal obezite insülin direncinin en önemli göstergesidir. Bu nedenle Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği her obez hastanın MetS açısından taranmasını ve visseral adipozite göstergesi olarak vücut kitle indeksi (VKİ) yerine bel çevresi ölçümü kullanılmasını önermektedir (105).

2.3.3. Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM)

Her ne kadar T2DM'si olan hastaların tümünde insülin direnci olmasa da, aşikar DM veya bozulmuş glikoz toleransı varlığı MetS'un tanı kriterlerinin ilk basamağını karşılar, ayrıca insülin direncinin olması aranmaz. Bozulmuş açlık glikozu (BAG) ve bozulmuş glikoz toleransı (BGT) olan kişilerde aşikar DM gelişme riski yüksektir (105). TURDEP-II çalışmasında Türk erişkin toplumunda T2DM sıklığının % 13.7' ye ulaştığı ve T2DM başlama yaşının TURDEP I'e göre 5 yıl erken başladığı görülmüştür (46).

2.3.4. Dislipidemi

MetS'da serum trigliserit (TG) düzeyleri ve trigliseritçe zengin lipoproteinlerin post-prandiyal düzeyleri yükselir. LDL-kolesterol (LDL-C) genellikle artmaz, ancak LDL-C partiküllerinin çapları küçülür (küçük-yoğun LDL). HDL-C düzeyleri ise düşük bulunur. İnsülin direnci ilerledikçe, dislipidemi tablosu daha da belirginleşmektedir. Hipertrigliseridemi ve HDL düşüklüğü kardiyovasküler hastalık riskinin artmasına neden olur (39,88).

2.3.5. Karaciğer yağlanması

İnsülin direnci karaciğerde basit yağ birikimine (hepatosteatoz), serumda transaminaz aktivitesi yüksekliğine (steatohepatit) ve hatta siroza neden olabilmektedir. Obezlerin % 75'inde hepatosteatoz, % 20'sinde steatohepatit, % 2'sinde siroz gözlenir (105).

2.3.6. Hipertansiyon

Plazma insülin düzeyleri ile kan basıncı arasında doğrudan bir ilişki mevcut olduğundan, hiperinsülinemi varlığı hipertansiyona yol açmaktadır (86). İnsülin santral sempatik aktiviteyi arttırmakta ve böbrekten su ve tuz tutulumunu uyararak bir hipertansif etki oluşturmaktadır. Ancak bu etki fizyolojik koşullar altında insülinin periferik vazodilatatör aktivitesine bağlı hipotansif etkisiyle dengelenmektedir. İnsülin direnci varlığında ise, periferik vazodilatatör etkisine de direnç geliştiği için dengelenememiş vazopressör etkisiyle hipertansiyon olduğu düşünülmektedir (105). TURDEP-II raporunda ülkemizde hipertansiyon oranının önceki çalışmaya göre değişmediği (93), yaklaşık %30 civarında olduğu bildirilmiştir (46).

2.3.7. Koroner arter hastalığı (KAH)

MetS erken oluşan ateroskleroz için relatif değil, “mutlak” bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. MetS'lu hastalarda KAH riskinin MetS'u olmayanlarla kıyaslandığında 2-3 kat artmaktadır (23,33). MetS kriterlerinin her biri (insülin direnci, HDL-C düşüklüğü, hipertrigliseridemi, hipertansiyon, abdominal obezite) aslında KAH için bağımsız birer risk faktörüdür. MetS tanısı koymanın asıl amacı KAH riski yüksek kişileri belirlemektir. Kardiyovasküler mortalite MetS'u olmayanlarda % 2.2 iken MetS'lu hastalarda bu oran % 12'dir (105).

2.3.8. Polikistik over sendromu (PKOS)

PKOS insülin direnci ile ortaya çıkan kronik anovülasyon ve hiperandrojenizm ile karakterizedir. Polikistik overli hastaların yaklaşık %50-65'i obezdir, % 40 olguda bozulmuş glikoz toleransı veya aşikar DM, %35-45'inde ise insülin direnci görülür. PKOS'lu hastalarda erken yaşlarda kardiyovasküler hastalık görülme riski artmıştır (105).

2.3.9. İnflamasyon

C-reaktif protein (CRP) düzeyleri, abdominal obezite, TG yüksekliği, HDL-C düşüklüğü, hipertansiyon ve artmış açlık glikozu gibi MetS bileşenleriyle korelasyon

göstermektedir (40,89). MetS'lu vakalarda, CRP düzeyleri arttıkça kardiyovasküler risk artar. Bu akut faz cevabının, zeminde varolan bir subklinik inflamasyonu yansıttığı ve bu sürecin progresif olarak DM ve ateroskleroz gelişiminden, hatta plak rüptüründen sorumlu olduğu düşünülmektedir (105).

2.3.10. Endotel disfonksiyonu

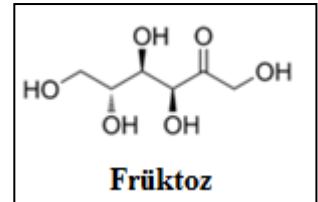
Vasküler endotel, normal koşullar altında birbirini dengeleyen vazodilatatör (NO) ve vazokonstriktör (anjiyotensin II) faktörler salan aktif endokrin bir organdır. Vasküler endotelin bu iki fonksiyonu arasındaki dengenin kaybı endotel disfonksiyonu olarak tanımlanır. MetS'un klinik belirtileri ortaya çıkmadan önceki dönemlerde endotel disfonksiyonunun geliştiği gösterilmiştir (105). MetS'da mononükleer hücre adezyonu artar, plazma adezyon molekülleri ve asimetrik dimetilarginin düzeylerinde artış görülür. Endotelyal vazodilatasyon bozulur (88).

2.3.11. Hiperkoagülabilite

İnsulin direnci plazminojen aktivator inhibitör-1, koagulan sistem bileşenleri (faktör-VII, faktör-VIII ve von-Willebrand faktör) ve fibrinojen düzeylerini yükselterek KAH riskini artırır (88,105).

2.4. Früktozun yapısı ve MetS üzerine etkisi

Früktoz glikoz izomeri olan bir ketoheksozdur. Diyetteki başlıca früktoz kaynakları meyveler, sebzeler, bal, şeker kamışından elde edilen sakkaroz (çay şekeri) ve yüksek früktozlu mısır şurubu (YFMŞ) olarak bilinen nişasta bazlı şekerlerdir. Balın yaklaşık % 50'si früktozdur, ancak bal, meyve ve sebzeyle alınan früktoz metabolizmada herhangi bir olumsuz etkiye yol açmamaktadır. Bunun nedeni doğal yoldan alınan früktozun çeşitli antioksidanlar ve liflerle birlikte alınmasıdır (21,22). Günümüzde früktozun hazır yiyecekler, pastane ürünleri, meyve suları/içecekler şeklinde aşırı tüketimi mevcuttur (44). Früktoz yiyeceklere ya sükröz (sakkaroz, % 50 glikoz- % 50 früktoz) veya YFMŞ halinde eklenmektedir.

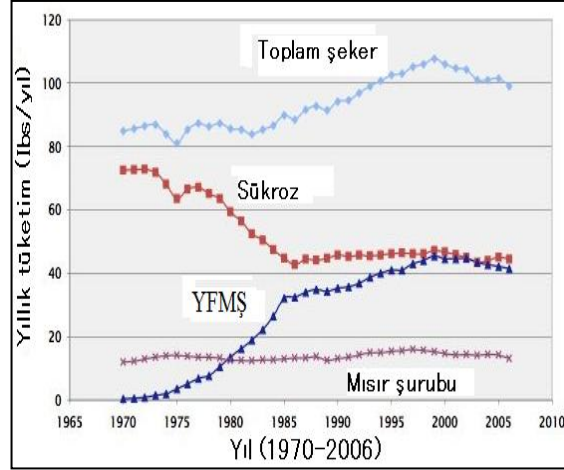


YFMŞ 1960'lardan sonra gıda teknolojilerinin gelişmesi ile mısırdan elde edilen nişastanın glikoza hidrolizi ve bunun da früktoza enzimatik izomerizasyonu ile elde edilmektedir. YFMŞ'nun en yaygın kullanılan formunun YFMŞ-55 (%55 früktoz, %41

glikoz, %4 glikoz polimerleri) ve YFMŞ-42 (%42 früktoz, %53 glikoz, %5 glikoz polimerleri) olduğu rapor edilmiştir (41). YFMŞ hem çok tatlı, hem de ucuz olduğu için yiyecek endüstrisi tarafından çok kullanılmaktadır. 1900 yılından önce Amerika'da diyetle früktoz alımı yaklaşık 15 g/gün (114), II. Dünya savaşından önce 24 g/gün iken, 1994 yılında 55 g/gün (total kaloringin % 10'u) olmuştur. ABD'de 1970-2000 yılları arasında sakkaroz tüketimi azalmasına karşın YFMŞ ve toplam şeker tüketimi giderek artmış, 2000-2006 yılları arasında ise YFMŞ ve toplam şeker tüketiminde ise sabitlenme görülmüştür (Şekil 1) (116). Günümüzde ise erişkinlerde früktoz alım oranı total kaloringin % 12.1'i (72.8 g/gün) iken büyüme çağındaki çocuklar ve gençlerde früktoz alım oranı ise sadece bir kutu içecek ile bile 25 g früktoz olarak (92) günlük total kaloringinin \geq % 20'sidir (114).

Son 30 yılda früktoz tüketimindeki bu artış obezite ve MetS prevalansı ile yakın ilişki göstermektedir (85). 500 okul çocuğuyla yapılan bir çalışmada (44,65) şekerle tatlandırılmış içeceklerin her servis edilisinde VKİ'ni 0.25 kg/m^2 arttırdığı sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde, istedikleri gibi früktozlu su/içecek tüketmelerine izin verilen fareler özellikle karaciğerdeki yağ depolarında olmak üzere yağlanmada artış göstermişlerdir (52,85,92). Yüksek früktozlu beslenmenin sıçan, hamster, köpek ve belirli fare türleri dahil olmak üzere çeşitli hayvan modellerinde insülin direncinde artışa, kilo alımına, hiperlipidemiye ve hipertansiyona neden olduğu bildirilmiştir (11,44,48,68,85,92). Bazı araştırmacılar yüksek früktozla beslenmenin sıçanlarda lipojenik genlerin ekspresyonunu arttırdığını, peroksizom proliferatör aktive edici reseptör- α (PPAR- α) bağımlı lipit oksidasyonu genlerini baskıladığını, intrahepatik yağ birikimine ve hipertrigliseridemiye neden olduğunu bildirmiştir (90). Yüksek glikozlu diyet ise lipojenik genlerin ekspresyonunu arttırmış, ancak lipit oksidasyonu genlerini baskılamamış, dolayısıyla karaciğer yağlanmasına ve dislipidemiye neden olmamıştır (90).

Geçtiğimiz yıllarda, früktoz glisemik indeksi glikozdan düşük olduğundan (glisemik index früktoz= 20; glikoz= 100; sükröz= 55) ve pankreasın β -hücrelerinde kolaylaştırılmış taşıyıcı-5 (Glut 5) olmaması nedeniyle insülin sekresyonunu uyarmadığından diyabetik hastalar için alternatif bir besin olarak düşünülmüştü. Gerçekten früktoz alımından sonra 1 saat içinde kan glikozunun artmadığı bulunmuştur. Ancak früktoz ile beslenmenin özellikle trigliserit düzeylerini artırması gibi metabolik sonuçları ortaya çıktıkça, diyabetikler için alternatif bir besin olduğu düşüncesinden vazgeçilmiştir.

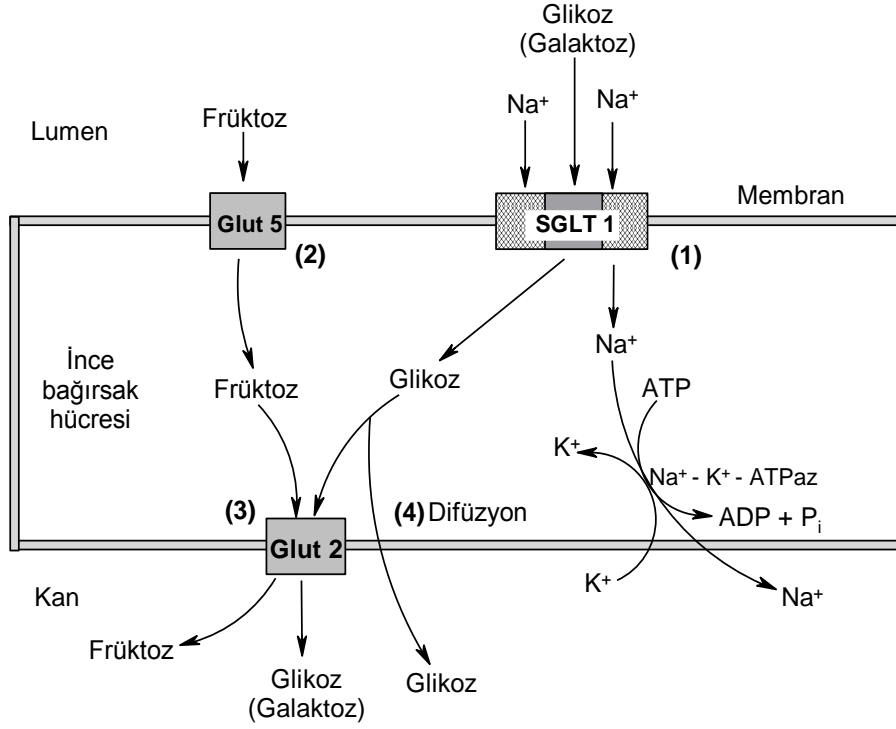


Şekil 1: ABD’de kişi başına düşen toplam şeker tüketimi. (1 lb=0,45g)

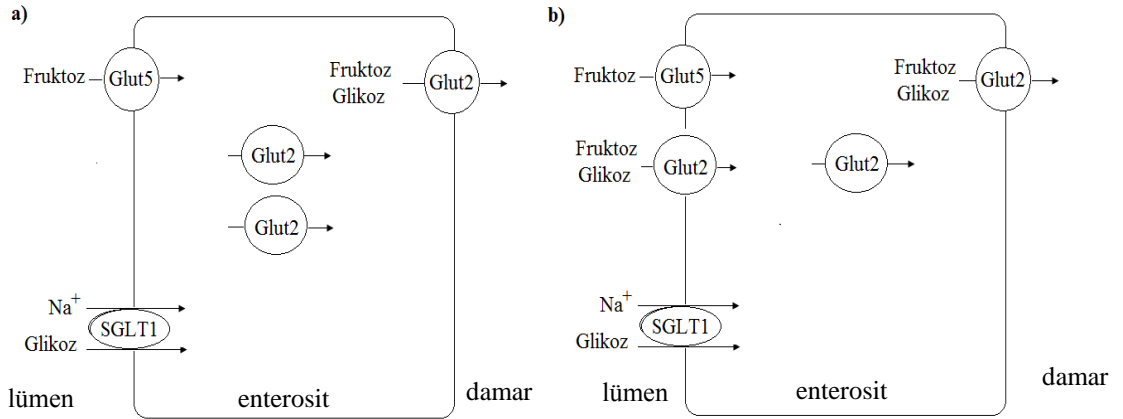
2.4.1. Früktozun emilimi ve metabolizması

Früktozun absorpsiyonu ince bağırsaklarda ve böbreğin proksimal tübüllerinde, başlıca glikoz transport proteinleri (Glut) aracılığı ile (kolaylaştırılmış difüzyon) gerçekleşmektedir (Şekil 2). İnce bağırsakta hem Glut 2 hem de Glut 5 eksprese edilir ve bunların her ikisi de früktoz taşıyabilme yeteneğine sahiptir (44,96).

Glut 2 ve Glut 5’in enterositteki yerleşimi ve früktoz absorpsiyonundaki rolleri Şekil 3’ de gösterilmiştir. Glut 5 gerek normal koşullarda, gerekse yüksek früktoz alımında enterositlerin sadece apikal membranında yer almaktadır. Glut 2 ise normal koşullarda hücre içinde ve bazal membranda bulunurken, yüksek früktoz varlığında apikal membranda da bulunur (44,96). Diyetle glikoz ve früktoz alımı arttığında Glut 2’nin majör glikoz-früktoz taşıyıcısı olduğu düşünülmektedir (96). Glikoz ile karşılaştırıldığında früktozun emilimi sınırlı olmasına rağmen, früktoz sükroz şeklinde glikoz ile birlikte alındığında emilim kapasitesi artmaktadır (früktozun glikoz bağımlı kotransportu). İnce bağırsağa ek olarak, böbrekte proksimal tübüllerde (S3 segmentinde) Glut 5 bol miktarda eksprese edildiğinden früktoz moleküllerinin üriner atılımı engellenir (44,96). Karaciğer dokusu da früktoz için spesifik olan Glut 5 taşıyıcısına sahiptir (37). Buna karşılık, adipositler Glut 5 mRNA ve proteinine sahip olmalarına rağmen, adipoz dokuda bu taşıyıcının düzeyleri son derece düşüktür (117).



Şekil 2. Karbonhidratların bağırsaklardan emilimi.



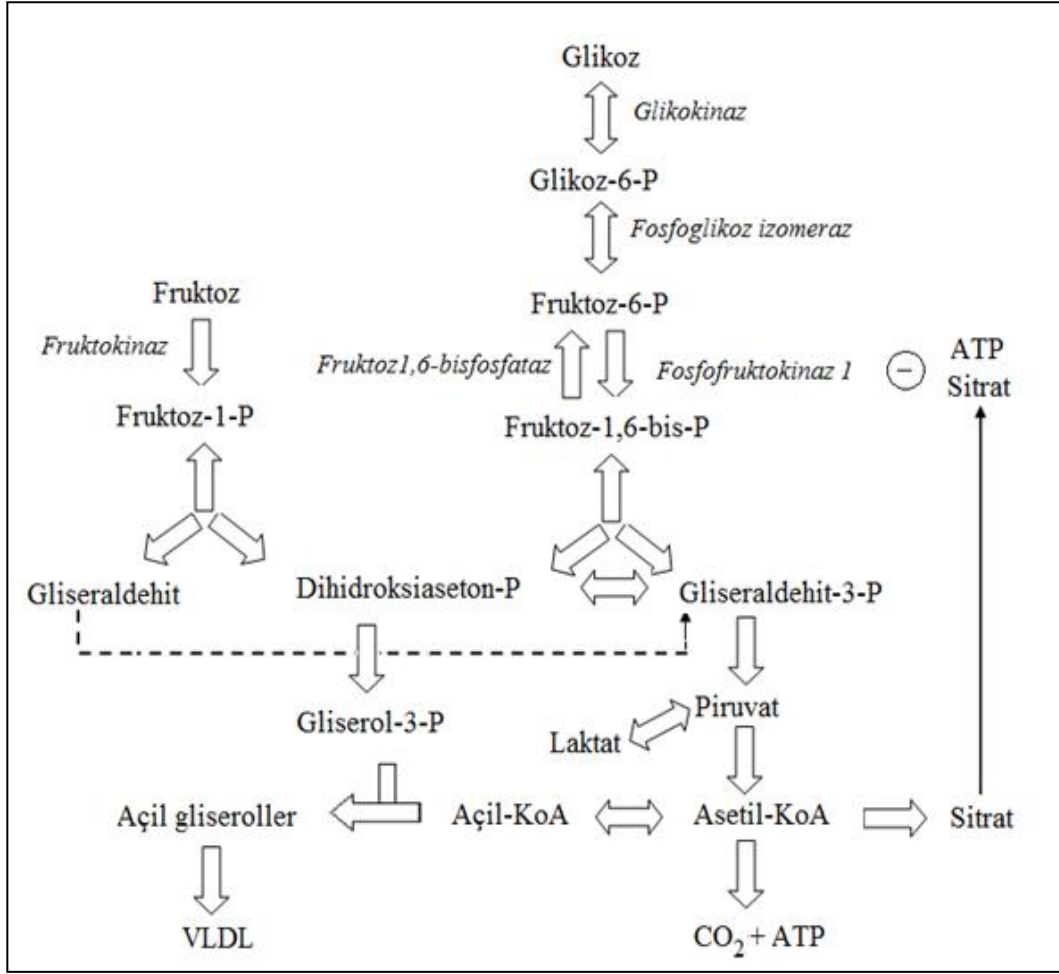
Şekil 3. Normal (a) ve yüksek früktoz ile beslenmede (b) früktozun jejunumdan absorpsiyonunda Glut2 ve Glut5'in yerleşimi (SGLT1=sodyum glikoz taşıyıcısı 1) .

Früktoz metabolizması başlıca karaciğerde gerçekleşir. Früktozun transport ve metabolizması insüline bağımlı değildir, metabolizması hızlıdır, böbrek eşik değeri düşüktür. Portal dolaşım yolu ile karaciğere ulaştırılan früktozun karaciğerdeki metabolizması Şekil 4'de görülmektedir (44). Karaciğerde früktoz früktozinaz tarafından früktoz 1-fosfata çevrilir. Bu enzimin früktoza ilgisi yüksektir (K_m : 0.5Mm). Früktoz 1-fosfat daha sonra früktoz 1-fosfat aldolaz (aldolaz B) tarafından gliseraldehit ve dihidroksiaseton fosfata çevrilir (108). Dihidroksiaseton fosfat bir izomeraz etkisi ile gliseraldehit-3-fosfata dönüşebildiği gibi, gliseraldehit bir kinaz etkisiyle de gliseraldehit-3-fosfata dönüşebilir. Daha sonra bu trioz fosfatlar Şekil 4'de gösterildiği gibi;

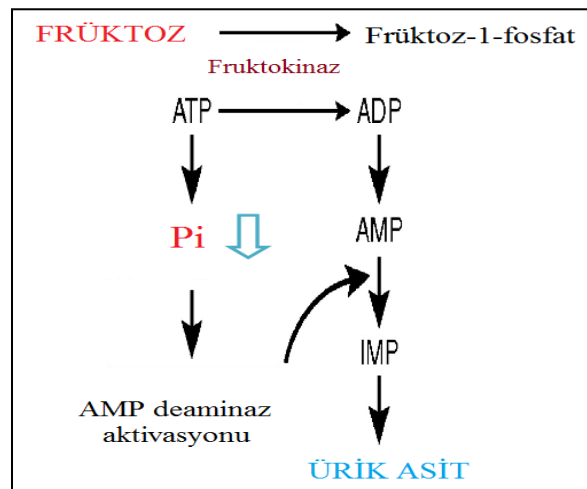
1. Glikoneojenez yolu ile glikoza ve glikojene dönüşebilir.
2. Glikolitik yoluna devam edip piruvata dönüşür, CO_2 ve H_2O 'ya oksitlenir.
3. De novo lipojenez yoluyla yağ asitleri (YA) ve TG'e dönüşüp VLDL-C olarak sistemik dolaşıma girer.
4. Bağırsak ve karaciğerde laktata dönüşüp dolaşıma geçebilir.

Früktozun karaciğerde metabolize olurken früktozinaza affinitesinin çok yüksek olması, oluşan früktoz 1-fosfatın glikoliz ara maddelerine dönüşümünde hekzokinazı ve fosfofrüktozinaz 1'i by-pass etmesi nedeniyle früktoz karaciğerde glikoza oranla çok daha hızlı bir şekilde metabolize olmaktadır (108). Sonuçta yüksek früktoz tüketimi hızlı ve kontrolsüz şekilde yukarıda bahsedilen ürünlere dönüşmektedir.

Früktoz früktozinaz tarafından fosforillenirken fosfat donörü olarak ATP kullanır. Bu kullanım karaciğerde ATP depolarında deplesyona, AMP birikimine ve AMP deaminaz 1 aktivasyonu sonucu ürik asit oluşumunda artışa yol açar (Şekil 5). Ürik asit vasküler düz kaslardaki endotelial nitrik oksit sentazı (eNOS) inhibe eder ve NO üretiminde azalmaya yol açar. Bu mekanizmanın hipertansiyon gelişiminde önemli bir rol oynadığı ileri sürülmektedir (62). Gerçekten, şekerle tatlandırılmış içecek tüketimi ile ürik asit düzeyleri ve kan basıncı değerlerinin çocuklarda (78) ve erişkinlerde (43) pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca ürik asit inhibitörü olan allopurinolün adolesanlarda kan basıncını düşürdüğü ileri sürülmüştür (38).



Şekil 4. Fruktoz ve glukozdan trigliserit sentezi.



Şekil 5. Fruktoz metabolizmasının ürik asit oluşumu üzerine etkisi

2.5. Früktozun MetS oluşumundaki etki mekanizmaları

Früktozca zengin beslenmenin MetS oluşumunda farklı mekanizmalar aracılığı ile etkili olduğu bildirilmiştir. Bunlar arasında glikoz, serbest YA, TG, ileri glikasyon son ürünleri (AGE) ve MG düzeylerinde artış ve NO biyoyararlanımında bozulma sayılabilir.

2.5.1. Früktozun serbest YA oluşumu üzerine etkisi

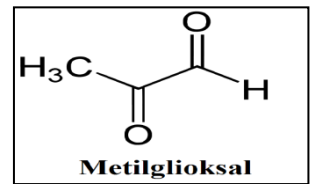
Früktozdan früktoz-1-fosfat oluşurken fosfofrüktokinaz 1 basamağı by-pass edildiği için kontrolsüz bir biçimde oluşan triozlar gliserol ve YA sentez yollarına sapabilir ve esterleşerek TG oluşturabilir (44,91). Bu TG'ler karaciğer tarafından VLDL-C şeklinde paketlenerek kan dolaşımına verilir. Bu VLDL-C'ler kanda dolaştıkça TG'ler lipoprotein lipaz tarafından hidroliz edilerek serbest YA ve monoaçil gliseroller oluşur. Adipoz doku bu komponentleri dolaşımdan alır ve yeniden TG sentezler. Bu nedenle aşırı früktoz tüketimi kanda serbest yağ asitleri düzeyinde bir artışa ve yağ birikimine yol açar. Obezitede bu yağ depolama kapasitesi maksimum düzeye ulaştığında, YA'nin dolaşımdan toplanması yetersiz kalır. Ayrıca adipozitlerdeki sinyal yollarındaki anormallikler de TG depolarında lipolizi tetikleyerek kanda serbest YA düzeylerinin daha da artmasına yol açar (44,91). Dolaşımdaki bu yüksek miktarda serbest YA'nin obezite, insülin direnci, T2DM ve dislipidemi oluşumunda anahtar bir rol oynadığı ileri sürülmektedir. Öte yandan, bu serbest YA'leri karaciğer ve iskelet kası gibi dokular tarafından ektoptik olarak alınabilir ve burada TG veya diaçil gliseroller şeklinde depolanabilir. Bu depolanma insüline direncine ve MetS'a katkıda bulunabilir (91).

Hepatik insülin direnci, T2DM ve MetS'un önemli bir patofizyolojik özelliğidir. Çeşitli çalışmalar hepatic insülin direncinin oluşumunda en az 3 majör faktörün kritik rolü olduğunu düşündürmektedir;

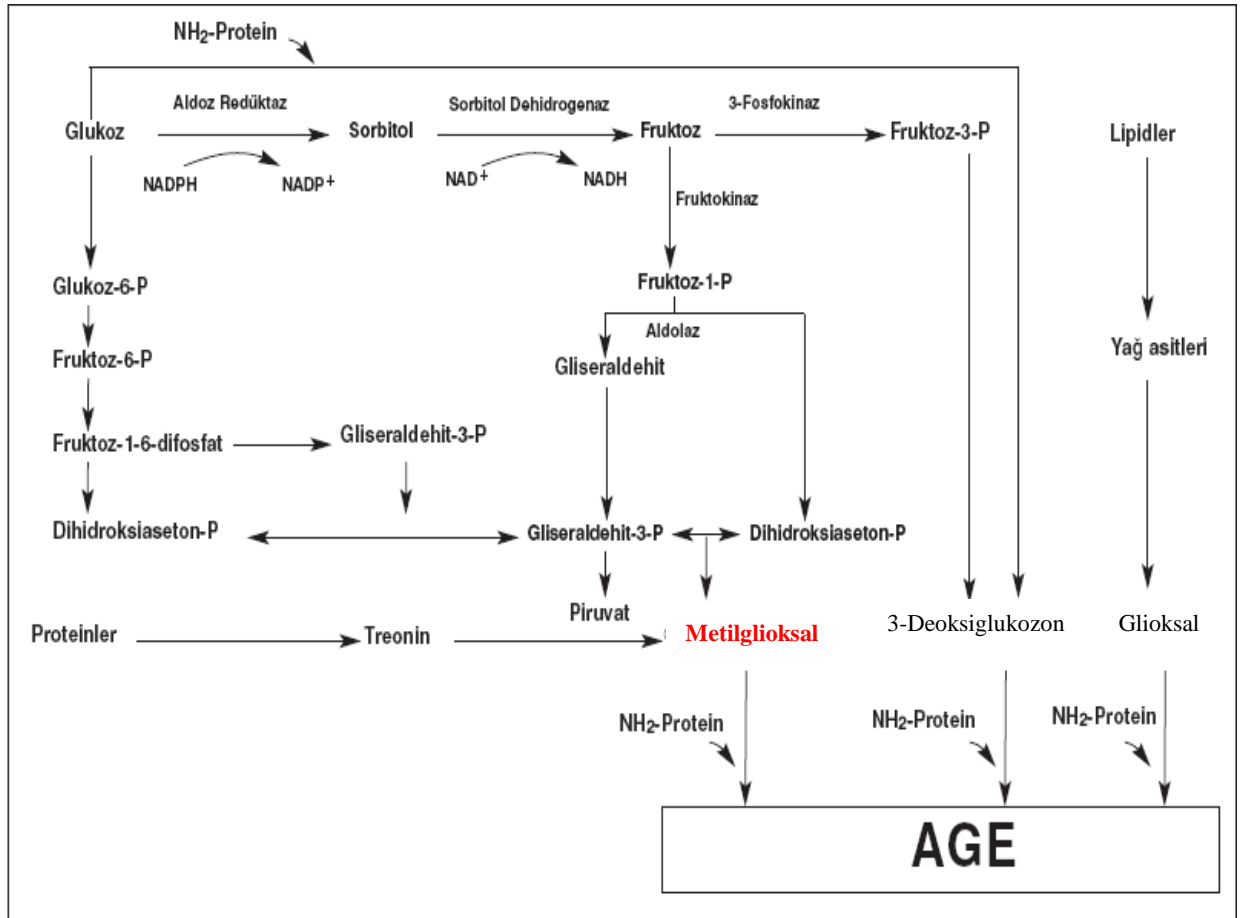
- 1) Esterleşmemiş YA'lerinin karaciğere akışındaki artış,
- 2) Hepatik inflamasyonun indüklenmesi,
- 3) Hepatik insülin sinyal yolağındaki moleküllerdeki defektler.

2.5.2 Früktozun ileri glikasyon son ürünleri (AGE) ve metilglioksal (MG) oluşumu üzerine etkisi

Enzimatik ve non-enzimatik reaksiyonlarla hem aerobik hem de aerobik olmayan şartlarda oluşabilen, yapılarında karbonil grubu bulunduran 3-deoksiglukazon (3-DG), glioksal, MG, malondialdehit (MDA), 4-dihidroksinonenal gibi bileşiklere, reaktif karbonil bileşikleri (RCC) denilmektedir



(14). RCC, protein yapılarında bulunan arginin, lizin ve sisteinin yapısındaki amino/tiyol grupları ile reaksiyona girerek protein üzerinde karbonil grupları (protein carbonyl compounds, PCC)'nin oluşumuna neden olmaktadır (31). Organizmada RCC ve dolayısıyla PCC seviyelerinin artması "karbonil stres" olarak tanımlanır (66). Bu modifiye protein yapıları, glikasyon/glikoksidasyon olarak adlandırılan bir dizi reaksiyonla intra ve inter-moleküler çapraz bağlanmalar yaparak AGE oluşumuna neden olmaktadır (Şekil 6) (66,94). Günümüzde, AGE oluşumu ve karbonil stres, DM, hipertansiyon, ateroskleroz, yaşlanma ve Alzheimer gibi pek çok hastalığın etiopatogenezinde sorumlu tutulmaktadır (66).



Şekil 6: Karbonil bileşikleri ve ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşumu.

2.5.3. Fruktozun NO biyoyararlanımı ve ADMA oluşumu üzerine etkisi

Endotelial hücrelerden türemiş başlıca vazoaktif mediatör olan NO, NOS kataliziyle L-argininden oluşur. NO; endotel bağımlı vazodilatasyona aracılık eder, düz kas hücre proliferasyonunu, trombosit agregasyonu ve monosit adhezyonunu inhibe eder. Bütün bu fonksiyonlarından dolayı, NO endojen antiaterosklerotik molekül olarak tanımlanmıştır.

Hücrelere NO sağlanması

- NOS'un ekspresyonu ve aktivitesi
- NOS'un substratı olan L-arginin sağlanması
- NOS'un kofaktörü olan tetrahidrobiopterin sağlanması
- NO'yu etkisiz kılan reaktif oksijen radikallerinin düzeyi
- NOS'un endojen inhibitörü olan asimetrik dimetilargininin (ADMA) düzeyi gibi

birçok faktöre bağlıdır.

ADMA ve yapıca benzer diğer bileşikler olan simetrik dimetilarginin (SDMA) ve N-monometilarginin (L-NMMA), proteinlerdeki spesifik arginin kalıntılarının S-adenozilmetyonin protein arginin metiltransferaz (protein metil transferaz, PRMT) kataliziyle metilasyonu ile oluşur. Bu enzim, S-adenozil metyoninden (SAM) metil grubunun arginine transferini katalizleyerek metilarginin ve S-adenozil homosistein (SA-Hcy) oluşumuna yol açar. Bu enzim tek yönlü çalıştığından proteinlerdeki metillenmiş arginin kalıntılarında metil grupları uzaklaştırılmaz ve metil argininler bu metillenmiş arginin kalıntıları taşıyan proteinlerin proteolizi sonucu oluşur (Şekil 7).

Metillenmiş arginin türevleri ilk kez 1970'de insan idrarından izole edilmiştir (53). Bu bileşiklerin, özellikle ADMA'nın önemini ortaya koyan bulgular ilk kez 1992'de Vallance ve arkadaşları (110) tarafından yayınlanmıştır. Bu araştırmacılar, insan plazma ve idrarında ADMA'yı tanımlamışlar ve NOS'u inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca ADMA'nın sıçan aortunda in vitro kasılmaya yol açtığını, asetil koline cevapta endotel bağımlı gevşemeyi inhibe ettiğini ve kobaylara infüze edildiğinde kan basıncını arttırdığını saptamışlardır. Aynı araştırmacı grubu, sağlıklı kişilerin brakial arterlerine ADMA'nın lokal infüzyonunun, ön kolda kan akışını doza bağımlı azalttığını belirlemişlerdir (110).

L-NMMA, NOS'u ADMA kadar güçlü inhibe etmesine rağmen, plazma düzeyi ADMA'nın 1/10 u kadar olduğu için ADMA başlıca eNOS inhibitörü olarak kabul edilmektedir. SDMA ise ADMA ile benzer düzeylerde dolaşımda bulunmasına karşın, NOS üzerine inhibitör etkiye sahip değildir (110). Ancak SDMA hücre içinde arginin sağlanımını azaltarak NO oluşumunu limitleyebilir (17,49).

Her üç metil arginin de böbrekler yoluyla kandan temizlenir. Ancak ADMA ve L-NMMA'nın % 90'dan fazlası dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDAH) kataliziyle sitrulin ve sırasıyla dimetilamin veya monometilamine metabolize olur (80). DDAH enziminin 2 izoformu tanımlanmıştır: DDAH-1 başlıca nNOS içeren dokularda, DDAH-2 ise eNOS ve iNOS içeren dokularda eksprese olur (103). DDAH'nin farmakolojik inhibisyonunun ADMA düzeylerini arttırarak NO oluşumunu baskıladığı saptanmıştır (67).

Öte yandan, DDAH'nin aşırı ekspresyonunun da tam tersi etki sergilediği in vitro (95) ve in vivo (32) çalışmalarla gösterilmiştir. DDAH; endotel hücresi, beyin, pankreas gibi birçok dokuda eksprese olmasına karşın, ADMA metabolizmasından sorumlu başlıca organlar karaciğer ve böbrektir. Hücre içinde oluşan ADMA ya DDAH ile enzimatik olarak yıkılır ya da hücreden plazmaya katyonik amino asit taşıyıcıları (CAT) ile taşınır. Plazmadaki ADMA ise ya böbrekler yoluyla atılır veya tekrar CAT aracılığı ile diğer dokular tarafından alınır. (17,49). Böbrekler tarafından kandan uzaklaştırılan ADMA'nın yalnız küçük bir kısmı idrarla atılır, geri kalanı renal DDAH-1 ile metabolize olur (79).

Normal plazma ADMA düzeyleri 1 μM 'dan daha düşüktür. Son evre böbrek hastalarında 10 kat, diğer birçok patolojik durumda 2-3 kat artabilir (111). İzole edilmiş arter segmentinde yapılan in vitro çalışmalarda, 3 ila 15 μM konsantrasyonda ADMA'nın vasküler NO oluşumunu inhibe ettiği bildirilmiştir (58,94,110). ADMA her üç NOS izoformunu da yarışmalı olarak inhibe eder ve bu etki L-argininin yüksek konsantrasyonları ile ortadan kaldırılabılır (121). Tüm kofaktörlerin optimum varlığında NOS'un L-arginin için K_m 'i 3 μM olarak bulunmuştur. Dolaşımdaki L-arginin düzeyinin, bu değerin 15 ila 30 katı olmasına ve bu koşullarda enzimin substratı ile tamamen doygun bulunması beklentisine karşın, ekzojen L-arginin uygulamasının NO sentezini arttırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir (29,104). Bu çelişki "L-arginin paradoksu" olarak adlandırılır. L-arginin paradoksundan büyük ölçüde ADMA sorumludur. Diğer bir deyişle, ancak fizyolojik düzeyin çok üstünde bir L-arginin varlığında ADMA'nın inhibitör etkisi ortadan kaldırılabılır. Bu nedenle NO oluşumu ve biyoyararlanımından bahsedebilmek için L-arginin ve/veya ADMA miktarındaki değişimlerden çok L-Arginin/ADMA oranının daha iyi bir gösterge olduğu ileri sürülmektedir (15).

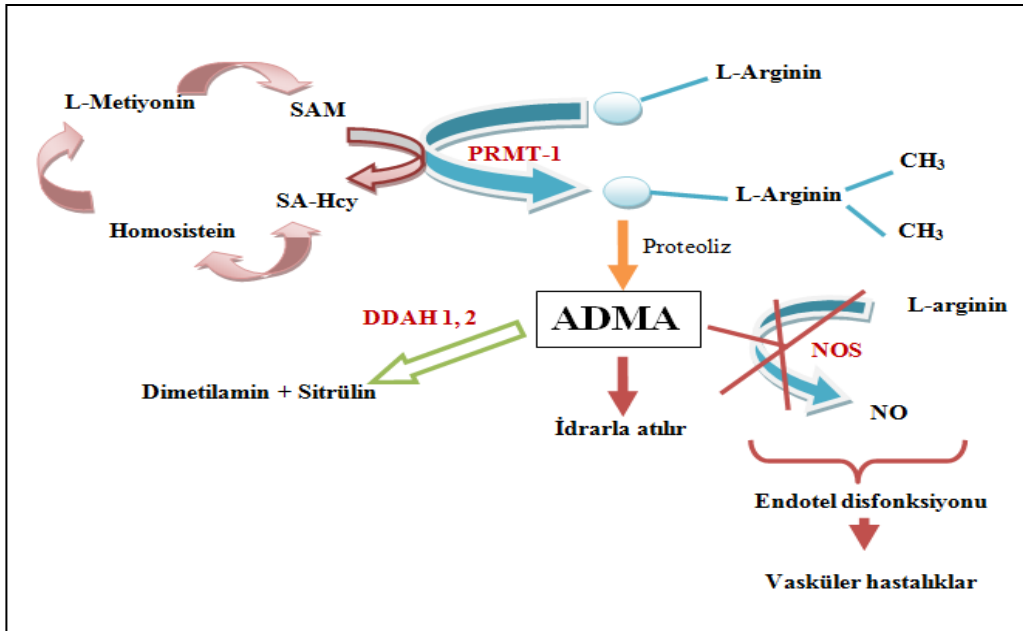
Öte yandan, NOS NO'nun yanısıra süperoksit radikali de oluşturabilir. NOS "uncoupling" olarak adlandırılan bu etki, NOS'un substratı L-arginin veya kofaktörü tetrahidrobiopterin yetersizliğinde gözlenir. ADMA ve L-NMMA, arginin ile yarışarak NOS "uncoupling"ini uyarır ve oksidatif strese yol açabilir (24,99).

Farklı mekanizmaların plazmada ADMA birikimine yol açabileceği ileri sürülmektedir. Bunlar arasında proteinlerin PRMT ile artmış metilasyonu, artmış proteoliz ve metil arginin salınımı, bozulmuş böbrek ve karaciğer fonksiyonu ve DDAH inaktivasyonu sayılabilir. Ancak ADMA birikimine neden olan asıl mekanizma, DDAH inaktivasyonudur. Birçok deneysel sistemde, normal DDAH protein ekspresyonuna karşın, azalmış DDAH aktivitesinin ADMA birikimine eşlik ettiğini gösterilmiştir. Bu enzim aktivitesi için serbest SH gruplarına

gereksinim gösterdiğinden oksidatif strese son derece duyarlıdır. Gerçekten, DDAH aktivitesinde azalmanın, sıklıkla reaktif oksijen radikallerinin birikimi ile paralellik gösterdiği ve antioksidanların enzimi koruduğu bildirilmiştir (49,51). Öte yandan, iNOS ile aşırı miktarda NO oluştuğu zaman, DDAH'nin spesifik sülfidril (SH) grubu nitrozilasyon ile de inaktive olabilir. Bu durum, ADMA'nın birikimine yol açar ve sonuçta proinflamatuvar sitokinler ile iNOS indüklendiğinde, aşırı NO oluşumunu sınırlayarak koruyucu rol oynayabilir (56,61).

Yüksek ADMA konsantrasyonu ve kardiyovasküler hastalık arasındaki ilişkiyi gösteren çok sayıda çalışma vardır. Hiperkolesterolemi (18), periferik arter hastalığı (19), hiperhomosisteinemi (100), Diabetes Mellitus (1), hipertansiyon (98), kronik kalp hastalığı (107) ve koroner arter hastalığı (109) gibi durumlarda serum ADMA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. ADMA'nın ateroskleroz gelişiminin erken safhasında yükselerek endotel disfonksiyonu oluşumunda etkili olduğu ileri sürülmektedir.

Früktozun ADMA düzeyleri üzerine etkisi deneysel (57,81) ve klinik (82) çalışmalarla araştırılmıştır. MetS'li hastalarda ve yüksek früktozlu diyetle beslenen deney hayvanlarında ADMA düzeylerinin arttığı ve MetS'nin bazı bileşenleri ile korelasyon gösterdiği belirtilmiştir. Bütün bu bilgiler; obezite, hiperlipidemi, hipertansiyon, insülin direnci ve karaciğer yağlanması ile karakterize MetS tablosu oluşumunda ADMA'nın etkili olabileceğini düşündürmektedir.

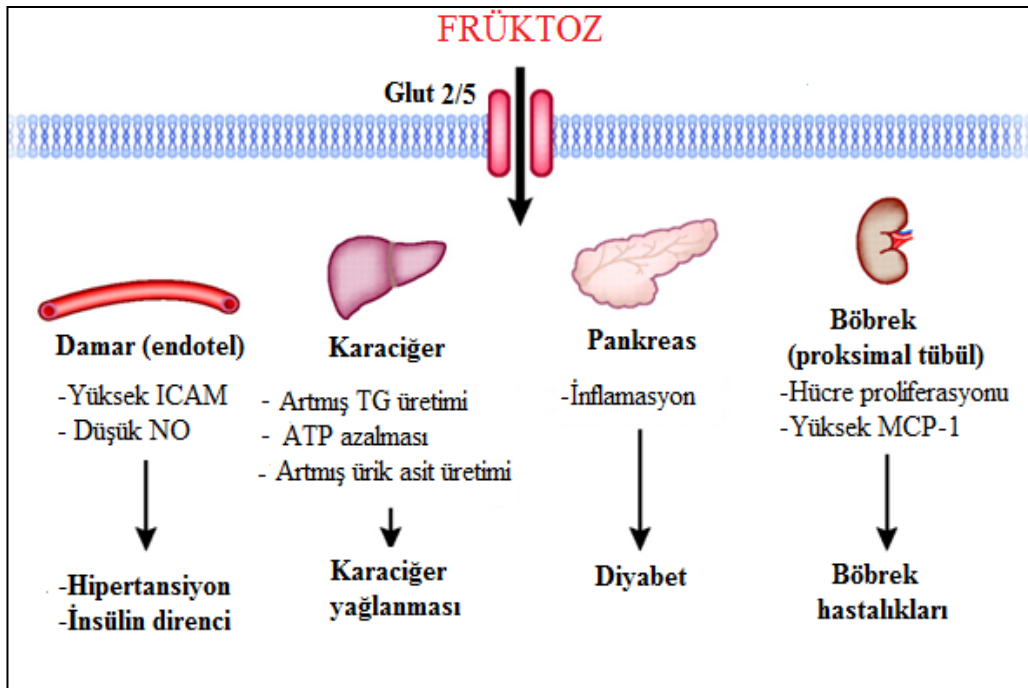


Şekil 7: Asimetrik dimetilarginin (ADMA) oluşumu.

(SAM, S-adenozil metyonin; SA-Hcy, S-adenozil homosistein; PRMT, protein metil transferaz; DDAH, dimetilarginin dimetilaminohidrolaz)

2.6. Früktozun vasküler reaktivite üzerine etkisi

Çok sayıda klinik ve deneysel çalışma sonucunda, früktozca zengin beslenmenin, dislipidemi, insülin direnci, karaciğer yağlanması, hipertansiyon, hiperürisemi ve obezite gibi çeşitli metabolik ve kalp-damar sistemi bozukluklarına yol açtığı yönünde genel bir kanı oluşmuştur (Şekil 8). Früktoza bağlı kalp-damar sistemi hastalıklarının gelişiminde endotel hasarı özellikle önemli bir rol oynamaktadır (2,3,4,7,85,92). Endotel hasarı oluşumunda oksidatif stres, nitrik oksit (NO) biyoyararlanımının bozulması, inflamatuvar sitokin oluşumunun artması gibi birçok faktör etkilidir (42,71). Früktozun oldukça reaktif bir metaboliti olan metilgliksal (MG) isimli glikasyon ürününün de endotel hasarı oluşumunda etkin bir rol oynadığı ileri sürülmüştür (31,34,35,50,63,64,66). Son yıllarda izole sıçan aortası MG ile inkübe edildiğinde, yüksek glikoz ile inkübasyon sonucu görülene benzer endotel fonksiyon bozukluğuna yol açtığı belirlenmiş ve MG oluşumunun glikoza bağlı endotel hasarında rolü olabileceği ileri sürülmüştür (35). MG'leri bağlayarak etkisiz hale getirebilecek çeşitli bileşikler mevcuttur. Bunlardan aminoguanidin, metformin ve N-asetil sistein non-spesifik MG bağlayıcılarıdır, ancak bu bileşikler çoğu kez diyabetik hasarı önlemede yetersiz kalmaktadırlar (34). Bu nedenle MG oluşumunun baskılanmasının diyabetik vasküler komplikasyonları önlemede yeni bir yol olabileceği düşünülmektedir.

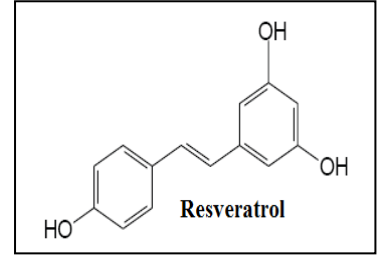


Şekil 8. Hipertansiyon, karaciğer yağlanması, diyabet ve böbrek hastalığı gelişiminde früktozun etkisi.

Öte yandan, organizmada L-argininden oluşan asimetrik dimetilargininin (ADMA) de nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi üzerine inhibitör etkiyle NO oluşumunda azalmaya ve endotel fonksiyonunda bozulmaya yol açtığı bildirilmiştir (58,94,110). Ancak yüksek früktozlu beslenmenin ADMA oluşumu üzerine etkisi netlik kazanmamıştır. Çalışmamızda ilk amacımız içme suyu ile yüksek oranda früktoz uygulanan sıçanlarda endotel fonksiyonunu değerlendirmek için damarların kasılma ve gevşeme cevabındaki değişiklikleri saptamak ve olası değişikliklerde MG ve ADMA düzeylerinin rolünü araştırmaktır.

2.7. Resveratrolün MetS üzerine etkisi

MetS prevalansındaki artış nedeniyle bilim insanları son yıllarda resveratrol, berberin, antosiyanin, kurkumin... vb.gibi doğal ürünlerin MetS’u önleyici/iyileştirici etkisi üzerine birçok deneysel çalışma yapmaktadır (120). Fransızların son derece



yüksek miktarda doymuş yağ ve kolesterol içerikli beslenmesine ve yoğun sigara tüketmelerine rağmen özellikle Bordeaux bölgesinde, kalp hastalıklarının yok denecek kadar az görülmesi dikkat çekmiş ve bu çelişki “Fransız paradoksu” olarak değerlendirilmiştir. Bordeaux bölgesinin rutubetli havasında yetişen “cabernet sauvignon” cinsi üzümün kabuğunda, küf mantarına karşı oluşan resveratrol adlı maddenin, yüksek kalorili ve yüksek yağlı yiyecekler tüketildiği halde, kalp hastalıklarına karşı koruyucu rolü olduğu yönünde sonuçlar elde edilmiştir. Harvard Tıp Fakültesinden, David A.Sinclair, bu buluşu “100 bin yıldan beri beklenen bir keşif” olarak nitelendirmiştir (12).

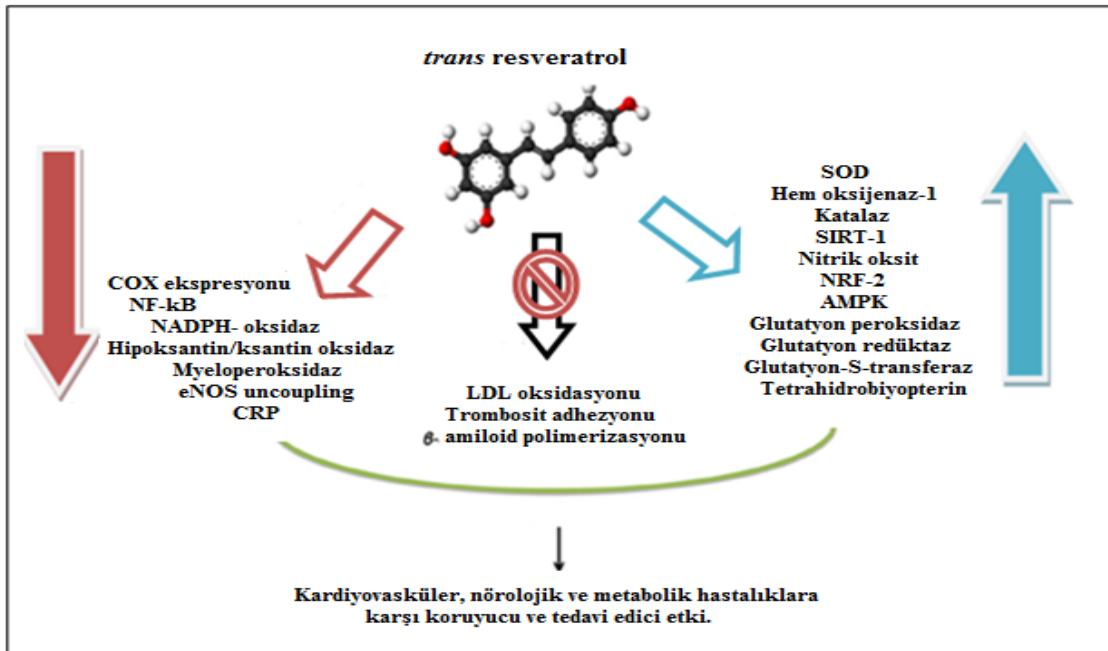
Resveratrol, bitkilerde özellikle siyah üzümde, yer fıstığında ve ananasta yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır (83, Tablo 2). Siyah üzümün, soğuk hava koşulları, mantar enfeksiyonları ve ultraviyole gibi etkenlere karşı kendini korumak için ürettiği bir maddedir (26).

Günümüzde kırmızı şarabın koruyucu etkin bileşeni olarak yoğun ilgi görmekte olan resveratrol geleneksel Doğu Asya tıbbında (20) ve Güney Amerika’da pre-Colombian tıbbında (47) uzun zaman önceden beri tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Resveratrolün koroner damarları genişleterek, ventriküler aritmiyi azaltarak, trombosit agregasyonunu ve düz kas proliferasyonunu inhibe ederek, glikoz metabolizmasını iyileştirerek, lipid profilini düzelterek kalbi koruduğu bildirilmiştir (25). Kalp damar hastalıklarına karşı koruyucu etkisinin ötesinde resveratrolün ‘anti-aging’ (45), anti-inflamatuvar (55), anti-diyabetik (69), anti-viral (36) ve anti-neoplastik (47) etkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Gıda	Resveratrol miktarı
Yaş üzüm	0.16-3.54 µg/g
Kuru üzüm kabuğu	~ 24.06 µg/g
Kara üzüm suyu	~ 0.5 mg/L
Beyaz üzüm suyu	~ 0.05 mg/L
Kırmızı şarap	0.1-14.5 mg/L
Beyaz Şarap	0.1-2.1 mg/L
Yer fıstığı	0.02-1.92 µg/g
Antep fıstığı	0.09-1.67 µg/g

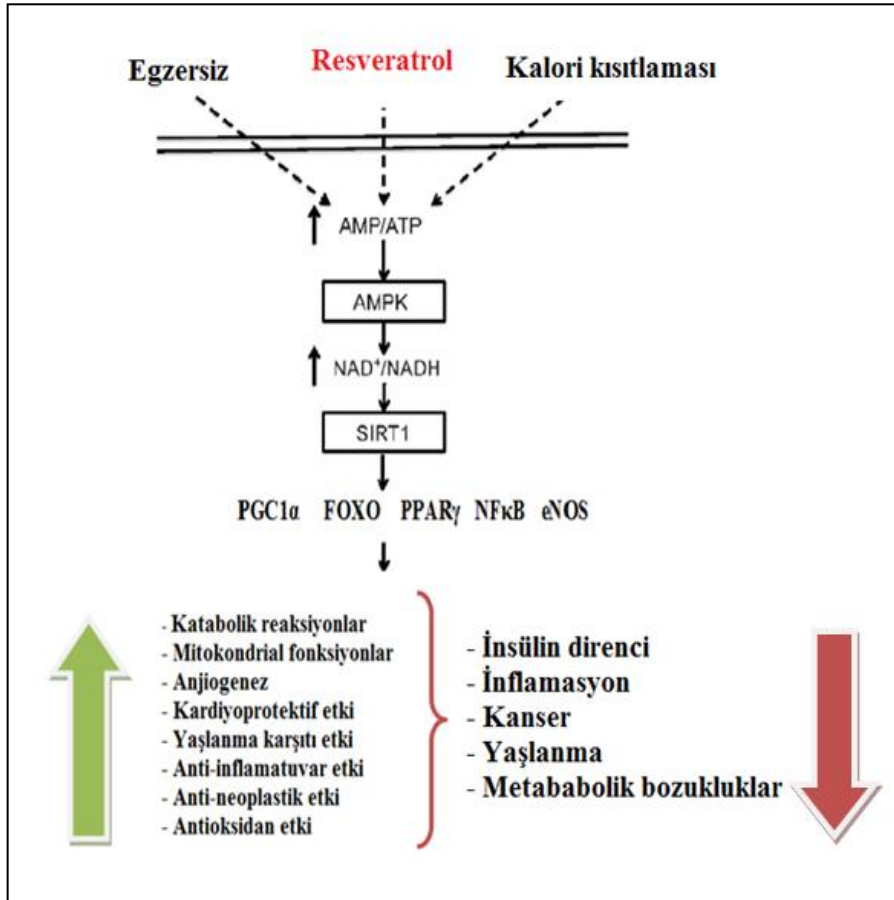
Tablo 2: Doğal gıdalardaki resveratrol miktarları (83).

Resveratrolün hastalıkların tedavisine yönelik olumlu etkilerine karşın, bu etkilerde hangi mekanizmaların rolü olduğu tam olarak bilinmemektedir ve bu yönde yapılan çalışmalar yetersizdir. Resveratrolün çok güçlü bir antioksidan olmadığı saptanmış (16) ve bu nedenle olumlu etkilerini çok daha kompleks biyolojik cevapları düzenleyerek gösterebileceği ileri sürülmüştür (Şekil 9).



Şekil 9: Resveratrolün biyolojik etkileri

Son yıllardaki çalışmalar resveratrolün protein deasetilaz sirtuin 1 (SIRT 1) geninin aktivatörü olduğunu belirlemiştir (Şekil 10) (73,84,112). Bu genin ürünü SIRT 1, hedef genlerin ekspresyonunu değiştirerek etkili olan anti-inflamatuvar ve anti-proliferatif etkili bir proteindir. “Silent information regulator genes (SIR)” olarak adlandırılan bu gen ailesi 7 sirtuin geninden oluşmuştur (SIRT 1 – SIRT 7) ve çeşitli dokularda eksprese olurlar. Bu genler spesifik NAD^+ -bağımlı deasetilaz enzimlerini kodlar (13). Sirtuinler nukleusda (SIRT - 1,-2,-6,-7), sitoplazmada (SIRT-1,-2) ve mitokondride (SIRT-3,-4,-5) bulunurlar (13). Vasküler sistemde en fazla eksprese olan SIRT-1’in anjiogenik aktiviteyi arttırdığı gösterilmiştir (9,13). SIRT 1’in eNOS’u deasetile ederek aktiflediği ve NO oluşumunu arttırdığı bildirilmiştir (6,69). SIRT 1 ile resveratrol etkileşimini araştıran bir çalışmada resveratrolün anjiotensin tip I reseptörünü modüle ederek anti-hipertansif etki gösterdiği, bu etkide resveratrolün SIRT 1 ekspresyonunu arttırmasının rolü olduğu bildirilmiştir (74). Bunun yanı sıra resveratrol ile artan nukleer SIRT 1’in kardiyomiyositlerde hücre ölümünü baskılayan antioksidan enzim süperoksit dismutazı indüklediği saptanmıştır (75).



Şekil 10. SIRT 1 aktivatörleri ve etki mekanizmaları

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereçler

1. HPLC cihazı (Waters, USA)
2. HPLC kolonu (Waters, USA)
3. HPLC vakum cihazı (Millipore, USA)
4. Hassas terazi (Scaltec, Germany)
5. Manyetik karıştırıcı (IKA Labortechnik RH Basic, USA)
6. Mikrotüp santrifüjü (Hettich, Germany)
7. Otomatik pipet (Eppendorf, USA)
8. pHmetre (Hanna Instruments, Portugal)
9. Santrifüj (Heraeus, Germany)
10. Spektrofotometre (Pharmaco Biotech, UK)
11. Vorteks karıştırıcı (IKA Work Inc. Minishaker, USA)
12. ELISA plak yıkayıcı (ESW 300 Medispec, US)
13. ELISA plak çalkalayıcı (IKA-Werke, USA)
14. ELISA plak okuyucu (Biotech, UK)
15. Sıcak su banyosu (Elektro-mag, USA)
16. Saf su cihazı (Millipore, USA)
17. Jaketli tip (çift cidarlı) izole organ banyoları (10 mL'lik)
18. "Gerim İleticisi" izometrik transdüser (WPI Fort 10)
19. Termostatlı sirkülasyonlu su banyosu
20. %95 O₂ + %5 CO₂ içeren gaz karışım tüpü
21. Paslanmaz çelikten L-şeklindeki doku tutucuları
22. "ADInstruments Powerlab Chart5 for Windows" yazılım programı
23. "GraphPad Prism 5" yazılım programı

3.2. Çalışma Protokolü

Bu çalışmada İ.Ü. Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan 250-300 g ağırlığında Wistar cinsi erişkin erkek sıçanlar kullanıldı ve 4 ana gruba ayrıldı.

- 1. Kontrol grubu:** Standart pellet sıçan yemi ve normal içme suyu verildi. Standart pellet sıçan yeminin bileşimi %10 nem, %16.5 protein, %50.9 selüloz, %6 kül, %3.5 yağ, %3.5 mineral ve %1 vitamin karışımından oluşmaktadır. Metabolik enerjisi ise 2600 kcal/kg'dır.
- 2. Resveratrol grubu (RES):** Resveratrol (50 mg/L) sıçanların içme suyuna eklendi.
- 3. Früktoz grubu (FR):** D-Früktoz (%30, w/v) içme suyuna eklendi.
- 4. Früktoz + Resveratrol grubu (FR+RES):** Resveratrol (50 mg/L) ve früktoz (%30, w/v) içme suyuna eklendi.

Bu uygulamalar 8 hafta sürdürüldü. Bu zaman diliminde hayvanların içtikleri su miktarları günlük, yedikleri yem ve vücut ağırlıkları ise haftalık takip edildi. Süre bitiminde bir gece aç bırakılan sıçanlara sodyum pentotal (50mg/kg- i.p.) anestezisi yapıldı. Kalplerinden kuru tüp ve Na-EDTA içeren tüplere kanları alınarak hipovolemiye bağlı yaşamlarının sonlandırılması sağlandı. Aortaları vasküler yanıtlarının incelenmesi için hızlıca alındı.

Kan örnekleri 1200 x g'de santrifüj edilerek ayrılan plazma ve serumlar glikoz, total kolesterol, HDL-C, LDL-C ve TG düzeyleri ile alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), kan üre azotu (BUN), kreatinin ve total protein tayinleri için aynı gün kullanıldı. Kalan serum ve plazmalar daha sonra insülin, MGO, ADMA, SDMA, L-arginin ölçümlerinin yapılması için ependorflara ayrılarak, -80° C'de çalışma gününe kadar muhafaza edildi.

3.3. Serum ve/veya plazmada yapılan incelemeler

3.3.1. Glikoz, total kolesterol, HDL-C, LDL-C, TG, BUN, kreatinin ve total protein düzeyleri ile ALT, AST aktiviteleri: Serumda Roche (Mannheim, Almanya) firmasına ait modüler sistemde spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü.

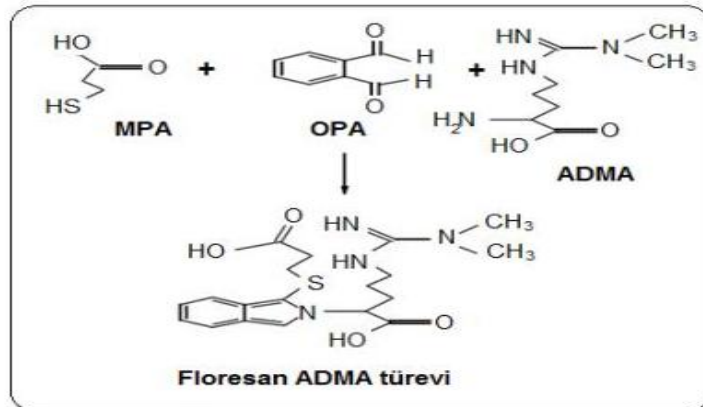
3.3.2. İnsülin düzeyleri: Serumda insülin düzeyleri sandviç ELISA (enzym-linked immunosorbent assay) yöntemi ile tayin edildi. (Rat insulin, Bio-Medical Assay, BeiJing, China)

3.3.3. HOMA indeksi: Aşağıda belirtilen formül ile hesaplandı.

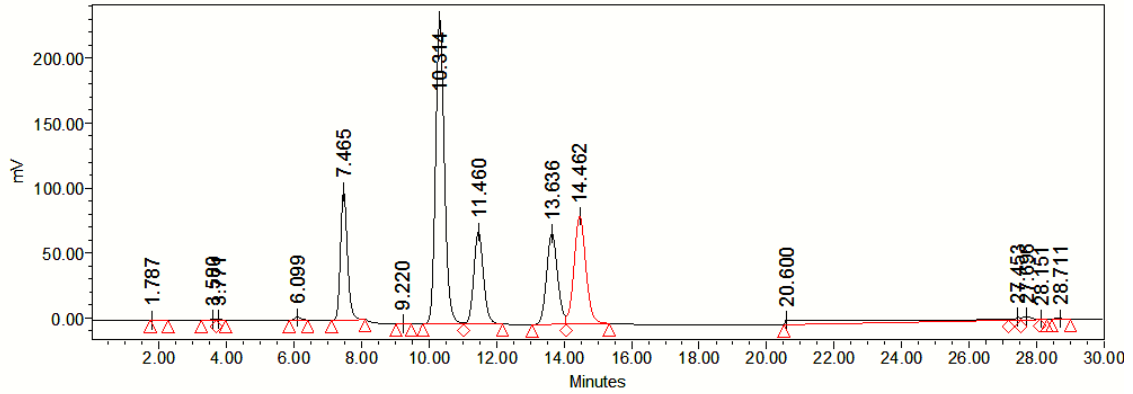
$$\text{HOMA} = [\text{Açlık insülini (}\mu\text{U/mL)} \times \text{açlık plazma glikozu (mg/dL)}] / 405$$

3.3.4. MG düzeyleri: Plazmada MG düzeyleri sandviç ELISA yöntemi ile tayin edildi (Rat AMA kit, Novateinbio, Massachusetts, USA).

3.3.5. ADMA, SDMA ve L-arginin tayinleri (101): Tiyol grubu içeren merkaptopropiyonik asit varlığında, L-arginin ve metil türevlerinin orto-ftalaldehit ile fluorojenik türevlerini oluşturmasına, bunların HPLC’de separasyonuna ve fluoresans dedektörde saptanması prensibine dayanır (Şekil 11). Bu amaçla EDTA’lı plazma örneği kullanıldı. 0.2 ml plazma veya 0.2 ml çalışma standardına (100 μM L-arginin, 10 μM homoarginin, ADMA, SDMA) 0.1 ml internal standart (100 μM mono-metilarginin) eklendi. Bazık özellikteki L-arginin ve metilenmiş türevleri; solid faz ekstraksiyonu ile ekstre edildi. Orto-ftalaldehit ayırıcı (%5) ile fluoresan türevlerine dönüştürüldü ve HPLC kolonuna (Symmetry C18 column, 3.9 x 150 mm, 5- μm particle size) yüklendi. Metod protokolunda belirtilen gradyen elüsyonu ile 30 dakika süreyle kromatografik separasyonları sağlandı (mobil faz A: 50 mM potasyum fosfat tamponu, pH: 6.5, mobil faz B: H_2O ve asetonitril karışımı (50/50); akış hızı: 1.1 ml/dakika). Eksitasyon dalga boyu: 340 nm ve emisyon dalga boyu: 455 nm’de dedekte edilen fluoresan yoğunlukları, kromogramda pikler şeklinde görünür kılınıp ve pik alanları standartlara ait pik alanları ile kıyaslanarak miktarları hesaplandı. Standartlara ait kromotogram Şekil 12’de gösterilmektedir.



Şekil 11: ADMA’nın fluoresan türevinin oluşumu.



Şekil 12: Standartlara ait kromatogram.

Retansiyon zamanları; L-arginin: 7,46. dk, internal standart: 10,31. dk,
ADMA: 13,63. dk ve SDMA: 14,46. dk

3.4. Aortada vasküler yanıtın incelenmesi:

Kan alma işleminden sonra hipovolemiye bağlı olarak ölümü gerçekleştiren sıçanların torasik aortaları özenle izole edildi. İzole aorta çevre dokulardan dikkatlice temizlenip 2-3 mm'lik halkalar haline getirildi ve L-şeklindeki paslanmaz çelik tutuculara geçirildi. Her doku örneğinden 2 preparat hazırlandı. Hazırlanan izole aort preparatları 37°C'deki ve %5 CO₂ + %95 O₂ ile havalandırılan izole organ banyosuna takıldı. Tutucuların bir ucu organ banyosu içerisinde bulunan kancaya diğer ucu ise transdüserin ucuna takılarak yerleştirildi. Daha sonra dokular optimum olduğu belirlenen 1 g'lık ön gerim altında 1.5 saat dengelenmeye bırakıldı. Dengelenme süresince banyo çözeltisi her 15 dakikada bir değiştirildi. Bu sürenin sonunda preparatlar potasyum klorür (KCl) (40 mM) ile 20'şer dakika ara ile iki defa kastırılarak standardize edildi. 1 gramın altında kasılan dokular deney dışı bırakıldı.

Dengelenme süreleri sonunda deneye alınan dokuların öncelikle endotel fonksiyonu test edildi. Bu amaçla dokular α -agonisti olan fenilefrin (Phe) ile submaksimal (\approx %70) olarak kastırıldı ve kasılma yanıtı platoya ulaştıktan sonra endotel bağımlı gevşetici bir ajan olan asetilkolin (ACh, 10^{-8} - 10^{-4} M) artan konsantrasyonlarda kümülatif olarak uygulandı. Prekontraksiyonda kullanılan fenilefrin konsantrasyonları 10^{-6} M'dır. Dokuların endotel fonksiyonu ACh'nin konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi üzerinden değerlendirilirken vasküler reaktiviteleri fenilefrin (10^{-8} - 10^{-4} M) ve KCl (20-120 mM)'nin konsantrasyon bağımlı kastırıcı etkileri incelenerek belirlendi. Ayrıca, dokuların düz kas gevşeme kapasitesi endotelden bağımsız gevşetici bir ajan olan sodyum nitroprussiyat (SNP) ile test edildi.

SNP'nin (10^{-8} - 10^{-4} M) gevşetici etkisi yine fenilefrin (10^{-6} M) ile prekontrakte dokularda değerlendirildi (97,102).

Bir grup deneyde ise metilglioksal'ın vasküler yanıtlar üzerine direkt etkisi araştırılmıştır. Metilglioksalın endotel fonksiyonu ve vasküler reaktivite üzerindeki etkisini incelemek amacıyla bazı dokularda metilglioksal varlığında (400 μ M, 30 dak.) fenilefrin, KCl ve ACh'in konsantrasyon bağımlı etkileri incelenmiştir (76). KCl'nin kastırıcı etkisi "gram kasılma" üzerinden, fenilefrinin kastırıcı etkisi ise KCl'ye göre "% kasılma" ve "gram kasılma" üzerinden değerlendirilmiştir. "% kasılma" değerinin belirlenebilmesi için 40mM KCl'nin o dokuda oluşturduğu kasılma cevabı "%100" olarak alınmış ve kasılma cevaplarının yüzdesi bu değere göre hesaplanmıştır. "Gram kasılma" değerinin belirlenebilmesi için sistem 5 g ağırlığa karşılık gelen değere göre kalibre edilmiş ve kasılma yanıtları g cinsinden ölçülmüştür.

ACh ve SNP'nin gevşetici etkisi ise fenilefrin prekontraksiyonunda oluşan azalmaya göre belirlenmiş ve "% gevşeme" olarak ifade edilmiştir. "% gevşeme" değerinin belirlenmesi için kontraktıl ajanın oluşturduğu prekontraksiyon %100 olarak alınmış ve gevşetici ajanın etkisiyle prekontraksiyonda oluşan azalmaların yüzdesi bu değere göre hesaplanmıştır.

Uygulanan kastırıcı veya gevşetici ajanın oluşturduğu maksimum gevşeme veya kasılma cevabı E_{maks} olarak ifade edilmiştir. Kasılma veya gevşeme yönünde etki gösteren maddelerin pD_2 değerleri ise EC_{50} 'nin (maksimum kasılma ve gevşemenin %50'sini oluşturan agonist konsantrasyonu) (-) logaritmasını göstermektedir. Deneylerdeki "n" sayısı izole sıçan aortası sayısını göstermektedir.

3.5. Karaciğerde histopatolojik incelemeler

Karaciğer örnekleri % 10'luk formalin çözeltisinde saklandı. Standart doku takip işlemlerinden geçirildikten sonra parafin bloklara gömülerek kesitler alındı ve hematoksil-eozin (H&E) ve oil-red ile boyanarak ışık mikroskopisi ile değerlendirildi.

3.6. İstatistik incelemeler

Sonuçlar ortalama \pm SE olarak değerlendirildi. Parametrelerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Gruplar arası karşılaştırmalar; normal dağılım gösteren değişkenlerde one-way ANOVA testi ve post-hoc Tukey testleri, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde Kruskal-Wallis ve post-hoc Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı; $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1.Yem/su tüketimi ve total kalori alımındaki değişiklikler

Çalışmamızda FR grubundaki sıçanların günlük su alımı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik göstermediği halde, yem tüketiminde yaklaşık %50 civarında bir azalma gözlemlendi. Total kalori alımı hesaplandığında, FR grubunda total kalori alımının %46 oranında azaldığı bulundu. Buna karşılık belirtilen parametrelerden sadece yem tüketiminin FR grubuna göre FR+RES grubunda anlamlı bir artış gösterdiği belirlendi (Tablo 3).

4.2. Vücut ağırlığı ve karaciğer ağırlığındaki değişiklikler

Çalışmamızda 8. haftanın sonunda kontrol grubunun ağırlığı başlangıça göre yaklaşık % 24, RES grubunda ise % 38 oranında arttı. FR ve FR+RES grubunda bu oranlar sırasıyla yaklaşık % 15 ve %22 oranındadır. FR+RES grubunda 8 hafta sonunda kilo alımının FR grubuna göre anlamlı arttığı bulundu.

Karaciğer (KC) ağırlığı ve KC indeksi ise FR ve FR+RES grubunda kontrol ve RES grubuna göre anlamlı artış göstermiştir. Ancak FR ve FR+RES grubu arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (Tablo 3).

4.3. Biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler

8 hafta süreyle içme suyuna (50 mg/L) resveratrol eklenen normal sıçanlarda (RES grubu) serum/plazmada ölçülen tüm parametrelerde (L-arginin hariç) kontrol grubuna göre bir değişiklik bulunmadı (Tablo 4-6).

4.3.1. İnsülin direnci ve lipit profili ile ilgili bulgular

FR grubunda serum glikoz düzeyleri anlamlı bir artış gösterdi. İnsülin düzeylerinin ve insülin direncinin bir göstergesi olan HOMA değerlerinin arttığı saptandı. FR grubunda trigliserit düzeylerinde anlamlı bir artış saptanırken, total kolesterol, HDL-C ve LDL-C düzeylerinin azaldığı bulundu (Tablo4).

FR+ RES grubu FR grubu ile karşılaştırıldığında, glikoz ve insülin düzeyleri ile HOMA indeksinin değişmediği görüldü. Benzer şekilde resveratrol uygulaması früktoza bağlı olarak serum lipit profilinde görülen değişiklikleri de etkilemedi (Tablo 4).

4.3.2. Serumda karaciğer ve böbrek fonksiyonu ile ilgili bulgular

Serum AST ve ALT aktivitelerinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında FR grubundaki sıçanlarda ılımlı bir artış gösterdiği, ancak bu artışların istatistik olarak anlamlı olmadığı saptandı. Buna karşılık, total protein ve BUN düzeylerinde anlamlı bir azalma saptanırken, kreatinin düzeylerinde bir değişiklik bulunmadı. FR+RES grubundaki sıçanlarda elde edilen bulgular FR grubu ile karşılaştırıldığında, AST ve ALT aktivitelerinde istatistik olarak anlamlı olmayan azalmalar gözlemlendi. FR+RES grubundaki sıçanlarda serum BUN ve kreatinin düzeylerinin değişmediği, total protein düzeylerinin ise arttığı bulundu (Tablo 5).

4.3.3. MG ve NO biyoyararlanım göstergeleri

FR grubundaki sıçanların plazma MG, ADMA ve SDMA düzeylerinde kontrol grubuna göre bir farklılık bulunmadı. Buna karşılık FR grubunda plazma L-arginin düzeyleri ile NO biyoyararlanımının bir göstergesi olan arginin/ADMA oranının azaldığı saptandı. Resveratrol, früktoz uygulanan sıçanlarda MG, ADMA ve SDMA düzeylerinde bir değişiklik oluşturmadı. Buna karşılık plazma L-arginin düzeylerinde ve arginin/ADMA oranında ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış oluşturdu (Tablo 6).

Tablo 3. Resveratrol (RES), früktoz (FR) ve früktoz+resveratrol (FR+RES) gruplarındaki sıçanların başlangıç ve bitiş vücut ağırlıkları, karaciğer (KC) ağırlıkları, KC indeksi, yem/su tüketimleri ve total kalori miktarları (Ortalama±SE).

	KONTROL (n=11)	RES (n=8)	FR (n=12)	FR+RES (n=11)
Başlangıç vücut ağırlığı (g)	236.3±3.59	233.3±9.12	247.1±4.59	237.0±3.77
Bitiş vücut ağırlığı (g)	290.1±7.90	323.7±10.7 ^a	287.4±7.77	291.3±7.33
Kilo Alımı (g/8 hafta)	57.4±7.81	90.5±14.4 ^a	37.1±5.95	54.3±6.12 ^b
KC ağırlığı (g)	7.51±0.47	7.50±0.34	9.55±0.45 ^a	10.3±0.24 ^a
KC indeksi	2.61±0.12	2.39±0.14	3.32±0.12 ^a	3.55±0.10 ^a
Yem Tüketimi (g/gün/hayvan)	18.7±0.60	19.1±0.57	9.25±0.61 ^a	9.90±0.30 ^{a,b}
Su Tüketimi (ml/gün/hayvan)	4.19±0.22	4.84±0.32	3.77±0.21	3.63±0.09 ^a
Total Kalori Alımı (kcal/gün/hayvan)	46.2±1.24	47.8±1.31	24.9±1.36 ^a	26.1±0.63 ^a

Karaciğer indeksi= (karaciğer ağırlığı/ bitiş vücut ağırlığı)x100

a p<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında;

b p<0.05 FR grubu ile karşılaştırıldığında.

Tablo 4. Resveratrol (RES), früktoz (FR) ve früktoz+resveratrol (FR+RES) gruplarında sıçanların serum glikoz, insülin, trigliserit, total kolesterol, HDL-C, LDL-C düzeyleri ve HOMA indeksi (Ortalama±SE).

	KONTROL (n=11)	RES (n=8)	FR (n=12)	FR+RES (n=11)
Glikoz (mg/dL)	118.0±4.28	109.2±3.55	156.0±6.64 ^a	167.7±5.62 ^a
İnsülin (µU/mL)	7.63±0.27	7.34±0.23	8.49±0.20 ^a	8.04±0.32
HOMA indeksi	2.21±0.08	1.97±0.06	3.25±0.11 ^a	3.33±0.17 ^a
Trigliserit (md/dL)	45.8±2.59	66.6±5.51	94.1±8.00 ^a	122.8±12.8 ^a
Total Kolesterol (mg/dL)	63.0±3.80	65.2±3.64	54.0±2.92 ^a	62.3±2.62
HDL-C (mg/dL)	44.2±3.14	43.3±3.11	29.5±1.73 ^a	27.7±1.73 ^a
LDL-C (mg/dL)	10.7±1.11	8.63±1.12	6.42±0.92 ^a	4.55±0.72 ^a

HOMA indeksi= [Açlık insülini (µU/mL) x açlık plazma glikozu (mg/dL)] / 405

^a p<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında;

Tablo 5. Resveratrol (RES), früktoz (FR) ve früktoz+resveratrol (FR+RES) gruplarında sıçanların serum AST ve ALT aktiviteleri, BUN, kreatinin ve total protein düzeyleri (Ortalama±SE).

	KONTROL (n=11)	RES (n=8)	FR (n=12)	FR+RES (n=11)
AST (U/L)	125.3±9.14	119.9±6.54	146.7±11.4	121.5±12.6
ALT (U/L)	40.8±2.49	39.1±2.47	48.8±3.55	38.9±1.38
BUN (mg/dL)	22.5±1.00	20.9±0.92	8.83±0.81 ^a	9.45±0.58 ^a
Kreatinin (mg/dL)	0.50±0.02	0.56±0.02	0.49±0.01	0.47±0.01 ^a
Total Protein (g/dL)	6.13±0.15	6.20±0.08	5.92±0.06	6.20±0.07 ^b

^a p<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında;

^b p<0.05 FR grubu ile karşılaştırıldığında.

Tablo 6. Resveratrol (RES), früktoz (FR) ve früktoz+resveratrol (FR+RES) gruplarında sıçanların plazma metilglioksal (MG), L-Arginin, asimetrik dimetilarginin (ADMA) ve simetrik dimetilarginin (SDMA) düzeyleri ile L-arginin/ADMA oranları (Ortalama±SE).

	KONTROL (n=11)	RES (n=8)	FR (n=12)	FR+RES (n=11)
MG (ng/mL)	1.54±0.33	1.55±0.22	1.55±0.17	1.71±0.26
L-Arginin (µM)	130.0±5.70	112.0±5.09 ^a	79.4±5.46 ^a	95.2±3.92 ^{a,b}
ADMA (µM)	0.83±0.04	0.79±0.04	0.86±0.04	0.83±0.02
SDMA (µM)	0.32±0.02	0.34±0.01	0.33±0.01	0.33±0.01
L-arginin/ADMA	160.0±9.86	142.0±4.00	93.9±7.10 ^a	112.8±4.73 ^{a,b}

^a p<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında;

^b p<0.05 FR grubu ile karşılaştırıldığında.

4.4. Vasküler yanıtta değişiklikler

4.4.1. Yüksek dozda früktoz uygulanan sıçanlarda resveratrolün damar endotel fonksiyonu üzerine etkisi

Fenilefrin ($10^{-6}M$) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan aorta halkalarında artan konsantrasyonlarda uygulanan ACh (10^{-8} - $10^{-4}M$) endotel bağımlı gevşetici etkiye neden olmaktadır.

Fenilefrin ile oluşturulan prekontraksiyon değerleri ile prekontrakte edilmiş bu dokularda ACh'nin oluşturduğu maksimum gevşetici etki ve pD_2 değerleri Tablo 7'de verilmiştir. Fenilefrin ile oluşturulan prekontraksiyon düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermemektedir. Buna karşılık, FR grubunda prekontrakte dokularda ACh'ye bağılı gevşeme yanıtlarında ve pD_2 değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Früktoz ile birlikte resveratrol uygulanması FR grubunda azalmış olan ACh'ye bağılı gevşeme yanıtlarını ve pD_2 değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırmış ve kontrol düzeylerine getirmiştir (Tablo 7, Şekil 13).

4.4.2. Yüksek dozda früktoz uygulanan sıçanlarda resveratrolün damar düz kas gevşeme yanıtı üzerine etkisi

Dokuların düz kas gevşeme kapasitesi endotelden bağımsız gevşetici bir ajan olan SNP ile test edilmiştir. Fenilefrin ($10^{-6}M$) ile prekontrakte edilmiş ve prekontraksiyon düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Bu izole sıçan aorta halkalarında SNP (10^{-8} - $10^{-4}M$) uygulanması konsantrasyon bağımlı gevşetici etkiye neden olmuştur. Ancak gruplar arasında SNP'ye bağılı maksimum gevşeme yanıtlarında ve pD_2 değerlerinde anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Tablo 8, Şekil 14).

4.4.3. Yüksek dozda früktoz uygulanan sıçanlarda resveratrolün damarın kasılma yanıtı üzerine etkisi

4.4.3.1. Yüksek dozda früktoz uygulanan sıçanlarda resveratrolün KCl'nin oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları üzerine etkisi

KCl (20-120mM) izole sıçan aortasında konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtı oluşturmuştur. Gruplar arasında KCl'nin oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları ve pD_2 değerleri anlamlı bir değişiklik göstermemiştir (Tablo 9, Şekil 15).

4.4.3.2. Yüksek dozda früktoz uygulanan sıçanlarda resveratrolün fenilefrinin oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları üzerine etkisi

Fenilefrin (10^{-8} - 10^{-4} M) izole sıçan aortasında konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtı oluşturmuştur. FR grubunda fenilefrinin konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artma gözlenmiştir. Früktoz ile birlikte resveratrol uygulanması ise FR grubunda artmış olan fenilefrine bağımlı kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmıştır (Şekil 16A-B). Fenilefrinin oluşturduğu maksimum kasılma yanıtları ve pD_2 değerleri Tablo 10'de verilmiştir.

4.4.4. Aorta kesitlerinde metilglioksal ile yapılan invitro deneylerin sonuçları

4.4.4.1. İzole edilen aorta kesitlerinde metilglioksal inkübasyonunun endotel fonksiyonu üzerine etkisi

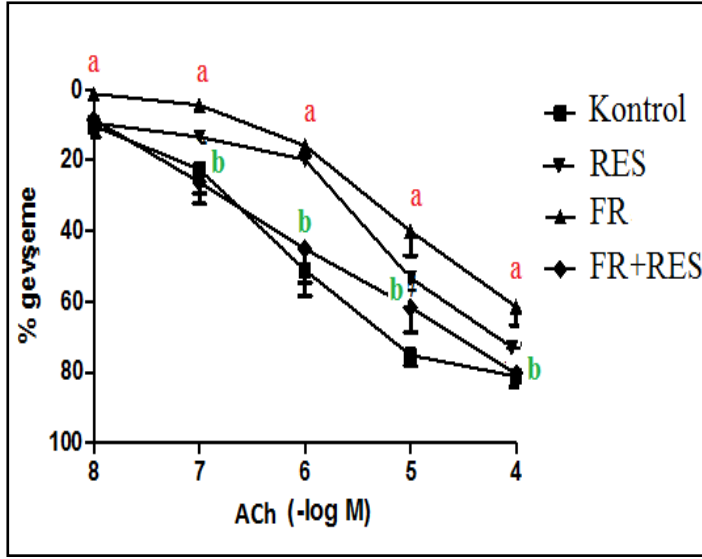
MG endotel fonksiyonu üzerindeki etkisini incelemek amacıyla aorta kesitlerinde metilglioksal varlığında ($400\mu\text{M}$, 30 dk) ACh'in konsantrasyon bağımlı gevşetici etkileri incelenmiştir. MG ile inkübasyon ACh'e bağımlı maksimum gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olmuştur (Tablo 11).

4.4.4.2. İzole sıçan aortalarında metilglioksal inkübasyonunun KCI'nin oluşturduğu kasılma yanıtları üzerine etkisi

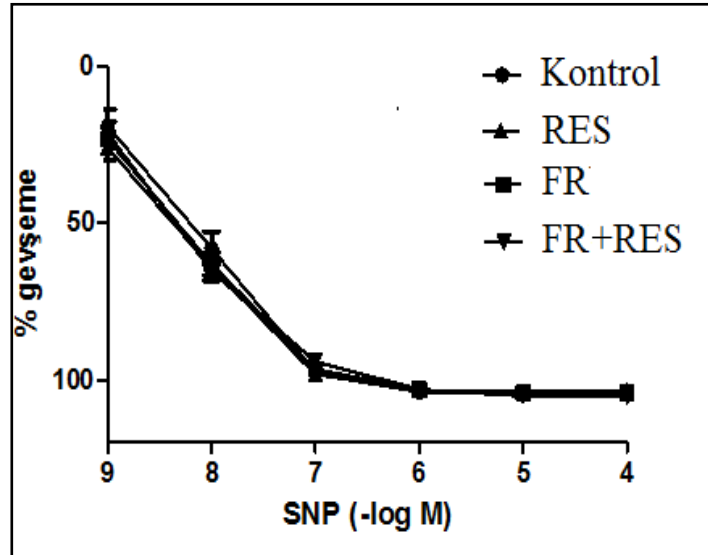
MG ($400\mu\text{M}$, 30 dk) ile inkübasyon KCI'e bağımlı maksimum kasılma yanıtında ve pD_2 değerlerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Tablo 12).

4.4.4.3. İzole sıçan aortalarında metilglioksal inkübasyonunun fenilefrinin oluşturduğu kasılma yanıtları üzerine etkisi

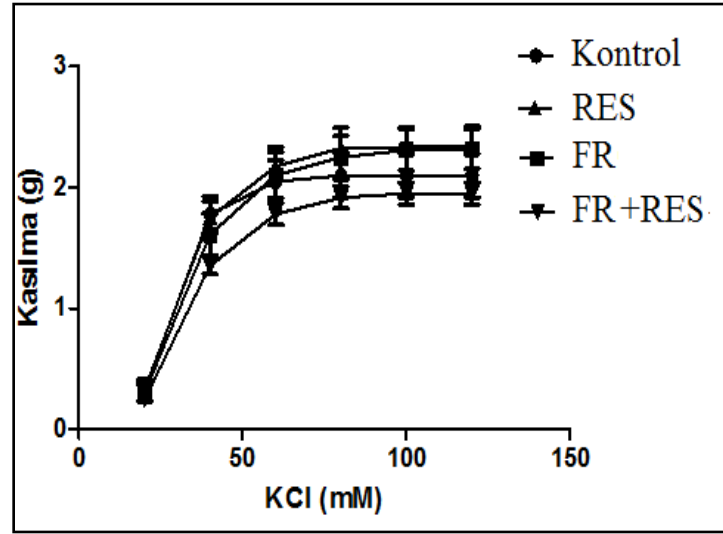
MG fenilefrin kasılma yanıtları üzerindeki etkisini incelemek amacıyla aorta kesitlerinde MG varlığında ($400\mu\text{M}$, 30 dk) fenilefrinin konsantrasyon bağımlı etkileri incelenmiş ve MG inkübasyonu fenilefrine bağımlı maksimum kasılma yanıtlarında anlamlı bir artışa neden olmuştur. (Tablo 13).



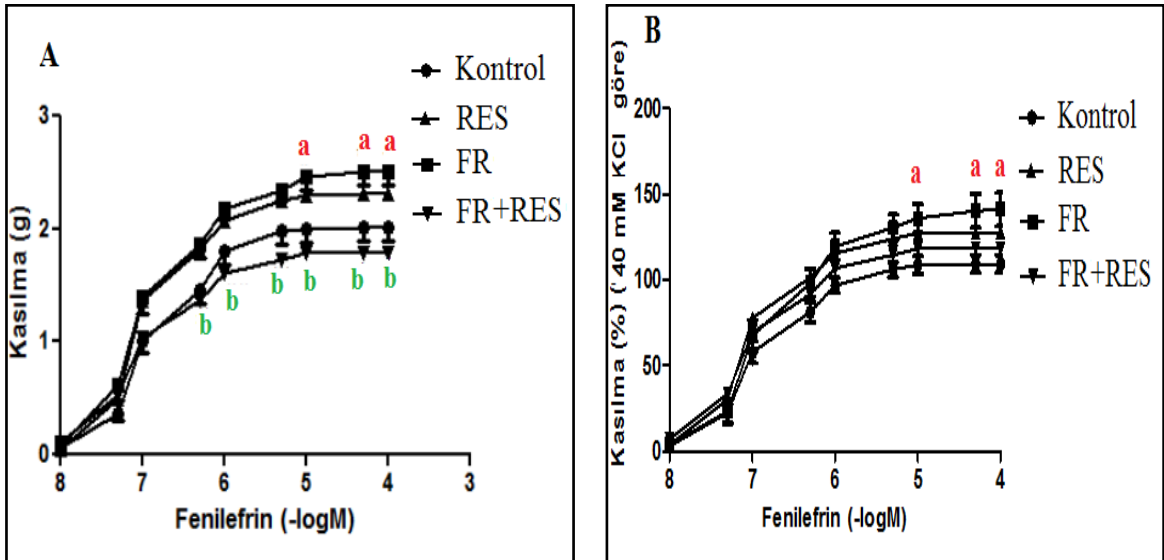
Şekil 13: Yüksek dozda früktoz uygulanan sıçanlarda resveratrolün asetilkolinin (ACh) konsantrasyon-cevap eğrisi üzerindeki etkisi
(**a** $p < 0.05$ kontrol grubu, **b** $p < 0.05$ FR grubu ile karşılaştırıldığında)



Şekil 14: Yüksek dozda früktoz uygulanan sıçanlarda resveratrolün sodyum nitroprussiyatın (SNP) konsantrasyon-cevap eğrisi üzerindeki etkisi



Şekil 15: Yüksek dozda früktoz uygulanan sıçanlarda resveratrolün potasyum klorürün (KCl) konsantrasyon-cevap eğrisi üzerindeki etkisi



Şekil 16: Yüksek dozda früktoz uygulanan sıçanlarda resveratrolün fenilefrinin (Phe) konsantrasyon-cevap eğrisi üzerindeki etkisi

A. Gram kasılma değerleri

B. % kasılma: 40 mM KCl'nin dokuda oluşturduğu kasılma cevabı "%100" olarak alınmış ve kasılma cevaplarının yüzdesi bu değere göre hesaplanmıştır.

(**a** $p < 0.05$ kontrol grubu, **b** $p < 0.05$ FR grubu ile karşılaştırıldığında)

Tablo 7: Asetilkolinin (ACh) izole sıçan aortasındaki maksimum gevşeme (Emaks) ve pD2 değerleri.

	Prekontraksiyon		Gevşeme	
	Fenilefrin (g)	pD ₂	E _{maks}	n
Kontrol	1.85 ± 0.30	6.31 ± 0.18	81.2 ± 2.74	10
RES	1.96 ± 0.17	5.19 ± 0.14 ^a	73.8 ± 5.39	7
FR	1.92 ± 0.20	5.09 ± 0.17 ^a	61.5 ± 5.17 ^a	12
FR+RES	1.69 ± 0.30	6.06 ± 0.33 ^b	80.4 ± 3.92 ^b	10

Emaks: Prekontraksiyona göre % gevşeme değerlerini göstermektedir.

pD₂: Maksimum gevşeme yanıtının %50'sini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri (-log EC₅₀).

n: İzole sıçan aorta sayısı.

(^a p<0.05 kontrol grubu, ^b p<0.05 FR grubu ile karşılaştırıldığında)

Tablo 8: Sodyum nitroprussiyatın (SNP) izole sıçan aortasındaki maksimum gevşeme (Emaks) ve pD2 değerleri.

	Prekontraksiyon		Gevşeme	
	Fenilefrin (g)	pD ₂	E _{maks}	n
Kontrol	1.95 ± 0.20	8.06 ± 0.06	104.7 ± 1.23	10
RES	1.92 ± 0.22	8.08 ± 0.05	103.6 ± 0.45	8
FR	1.82 ± 0.16	8.09 ± 0.06	104.2 ± 1.02	12
FR+RES	1.79 ± 0.23	8.12 ± 0.08	105.4 ± 1.50	11

Emaks: Prekontraksiyona göre % gevşeme değerlerini göstermektedir.

pD₂: Maksimum gevşeme yanıtının %50'sini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri (-log EC₅₀).

n: İzole sıçan aorta sayısı.

Tablo 9: Potasyum klorürün (KCl) izole sıçan aortasındaki maksimum kasılma (Emaks) ve pD₂ değerleri

	Emaks (g)	pD ₂	n
Kontrol	2.10±0.18	39.3±0.05	8
RES	2.33±0.16	39.6±0.04	6
FR	2.32±0.16	39.7±0.06	9
FR+RES	1.95±0.09	39.7±0.04	10

Emaks: Maksimum kasılma yanıtını “g” cinsinden göstermektedir.

pD₂: Maksimum kasılma yanıtının %50’sini oluşturan konsantrasyonun mM cinsinden değeri (-log EC₅₀).

n: İzole sıçan aorta sayısı.

Tablo 10: Fenilefrinin (Phe) izole sıçan aortasındaki maksimum kasılma (Emaks) ve pD₂ değerleri

	Emaks (g)	Emaks (%)	pD ₂	n
Kontrol	2.01±0.12	109.3±5.28	6.90±0.07	9
RES	2.30±0.12	127.5±6.61	7.11±0.10	7
FR	2.50±0.11 ^a	141.0±9.74 ^a	7.03±0.12	9
FR+RES	1.78±0.10 ^b	118.4±6.65	7.05±0.10	11

Emaks: Maksimum kasılma yanıtının “g” cinsinden değeri ve % KCl 40 mM cinsinden değeri.

pD₂: Maksimum kasılma yanıtının %50’sini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri (-logEC₅₀).

n: İzole sıçan aorta sayısı.

(^a p<0.05 kontrol grubu, ^b p<0.05 FR grubu ile karşılaştırıldığında)

Tablo 11: Metilglioksal (400 μ M, 30 dk.) inkübasyonunun izole sıçan aortasındaki asetilkolinin (ACh) oluşturduğu maksimum gevşeme (Emaks) ve pD₂ değerleri üzerine etkisi

	Prekontraksiyon		Gevşeme	
	Fenilefrin (g)	pD ₂	E _{maks}	n
Kontrol	1.75 \pm 0.25	6.31 \pm 0.18	84.9 \pm 0.06	5
+Metilglioksal	1.95 \pm 0.18	6.32 \pm 0.28	78.3 \pm 3.23 ^a	5

Emaks: Prekontraksiyona göre % gevşeme değerlerini göstermektedir.

pD₂: Maksimum gevşeme yanıtının %50'sini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri (-log EC₅₀).

n: İzole sıçan aorta sayısı.

(**a** p<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

Tablo 12: Metilglioksal (400 μ M, 30 dk.) inkübasyonunun izole sıçan aortasındaki potasyum klorürün (KCl) oluşturduğu maksimum kasılma (Emaks) ve pD₂ değerleri üzerine etkisi

	E _{maks} (g)	pD ₂	n
Kontrol	2.32 \pm 0.28	39.3 \pm 0.11	4
+Metilglioksal	2.38 \pm 0.11	39.6 \pm 0.28	4

Emaks: Maksimum kasılma yanıtını ‘g’ cinsinden göstermektedir.

pD₂: Maksimum kasılma yanıtının %50'sini oluşturan konsantrasyonun mM cinsinden değeri (-log EC₅₀)

n: İzole sıçan aorta sayısı.

Tablo 13: Metilglioksal (400µM, 30 dk.) inkübasyonunun izole sıçan aortasındaki fenilefrinin (Phe) oluşturduğu maksimum kasılma (Emaks) ve pD₂ değerleri üzerine etkisi

	Emaks (g)	Emaks (%)	pD ₂	n
Kontrol	1.81±0.15	109.5±5.43	6.84±0.11	5
+Metilglioksal	2.47± 0.21 ^a	150.9±13.5 ^a	6.68 ± 0.14	5

Emaks: Maksimum kasılma yanıtının “g” cinsinden değeri ve % KCl 40 mM cinsinden değeri.

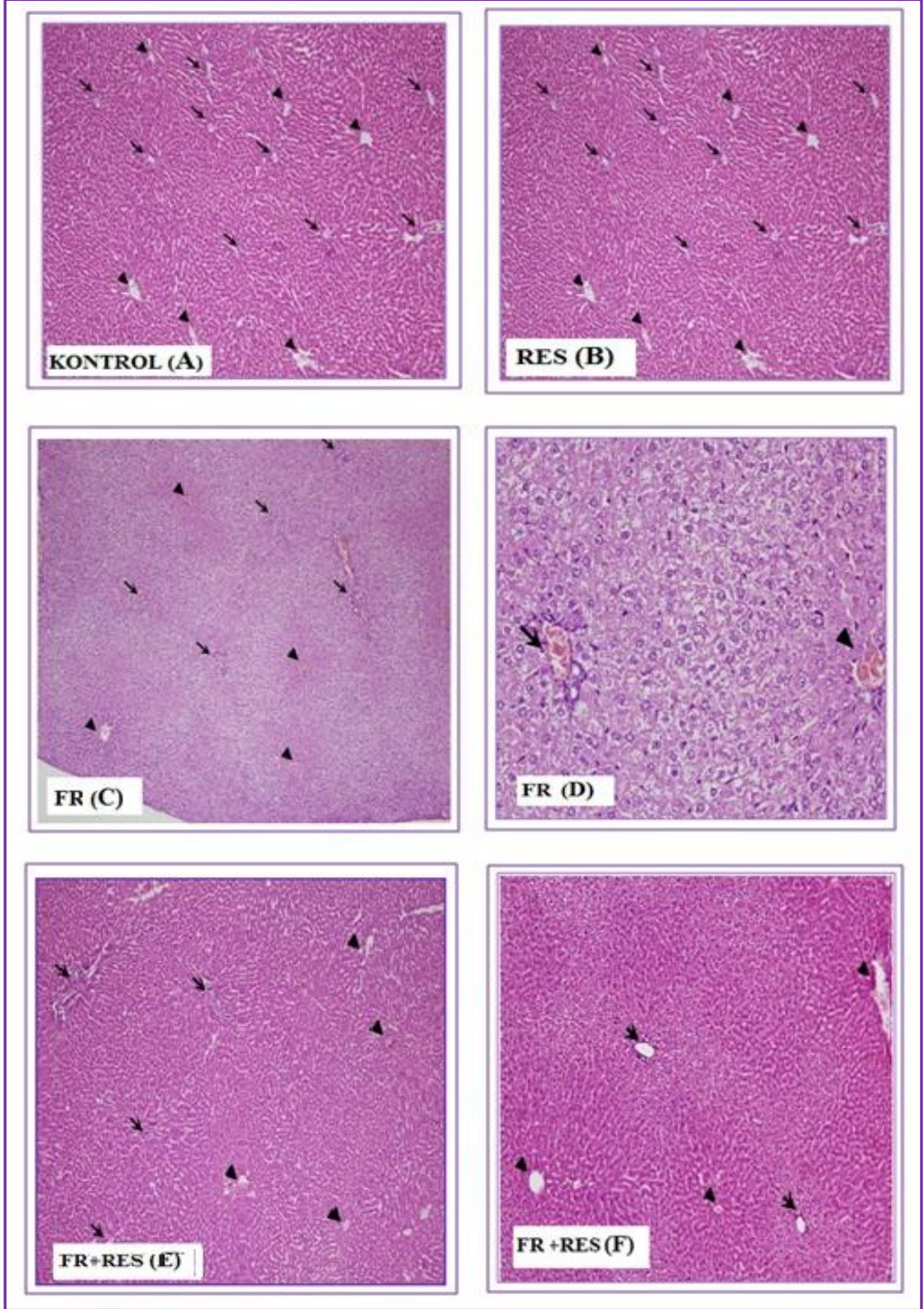
pD₂: Maksimum kasılma yanıtının %50’sini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri (-log EC₅₀)

n: İzole sıçan aorta sayısı.

(^a p<0.05 kontrol ile karşılaştırıldığında)

4.5. Karaciğerdeki histopatolojik bulgular:

Kontrol grubu ve RES grubunda normal karaciğer dokusu gözlemlendi (**Resim 1 A,B**). FR grubundaki sıçanlarda periportal bölgelerde ve çevresindeki hepatositlerde dejeneratif bir görünüm saptandı. Perivenüler alanlardaki hepatositler ise normal yapıya sahipti (**Resim 1 C,D**). FR+RES grubundaki sıçanlarda ise karaciğer dokusu normal histolojik yapısını korumuştur. Sadece periportal bölgelerde hafif derecede hepatositlerde dejeneratif bir görünüm belirlendi (**Resim 1 E,F**).



Resim 1: Resveratrol (RES), früktoz (FR) ve früktoz+resveratrol (FR+RES) gruplarındaki sıçanların karaciğer histopatolojisi (H&E; A,B,C,E 40x; D 200x ve F 100x büyütme; oklar portal bölgeleri, okbaşları santral venülleri göstermektedir).

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Deney hayvanlarına yem veya içme suyu ile yüksek oranda früktoz uygulaması MetS için bir model olarak kullanılmaktadır (3,7,48,68). Früktozun dozuna ve kullanım süresine bağlı olarak glikoz intoleransı, insülin direnci, dislipidemi, hipertansiyon ve karaciğer yağlanması gibi geniş spektrumlu bir tablo oluşmaktadır (3,7,48,68). Bu çalışmalarda früktoz genellikle % 60 oranında diyete (8,48,68) veya % 10-30 oranında içme suyuna (3,7) eklenmektedir. Yüksek früktozlu yem hazırlamanın ülkemiz koşullarında mümkün olmaması ve ithalinin pahalı olması nedeniyle, çalışmamızda içme suyunda früktoz uygulaması yöntemi tercih edilmiştir.

Birçok araştırmacı früktoz uygulamasından sonra serumda glikoz ve insülin düzeylerini, insülin direncini ve lipit profilini incelemişlerdir. Bu çalışmalarda früktozun insülin direncini arttırdığı, serum TG düzeylerinde artış ve HDL-C düzeylerinde ise azalmaya yol açtığı bulunmuştur (3,7). Biz de çalışmamızda früktoz uygulanan sıçanlarda glikoz düzeylerinin, insülin direncinin ve serumda TG düzeylerinin arttığını ve HDL-C düzeylerinin azaldığını saptadık. Ayrıca serumda ALT ve AST aktivitelerinde anlamlı olmayan ılımlı bir artış bulundu. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde ise periportal bir dejenerasyon belirlendi. Karaciğerdeki dejenerasyonun periportal alanda oluşu, dejenerasyonun früktozun karaciğerde metabolize edilmesi sonucu oluşan ürünler tarafından değil, früktozun kendisi tarafından oluştuğunu göstermektedir. Bu bulgularımız, uygulamamızın MetS'nin önemli bir bileşeni olan insülin direncine neden olduğunu açıkça göstermektedir.

Damarların yapı ve fonksiyonlarındaki değişimler MetS'nin oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır (3,7). Yüksek oranda früktoz uygulanan deney hayvanlarında çeşitli organlardaki (68) değişimin yanı sıra damarlardaki (3,7,68) değişimler de incelenmiştir. Bazı araştırmacılar früktozun damarların gevşeme ve kasılma fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilediğini bildirmişlerdir (3,7,68). Bunun nedenleri açıkça bilinmemektedir. Vasküler reaktivitedeki bu bozuklukta oksidatif stres, NO biyoyararlanımındaki bozulma, inflamatuvar sitokin oluşumundaki artış gibi özellikle damarların endotel tabakasını etkileyen bazı faktörler sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca früktozdan oluşan MG'nin de endotel hasarı oluşturmada etkili olduğu ileri sürülmüştür (30,106,115,120). Çalışmamızda bu konuya açıklık getirmek üzere früktoz uyguladığımız sıçanların damarlarında gevşeme ve kasılma fonksiyonlarında bir değişiklik olup olmadığını ve bir değişiklik varsa bunun nedenlerini araştırmak istedik.

Bilindiği gibi, ACh prekontrakte damarlarda gevşetici bir özelliğe sahiptir ve bu etkisini endotel aracılığıyla yapar. NO donörü olan SNP de prekontrakte damarlarda gevşeme yapar, ancak bu etkisi endotelden bağımsızdır. Çalışmamızda früktoz uygulaması SNP tarafından oluşturulan gevşeme cevabında bir değişiklik oluşturmadığı halde, ACh tarafından oluşturulan gevşeme cevabında bir azalmaya neden olmuştur. Bu sonuçlar damarlardaki gevşeme fonksiyonundaki bozulmanın endotel kaynaklı olduğunu açıkça göstermektedir.

Öte yandan, çalışmamızda damarların bir diğer fonksiyonu olan kasılma cevabını araştırmak için damar kesitleri KCl ve α -reseptör agonisti Phe ile uyarıldı. KCl ile yapılan deneyler reseptör aracısız kasılma fonksiyonunu, Phe ile yapılanlar ise α -reseptör aracılı kasılma fonksiyonunu göstermektedir. Sonuçlarımıza göre FR grubundaki sıçanlarda sadece Phe ile uyarılan kasılma cevabında anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur. Bu bulgular früktoz ile oluşturulan insülin direncinin muhtemelen reseptör düzeyinde oluşturduğu bir değişiklik ile reaktivite artışına neden olduğunu göstermektedir.

Yüksek früktoz uygulamasının vasküler reaktivitede oluşturduğu bu değişikliklerde değişik faktörler rol oynayabilir. NO sentez ve biyoyararlanımındaki azalma en etkili faktörlerden biridir (3,7,8,57,72,81,82,115). Bilindiği gibi NO endotelde L-argininden NOS kataliziyle oluşan vazodilatatör, anti-trombotik ve anti-inflamatuvar bir moleküldür. ADMA ise NOS'u inhibe ederek NO oluşumu baskılayan metillenmiş bir L-arginin türevidir. NO oluşumu ADMA düzeylerindeki artıştan etkilendiği gibi NOS'un substratı olan L-arginin düzeylerinden de etkilenir. Bu nedenle, NO oluşumunu değerlendirmede plazmada ADMA düzeyleri yerine L-arginin/ADMA oranının kullanılmasının daha uygun olacağı bildirilmiştir (15).

Yüksek früktoz uygulanan deney hayvanlarında NO'nun rolünü belirlemek isteyen araştırmacılar değişik yöntemler kullanmıştır. Bazı araştırmacılar eNOS ekspresyonu ve aktivitesini (3,72,113,115), NO (8) ve ADMA (57,81,82) düzeylerini ve peroksinitrit oluşumunun bir göstergesi olan nitrotirozin düzeylerini serum/dokularda incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar yüksek früktoz uygulaması nedeniyle gelişen insülin direncine NO sentez ve biyoyararlanımındaki bozulmanın eşik ettiğini göstermiştir. Biz ise çalışmamızda plazmada L-arginin ve ADMA düzeylerini tayin ettik ve L-arginin/ADMA oranlarını hesapladık. FR grubunda plazma L-arginin düzeylerinde belirgin bir azalma bulundu, ancak ADMA düzeyleri değişmedi. Buna karşılık L-arginin/ADMA oranında anlamlı bir azalma saptandı. Bu sonuçlar früktoz uyguladığımız sıçanlarda vasküler reaktivitedeki bozuklukta NO sentez ve biyoyararlanımındaki yetersizliğin etkili olduğunu teyid etmektedir.

Öte yandan, MG'nin endotel hasarında etkili bir molekül olduğu benimsenmektedir. Früktoz uygulanan deney hayvanlarında serum ve dokularda MG düzeyleri ölçülmüş ve bazı araştırmacılar değişmediğini (68), diğerleri ise arttığını (27,115,120) bildirmişlerdir. Dokulardaki MG düzeyleri gliksalaz enzim ekspresyonundaki değişikliğe bağlı olarak bazı farklılıklar göstermektedir (68). Biz ise çalışmamızda früktoz grubunda serum MG düzeylerinde bir farklılık bulamadık. Bunun üzerine MG'nin vasküler reaktivite üzerine etkisini in vitro koşulda değerlendirmek istedik. Bu amaçla kontrol grubundaki sıçanlardan elde edilen damar kesitleri in vitro koşulda MG ile inkübe edildi. Bir çalışmada diyabetik hastalarda plazma MG düzeyi $400\mu\text{M}$ olarak bulunmuştur (59). İzole sıçan aortasında yapılan bir diğer çalışmada ise dokular $420\mu\text{M}$ MG ile 30 dk inkübe edilerek MG'nin vasküler yanıt üzerine etkisi incelenmiştir (76). Bu çalışmalar göz önünde bulundurularak çalışmamızda MG dozu $400\mu\text{M}$ olarak belirlenmiştir. MG uygulamasının damar kesitlerinde ACh ile oluşan endotel aracılı gevşeme yanıtlarını azalttığı, Phe kasılmalarını ise anlamlı düzeyde arttırdığı belirlenmiştir. Bu etki früktoz ile oluşturulan insülin direnci varlığında elde edilen vasküler yanıtlar ile paralellik göstermektedir. Buna göre, früktoz ile oluşan endotel disfonksiyonu ve artan vasküler reaktivitede MG'nin bir rolünün olabileceği düşünülebilir. Bu durumda früktoz uygulanan grupta gözlenen etki MG'nin doku düzeylerinin yükselmesi ile ilişkili olabilir. Bunu destekleyici olarak bir çalışmada früktoz uygulanan sıçanların plazma MG düzeyleri kontrol grubuyla benzer bulunurken, früktoz uygulanan sıçanların adipoz dokularında MG düzeyinin anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (68).

Früktoz uygulanan sıçanlarda insülin direnci, dislipidemi, hipertansiyon, vasküler reaktivite ve karaciğer yağlanması gibi MetS bileşenlerinin azaltılması/engellenmesi amacıyla berberin, genistein, kurkumin...vb. gibi çeşitli antioksidan bileşikler kullanılmış ve bazı olumlu sonuçlar alınmıştır (120). Resveratrol de bu amaçla kullanılan polifenolik bir bileşiktir. Resveratrolün insülin direncini, dislipidemiyi ve oksidatif stresi azalttığı, vasküler reaktivitede bir iyileşme oluşturduğu bildirilmiştir (2,3,7,25). Resveratrolün bu etkisinde antioksidan potansiyelinin önemli bir rol oynadığı ve radikal tutucu etkisinden ziyade protein deasetilaz sirtuin 1 (SIRT 1) geninin aktivatörü olarak etki etmesinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (6,13). Bu genin ürünü SIRT 1, hedef genlerin ekspresyonunu değiştirerek etkili olan anti-inflamatuvar ve anti-proliferatif etkili bir proteindir (13,26).

Resveratrolün vasküler reaktivitenin düzenlenmesinde etkili olan NO sentez ve biyoyararlanımı ile MG düzeyleri üzerine etkisi açık değildir. Çalışmamızda resveratrol 50 mg/L olacak şekilde 8 hafta süreyle uygulandı. Hayvanların içtikleri su miktarı ve vücut ağırlıkları göz önüne alınarak yaptığımız hesaplamada sıçanların aldığı resveratrol miktarı

yaklaşık 6 mg/kg/gündür. Bu doz resveratrolle yapılan çalışmalarda kullanılan etkin bir dozdur (3). Sonuçlarımıza göre, resveratrolün früktoz uygulanan sıçanlarda artmış insülin direncini ve bozulmuş lipit profilini etkilemediği bulundu. Karaciğerde histopatolojik olarak bir iyileşme oluşturmasına karşılık serum ALT ve AST aktivitelerinde de bir değişiklik oluşturmadığı saptandı. Buna rağmen vasküler reaktivitede anlamlı değişikliklere neden oldu. Gerçekten resveratrol insülin direnci oluşmuş sıçanlarda endotel aracılı gevşeme ve reseptör aracılı kasılmada görülen bozuklukları tamamen düzelttiği saptandı. Ayrıca resveratrolün früktoz uygulanan sıçanlarda MG ve ADMA düzeylerinde bir değişiklik yapmadığı, buna karşılık L-arginin düzeylerini ve L-arginin/ADMA oranını arttırdığı belirlendi. Bu bulgular resveratrolün früktoz etkisiyle bozulmuş olan NO biyoyararlanımını düzelttiğini gösterdi.

Sonuç olarak, bulgularımız resveratrolün früktoz uygulamasına bağlı olarak bozulan damar fonksiyonlarını iyileştirmede etkili bir molekül olduğunu göstermektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM ve ark. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001; 88: 1201-1203.
2. Akar F, Pektas MB, Tufan C, Soylemez S, Sepici A, Ulus AT ve ark. Resveratrol shows vasoprotective effect reducing oxidative stress without affecting metabolic disturbances in insulin-dependent diabetes of rabbits. *Cardiovasc Drugs Ther* 2011; 25: 119-131.
3. Akar F, Uludağ O, Aydın A, Aytakin YA, Elbeg S, Tuzcu M ve ark. High- fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: protective effect of resveratrol. *Food Chem Toxicol* 2012; 50: 2135-2141.
4. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15: 539-553.
5. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabet Med* 1997; 14: 1-85.
6. Arunachalam G, Yao H, Sundar IK, Caito S, Rahman I. SIRT1 regulates oxidant- and cigarette smoke-induced eNOS acetylation in endothelial cells: Role of resveratrol. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393: 66-72
7. Babacanoglu C, Yıldırım N, Sadi G, Pektas MB, Akar F. Resveratrol prevents high-fructose corn syrup-induced vascular insulin resistance and dysfunction in rats. *Food Chem Toxicol* 2013; 60: 160-167.
8. Bagul PK, Middela H, Matapally S, Padiya R, Bastia T, Madhusudana K, ve ark. Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats. *Pharmacol Res* 2012; 66: 260-268.
9. Balestrieri ML, Rienzo M, Felice F, Rossiello R, Grimaldi V, Milone L ve ark. High glucose downregulates endothelial progenitor cell number via SIRT1. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1784: 936-945.
10. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of İnsülin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999; 16: 442-443.

11. Basciano H, Federico L, Adeli K. Fructose, insulin resistance and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab* 2005; 2: 1-14.
12. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A ve ark. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444: 337-342.
13. Baur JA. Biochemical effects of SIRT1 activators. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1804: 1626–1634
14. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications. *Diabetes* 1999; 48: 1-8.
15. Bekpinar S, Gurdol F, Unlucerci Y, Develi S, Yilmaz A. Serum levels of arginase I are associated with left ventricular function after myocardial infarction. *Clin Biochem* 2011; 44: 1090-1093.
16. Bertelli AAE. Modulatory effect of resveratrol, a natural phytoalexin, in endothelial adhesion molecules and intracellular signal transduction. *Pharm Biol* 1998; 36: 44–52.
17. Bogle RG, MacAllister RJ, Whitley GS, Vallance P. Induction of NG-monomethyl-L-arginine uptake: a mechanism for differential inhibition of NO synthases? *Am J Physiol* 1995; 269: 750-756.
18. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O ve ark. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98: 1842-1847.
19. Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JC. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1997; 95: 2068-2074
20. Bradamante S, Barengi L, Villa A. Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovasc Drug Rev* 2004; 22: 169–188.
21. Busserolles J, Gueux E, Rock E, Demigne C, Mazur A, Rayssiguier Y. Oligofructose protects against the hypertriglyceridemic and prooxidative effect of a high fructose diet in rats. *J Nutr* 2003; 133: 1903-1908.
22. Busserolles J, Gueux E, Rock E, Mazur A, Rayssiguier Y. Substituting honey for refined carbohydrates protects rats from hypertriglyceridemic and prooxidative effect of fructose. *J Nutr* 2002; 132: 3379-3382.
23. Butler J, Rodondi N, Zhu Y, Figaro K, Fazio S, Vaughan DE ve ark. Metabolic syndrome and the risk of cardiovascular disease in older adults. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 1595-1602.

24. Cardounel AJ, Xia Y, Zweier JL. Endogenous methylarginines modulate superoxide as well as nitric oxide generation from neuronal nitric-oxide synthase: differences in the effects of monomethyl- and dimethylarginines in the presence and absence of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem* 2005; 280: 7540-7549.
25. Carluccio MA, Ancora MA, Massaro M, Carluccio M, Scoditti E, Distanto A ve ark. Homocysteine induces VCAM-1 gene expression through NF-kappaB and NAD(P)H oxidase activation: protective role of Mediterranean diet polyphenolic antioxidants. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: 2344–2354.
26. Carrizzo A, Forte M, Damato A, Trimarco V, Salzano F, Bartolo M ve ark. Antioxidant effects of resveratrol in cardiovascular, cerebral and metabolic diseases. *Food Chem Toxicol* 2013 (In press)
27. Crisóstomo J, Matafome P, Santos-Silva D, Rodrigues L, Sena CM, Pereira P ve ark. Methylglyoxal chronic administration promotes diabetes-like cardiac ischaemia disease in Wistar normal rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2013; 30: 1-8.
28. Csiszar A, Labinskyy N, Podlutzky A, Kaminski PM, Wolin MS, Zhang C ve ark. Vasoprotective effects of resveratrol and SIRT1: attenuation of cigarette smoke-induced oxidative stress and proinflammatory phenotypic alterations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: 2721-2735.
29. Cylwik D, Mogielnicki A, Buczek W. L-arginine and cardiovascular system *Pharmacol Rep* 2005; 57: 14-22.
30. Dağlı F, Yazıcı C, Köse K. Metilglioksal verilen sıçanlarda karnozinin antioksidan özelliklerinin araştırılması. *Sağlık Bilimleri Dergisi* 2005; 14: 198-204
31. Dalle-Donne I, Scaloni A, Giustarini D, Cavarra E, Tell G, Lungarella G ve ark. Proteins as biomarkers of oxidative/nitrosative stress in diseases: The contribution of redox proteomics. *Mass Spectrom Rev* 2005, 24: 55-99.
32. Dayoub H, Achan V, Adimoolam S, Jacobi J, Stuehlinger MC, Wang BY ve ark. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis: genetic and physiological evidence. *Circulation* 2003; 108: 3042-3047.
33. Dekker JM, Girman C, Rhodes T, Nijpels G, Sterhouwer CDA, Bouter LM ve ark. Metabolic syndrome and 10-year cardiovascular disease risk in the Hoorn Study. *Circulation* 2005; 112: 666-673.

34. Desai K, Wu L. Methylglyoxal and advanced glycation endproducts: new therapeutic horizons? *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov* 2007; 2: 89-99.
35. Dhar A, Dhar I, Desai KM, Wu L Methylglyoxal scavengers attenuate endothelial dysfunction induced by methylglyoxal and high concentrations of glucose. *Br J Pharmacol* 2010; 161: 1843-1856.
36. Docherty JJ, Fu MM, Hah JM, Sweet TJ, Faith SA, Booth T. Effect of resveratrol on herpes simplex virus vaginal infection in the mouse. *Antiviral Res.* 2005; 67: 155–162.
37. Drouard V, Ferraris RP. Regulation of the fructose transporter Glut5 in health and disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295: 227-237.
38. Feig DI, ASoletsky B, Johnson RJ. Effects of allopurinol on blood pressure of adolescents with newly diagnosed essential hypertension. *JAMA* 2008; 300: 924-932.
39. Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *J Clin Invest* 1997; 100: 1166-1173.
40. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000; 102: 42-47.
41. Forshee RA, Storey ML, Allison DB, Glinsmann WH, Hein GL, Lineback DR ve ark. A critical examination of the evidence relating high fructose corn syrup and weight gain. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2007; 47: 561-582.
42. Fried SK, Rao SP. Sugars, hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 873-880.
43. Gao XB, Qi L, Qiao N, Choi HK, Curhan G, Tucker KL ve ark. Intake of added sugar and sugar-sweetened drink and serum uric acid concentration in U.S. men and women. *Hypertension* 2007; 50: 306-312.
44. Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005; 63: 133-57.
45. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG ve ark. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* 2003; 425: 191–196.
46. http://www.istanbul.edu.tr/itf/attachments/021_turdep.2.sonuclarinin.aciklamasi.pdf

47. Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW ve ark. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* 1997; 275: 218–220
48. Jia X, Wu L. Accumulation of endogenous methylglyoxal impaired insulin signaling in adipose tissue of fructose-fed rats. *Mol Cell Biochem* 2007; 306: 133–139.
49. Jia SJ, Jiang DJ, Hu CP, Zhang XH, Deng HW, Li YJ. Lysophosphatidylcholine-induced elevation of asymmetric dimethylarginine level by the NADPH oxidase pathway in endothelial cells. *Vascul Pharmacol* 2006; 44: 143-148.
50. Jia X, Olson DJ, Ross AR, Wu L. Structural and functional changes in human insulin induced by methylglyoxal. *FASEB J.* 2006; 20: 1555-1557.
51. Jiang DJ, Jiang JL, Tan GS, Du YH, Xu KP, Li YJ. Protective effects of daviditin A against endothelial damage induced by lysophosphatidylcholine. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2003; 367: 600-606.
52. Jürgens H, Haass W, Castañeda TR, Schürmann A, Koebnick C, Dombrowski F ve ark. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes Res* 2005; 13: 1146-1156.
53. Kakimoto Y, Akazawa S. Isolation and identification of N-G,N-G- and N-G,N'-G-dimethyl-arginine, N-epsilon-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine. *J Biol Chem* 1970; 245: 5751–5758.
54. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follman DA, Sullivan G ve ark. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2402-2410.
55. Khanduja KL, Bhardwaj A, Kaushik G. Resveratrol inhibits N-nitrosodiethylamine-induced ornithine decarboxylase and cyclooxygenase in mice. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2004; 50: 61–65.
56. Knipp M, Braun O, Gehrig PM, Sack R, Vasák M. Zn(II)-free dimethylargininase-1 (DDAH-1) is inhibited upon specific Cys-S-nitrosylation. *J Biol Chem* 2003; 278: 3410-3416.
57. Korandji C, Zeller M, Guillard JC, Collin B, Lauzier B, Sicard P ve ark. Time course of asymmetric dimethylarginine (ADMA) and oxidative stress in fructose-hypertensive rats: a model related to metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2011; 214: 310-315

58. Kurose I, Wolf R, Grisham MB, Granger DN. Effects of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis on postcapillary venules. *Am J Physiol* 1995; 268: 2224-2231.
59. Lapolla A, Flamini R, Dalla Vedova A, Senesi A, Reitano R, Fedele D, et al. Glyoxal and methylglyoxal levels in diabetic patients: quantitative determination by a new GC/MS method. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 1166–1173.
60. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2964-2968.
61. Leiper J, Murray-Rust J, McDonald N, Vallance P. S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: further interactions between nitric oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 13527-13532.
62. Lim JS, Mietus-Synder M, Valente A, Schwartz J-M, Lustig RH. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 251-264.
63. Liu J, Mak TC, Banigesh A, Desai K, Wang R, Wu L. Aldolase B knockdown prevents high glucose-induced methylglyoxal overproduction and cellular dysfunction in endothelial cells. *PLoS One* 2012; 7: 4149-4145.
64. Liu J, Wang R, Desai K, Wu L. Upregulation of aldolase B and overproduction of methylglyoxal in vascular tissues from rats with metabolic syndrome. *Cardiovasc Res* 2011; 92: 494-503.
65. Ludwig DS, Gortmaker SL. Programming obesity in childhood. *Lancet* 2004; 364: 226-227.
66. Lyons TJ. Glycation, carbonyl stress, EAGLEs, and the vascular complications of diabetes. *Semin Vasc Med* 2002; 2: 175-189.
67. MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russell RJ, Hodson H, et al. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 1533-1540.
68. Masterjohn C, Park Y, Lee J, Noh SK, Koo SI, Bruno RS. Dietary Fructose Feeding Increases Adipose Methylglyoxal Accumulation in Rats in Association with Low Expression and Activity of Glyoxalase-2. *Nutrients* 2013; 5: 3311-3328.
69. Mattagajasingh I, Kim CS, Naqvi A, Yamamori T, Hoffman TA, Jung SB, et al. SIRT1 promotes endothelium-dependent vascular relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 14855–14860.

70. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assesment insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419.
71. Mayes PA. Intermediary metabolism of fructose. *Am. J Clin Nutr* 1993; 58: 754-765.
Nandhini ATA, Thirunavukkarasu V, Ravichandran MK, Anuradha CV. Effect of taurine on biomarkers of oxidative stress in tissues of fructose-fed insulin-resistant rats. *Singapore Med J* 2005; 46: 82-87.
72. Miatello R, Vázquez M, Renna N, Cruzado M, Zumino AP, Risler N. Chronic administration of resveratrol prevents biochemical cardiovascular changes in fructose-fed rats. *Am J Hypertens* 2005; 18: 864-870.
73. Milne JC, Denu JM. The Sirtuin family: therapeutic targets to treat diseases of aging. *Curr Opin Chem Biol* 2008; 12: 11–17.
74. Miyazaki R, Ichiki T, Hashimoto T, Inanaga K, Imayama I, Sadoshima J ve ark. SIRT1, a longevity gene, downregulates angiotensin II type 1 receptor expression in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 1263–1269.
75. Mukherjee S, Lekli I, Gurusamy N, Bertelli AA, Das DK. Expression of the longevity proteins by both red and white wines and their cardioprotective components, resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 573–578.
76. Mukohda M, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. Exploring Mechanisms of Diabetes-Related Macrovascular Complications: Role of Methylglyoxal, a Metabolite of Glucose on Regulation of Vascular Contractility. *J Pharmacol Sci* 2012; 118: 303–310.
77. National Institute for Health. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-2497.
78. Nguyen S, Choi HK, Lustig RH, Hsu CY. Sugar sweetened beverages, serum uric acid and blood pressure in adolescents. *J Pediatr* 2009; 154: 807-813.
79. Nijveldt RJ, Teerlink T, van Guldener C, Prins HA, van Lambalgen AA, Stehouwer CD ve ark. Handling of asymmetrical dimethylarginine and symmetrical dimethylarginine by the rat kidney under basal conditions and during endotoxaemia. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2542-2550.

80. Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Purification and properties of a new enzyme, NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase, from rat kidney. *J Biol Chem* 1989; 264: 10205-10209.
81. Ozdogan S, Kaman D, Simsek BC. Effects of coenzyme Q10 and lipoic acid supplementation in fructose fed rats. *J Clin Biochem Nutr* 2012; 50: 145-151.
82. Palomo I, Contreras A, Alarcón LM, Leiva E, Guzmán L, Mujica V ve ark. Elevated concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in individuals with metabolic syndrome. *Nitric Oxide* 2011; 24: 224-228.
83. Prasad K. Resveratrol, wine and, atherosclerosis. *Int J Angiol* 2012; 21: 7-18.
84. Putics A, Vegh EM, Csermely P, Soti C. Resveratrol induces the heat-shock response and protects human cells from severe heat stress. *Antioxid Redox Signal* 2008; 10: 65-75.
85. Rault-Nania MH, Demougeot C, Gueux E, Berthelot A, Dzimira S, Rayssiguier Y, Rock E, Mazur A. Inulin supplementation prevents high fructose diet-induced hypertension in rats. *Clin Nutr* 2008; 27: 276-282.
86. Reaven GM, Litbell H, Landsberg L. Hypertension an associated metabolic abnormalities - the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N Engl J Med* 1996; 334: 374-381.
87. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607.
88. Reaven GM. Why Syndrome X? From Harold Himsworth to the insulin resistance syndrome. *Cell Metab* 2005; 1: 9-14.
89. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow up of 14719 initially healthy American women. *Circulation* 2003; 107: 391-397.
90. Roglans N, Vila L, Farre M, Allegret M, Sanchez RM, Vazquez-Carrera M ve ark. Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPARalpha activity in fructose-fed rats. *Hepatology* 2007; 45: 778-788.
91. Rutledge AC, Adele K. Fructose and the metabolic syndrome: Pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutr Rev* 2007; 65: 13-23.
92. Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Jiménez A, Bautista P, Cristóbal M, Nepomuceno T ve ark. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: 423-429.

93. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S ve ark. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey. *Diabet Care* 2002; 25: 1551-1556.
94. Segarra G, Medina P, Ballester RM, Lluch P, Aldasoro M, Vila JM ve ark. Effects of some guanidino compounds on human cerebral arteries. *Stroke* 1999; 30: 2206-2210.
95. Smith CL, Birdsey GM, Anthony S, Arrigoni FI, Leiper JM, Vallance P. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity modulates ADMA levels, VEGF expression, and cell phenotype. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 308: 984-989.
96. Soleimani M. Dietary fructose, salt absorption and hypertension in metabolic syndrome: towards a new paradigm. *Acta Physiol* 2011; 201: 55-62.
97. Sönmez Uydeş-Doğan B, Topal G, Takir S, Ilkay Alp F, Kaleli D, Ozdemir O. Relaxant effects of pravastatin, atorvastatin and cerivastatin on isolated rat aortic rings. *Life Sci* 2005; 76: 1771-1786.
98. Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Boeger RH, Bode-Boeger SM ve ark. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33: 652-658.
99. Sydow K, Münzel T. ADMA and oxidative stress. *Atheroscler Suppl.* 2003; 4: 41-51.
100. Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Böger SM, Tsikas D, Hornig B ve ark. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res* 2003; 57: 244-252
101. Teerlink T. Determination of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor asymmetric dimethylarginin in biological samples by HPLC. *Methods Mol Med* 2005; 108: 263-274.
102. Topal G, Koç E, Karaca C, Altuğ T, Ergin B, Demirci C, Melikoğlu G, Meriçli AH, Kucur M, Ozdemir O, Uydeş Doğan BS. Effects of *Crataegus microphylla* on vascular dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother Res* 2013; 27: 330-337.
103. Tran CT, Fox MF, Vallance P, Leiper JM. Chromosomal localization, gene structure, and expression pattern of DDAH1: comparison with DDAH2 and implications for evolutionary origins. *Genomics* 2000; 68: 101-105.

104. Tsikas D, Böger RH, Sandmann J, Bode-Böger SM, Frölich JC. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors are responsible for the L-arginine paradox. *FEBS Lett* 2000; 478:1-3.
105. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Metabolik sendrom kılavuzu. BAYT Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın ve Tanıtım, Kızılay, Ankara, 2009.
106. Türkseven S, Ertuna E. Glikoz metaboliti metilglioksalin vasküler gevşeme yanıtlarına etkisi. *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2012; 26: 103-109
107. Usui M, Matsuoka H, Miyazaki H, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with congestive heart failure. *Life Sci* 1998; 62: 2425-2430.
108. Uysal M. Karbonhidrat metabolizması. *Biyokimya*, (Eds) Gürdöl F, Ademoğlu E. 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2010; 219.
109. Valkonen VP, Päivä H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J ve ark. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001; 358: 2127-2128.
110. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-575.
111. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1023-1030.
112. Vanamala J, Reddivari L, Tarver CC, Murano PS, Lupton JR, et al. Resveratrol phenocopies the suppressive effects of insulin-like growth factor receptor-1 siRNA on IGF-1 promoted colon cancer cell proliferation. *FASEB J* 2008; 22: 158.
113. Vazquez-Prieto MA, Renna NF, Lembo C, Diez ER, Miatello RM. Dealcoholized red wine reverse vascular remodeling in an experimental model of metabolic syndrome: role of NAD(P)H oxidase and eNOS activity. *Food Funct* 2010; 1: 124-129.
114. Vos MB, Kimmons JE, Giles C, Welsh J, Blanck HM. Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape J Med* 2008; 10: 160.
115. Wang X, Jia X, Chang T, Desai K, Wu L. Attenuation of hypertension development by scavenging methylglyoxal in fructose-treated rats. *J Hypertens*. 2008; 26: 765-772.
116. White JS. Straight talk about high-fructose corn syrup: what it is and what it ain't. *Am J Clin Nutr* 2008, 88: 1716-1721.

117. Wood IS, Wang B, Lorette-Cebrian S, Trayhorn P. Hypoxia increases expression of selective facilitative glucose transporters (GLUT) and 2-deoxy-D-glucose uptake in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Comm* 2007; 361: 468-473.
118. World Health Organisation. Definition, diagnosis and classification of diabetes. Geneva: World Health Organisation, 1999.
119. Wu JM, Wang ZR, Hsieh TC, Bruder JL, Zou JG, Huang YZ. Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine (Review). *Int J Mol Med* 2001; 8: 3-17
120. Xia X, Weng J. Targeting metabolic syndrome: Candidate natural agents. *J Diabetes* 2010; 2: 243–249
121. Yılmaz MI, Eyileten T, Yenicesu M. Kronik böbrek hastalığında yeni bir oyuncu adimetrik dimetilarginin (ADMA). *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 2007;16: 93-101
122. Zhang H, Zhang J, Ungvari Z, Zhang C. Resveratrol improves endothelial function: role of TNF{alpha} and vascular oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 1164-1171.

7. ÖZGEÇMİŞ

A. KİŞİSEL BİLGİLER

Doğum Tarihi ve Yeri: 11.03.1985, İstanbul

Uyruğu: TC

Medeni Hali: Evli

Tel: 0(212) 4142000-33224-32353

E-mail: sevaldeveli@hotmail.com

B. EĞİTİM, MESLEKİ VE AKADEMİK DENEYİMLER

Tıpta Uzmanlık Eğitimi: İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, 2009-2013

Mesleki Deneyim: -

Lisans: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 2003-2009

Orta Öğrenim: Vatan Anadolu Lisesi, İstanbul, 1996-2003

İlk Öğrenim: Çapa İlköğretim Okulu, İstanbul, 1991-1996

Uluslararası Yayınlar:

1. Kalaz EB, Evran B, Develi S, Erata GÖ, Uysal M, Koçak-Toker N. Effect of binge ethanol treatment on prooxidant-antioxidant balance in rat heart tissue. Pathophysiology 2012; 19: 49-53
2. Bekpinar S, Gurdol F, Unlucerci Y, Develi S, Yılmaz A. Serum levels of arginase I are associated with left ventricular function after myocardial infarction. Clin Biochem 2011; 44: 1090-1093
3. Kalaz EB, Evran B, Develi-İş S, Vural P, Dogru-Abbasoglu S, Uysal M. Effect of carnosine on prooxidant-antioxidant balance in several tissues of rats exposed to chronic cold plus immobilization stress. J Pharmacol Sci 2012; 120: 98-104
4. Develi-İs S, Bekpinar S, Kalaz EB, Evran B, Unlucerci Y, Gulluoglu M, Uysal M. The protection by heme oxygenase-1 induction against thioacetamide-induced liver toxicity is associated with changes in arginine and asymmetric dimethylarginine. Cell Biochem Funct 2013; 31: 122-128.