

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**UZUN SÜRE FRUKTOZ İÇEN SIÇANLARDA RESVERATROL VERİLMESİNİN
VAZOKONSTRİKTÖR CEVAP ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. YASİN ATACAN AYTEKİN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. FATMA AKAR

ANKARA
EYLÜL 2009

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**UZUN SÜRE FRUKTOZ İÇEN SIÇANLARDA RESVERATROL VERİLMESİNİN
VAZOKONSTRİKTÖR CEVAP ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. YASİN ATACAN AYTEKİN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. FATMA AKAR

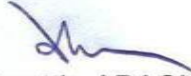
Bu tez TÜBİTAK yurtiçi yüksek lisans bursu ile desteklenmiştir.

ANKARA
EYLÜL 2009

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmakoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi: 14/10/2009



**Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı**



**Prof. Dr. Nuray ARI
Ankara Üniversitesi**



**Prof. Dr. Fatma AKAR
Gazi Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Şekiller, Resimler, Grafikler	iv
Tablolar	vii
Semboller, Kısaltmalar	viii
Önsöz	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Metabolik Sendrom	3
2.1.1 Metabolik Sendromun Fizyopatolojisi	5
2.1.2 İnsülin Direnci ve Hipertansiyon	6
2.1.3 Metabolik sendromda vazokonstriktör bileşiklerin etkisi	7
2.1.4 Sempatik sinir sisteminin metabolik sendromda rolü	10
2.2 Fruktoz	13
2.2.1 Fruktozun farmakokinetiği ve metabolik etkileri	14
2.2.2 Deney hayvanlarında metabolik sendrom oluşturma yöntemi olarak fruktoz verilmesi	14
2.3. Resveratrol	16
2.3.1 Resveratrolün farmakokinetiği, biyoyaralınımı ve metabolizasyonu	18
2.3.2 Resveratrolün antioksidan etkisi	19
2.3.3 Resveratrolün metabolik sendrom üzerine etkisi	19
2.3.4 Resveratrolün diyabet üzerine etkisi	20
2.3.5 Resveratrolün kan lipid profili üzerine etkisi	22
2.3.6 Resveratrolün Vazodilatör Etkisi	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1 Hayvanlar ve diyet	26
3.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler	28

3.3 Kullanılan Araç ve Gereçler	28
3.3.1 İn-vitro İzole Organ Banyosu Deneyleri	28
3.3.2 Serum İnsülin ve Lipid Düzeyi Ölçümü	29
3.3.3 Sistolik Kan Basıncı Ölçümü	29
3.3.4 Kan Glukoz Düzeyi Ölçümü	29
3.4 Kullanılan Yöntemler	29
3.4.1 Sıçan Aorta Halkalarının Alınışı ve İn-vitro İzole Organ Banyosu Deneyleri	29
3.4.2 Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları	30
3.4.3 Plazma insülin ve lipid düzeyi ölçümü	30
3.4.4 Kan Glukoz Düzeyi Ölçümü	31
3.4.5 Sistolik Kan Basıncı Ölçümü	31
3.5 İstatistik analiz	32
4. BULGULAR	33
4.1 Deney hayvanların ağırlık, su tüketimi ve kan şekeri değerleri	33
4.2 Serum insülin düzeyleri	35
4.3 Serum lipid profili	36
4.4 Kan basıncı ölçümü	38
4.5 Sıçan torasik aort halkalarında 40 mM KCl'nin kastırıcı etkisi	39
4.6 Sıçan torasik aort halkalarında fenilefrinin doz-cevap eğrisi	40
4.7 Sıçan torasik aort halkalarında anjiyotensin II'nin doz-cevap eğrisi	47
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ	61
7. ÖZET	62
8. SUMMARY	64
9. KAYNAKLAR	66
10. ÖZGEÇMİŞ	85

ŞEKİLLER VE GRAFİKLER

Şekil 1 Anjiyotensinlerin oluşumu	7
Şekil 2 Fruktozla beslene sıçanlarda insülin direnci ve hiperinsülineminin hipertansiyonla ilişkisi	12
Şekil 3. Fruktoz glukoz ve sükrozun kimyasal formülleri	13
Şekil 4 Resveratrolün cis, trans izomerleri ve metabolitleri	17
Şekil 5 Sistolik kan basıncı ölçümünde kullanılan sistem	31
Şekil 6 Deney gruplarındaki serum insülin düzeyleri	35
Şekil 7. Deney gruplarındaki serum total kolestrol düzeyleri	36
Şekil 8 Deney gruplarındaki serum YDL düzeyleri	37
Şekil 9 Deney gruplarındaki serum ÇDDL düzeyleri	37
Şekil 10 Deney gruplarındaki 0. Hafta ve 10.hafta sonundaki kan basınçları sonuçları	38
Şekil 11 Kontrol ve deney gruplarının endotelli aort halkalarında KCl'nin (40mM) tek doz uygulanmasından sonra oluşturduğu kasılma yanıtları	39

- Şekil 12** Kontrol (genç) ile 10 hafta boyunca standart yem ve su alan grubun(yaşlı) endotelli aort halkalarında fenilefrinin oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları 41
- Şekil 13** Kontrol ve 12 hafta süre resveratrol (50 mg/L) içen sıçanların endotelli aort halkalarının fenilefrinin artan dozlarda (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları 42
- Şekil 14** Kontrol ve 10 hafta süre ile %10 fruktoz içen sıçanların endotelli aort halkalarının fenilefrinin artan dozlarda (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları 43
- Şekil 15.** Kontrol ve 10 hafta süre ile %20 fruktoz içen sıçanların endotelli aort halkalarının fenilefrinin artan dozlarda (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları 44
- Şekil 16** Fruktoz %20 (10 hafta) + Resveratrol (50 mg/L, 12 hafta) uygulanmış gruplar ile sadece fruktoz %20 içen grubun endotelli aort halkalarında fenilefrinin oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları 45
- Şekil 17.** Kontrol (genç) ile 10 hafta boyunca standart yem ve su alan grubun(yaşlı) endotelli aort halkalarında anjiyotensin II'nin oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları 48

- Şekil 18** Kontrol ve 12 hafta süre resveratrol (50 mg/L) içen sıçanların endotelli aort halkalarının anjiyotensin II'nin artan dozlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları 49
- Şekil 19** Kontrol ve 10 hafta süre ile %10 fruktoz içen sıçanların endotelli aort halkalarının anjiyotensin II'nin artan dozlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları 50
- Şekil 20** Kontrol ve 10 hafta süre ile %20 fruktoz içen sıçanların endotelli aort halkalarının anjiyotensin II'nin artan dozlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları 51
- Şekil 21** Fruktoz %20 (10 hafta)+Resveratrol (50 mg/L ,12 hafta) uygulanmış gruplar ile sadece fruktoz %20 içen grubun endotelli aort halkalarında anjiyotensin II'nin oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları 52

TABLÖLAR

Tablo 1 Dünya çapındaki bazı kuruluşların metabolik sendrom tanımları	4
Tablo 2 Deney gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıkları, kan şekeri ve günlük tükettikleri su miktarları	34
Tablo 3 Deney gruplarındaki sıçanların fenilnefrin'in log EC ₅₀ ve E _{maks} değerleri	46
Tablo 4 Deney gruplarındaki sıçanların anjiyotensin II'nin log EC ₅₀ ve E _{maks} değerleri	53

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

AACE: American Association of Clinical Endocrinologist

ADE: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim

AI: Anjiyotensin II

AT1: Anjiyotensin II Tip 1 reseptör

AT2: Anjiyotensin II Tip 2 reseptör

ATP III: National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III

ÇDDL: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

DDL: Düşük Dansiteli Lipoprotein

DM: Diabetes Mellitus

EC₅₀: Maksimal cevabın yarısını oluşturan konsantrasyon

EDTA: Etilendiamintetraasetik asid

EGIR: European Group for the Study of Insulin Resistance

E_{maks}: Maximum cevap

eNOS: Endotelial nitrik oksit sentaz

ET-1: Endotelin-1

GLUT2: Glukoz taşıyıcı tip 2

GLUT5: Glukoz taşıyıcı tip 5

IDF: International Diabetes Federation

IFG: Bozulmuş açlık glukozu

IGT: Bozulmuş glukoz toleransı

IMA: İnternal meme arteri

L-NAME: Nitro-L-arjinin metil ester;

NADPH: Nikotinamid adenine dinükleotit fosfat

NCEP: National Cholesterol Education Program

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik oksit sentaz

OGTT: Oral glukoz tolerans testi

sGMP: Siklik guanozine monofosfat

SOD: Süper oksit dismutaz

TG: Trigliserit

TxA₂: Tromboksan A2

VKİ: Vücut Kütle İndeksi

WHO: World Health Organization

YDL: Yüksek Dansiteli Lipoprotein

Çalışmalarımnda ve tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübesiyle bana araştırmacılığı, sistemli ve düzenli çalışmayı öğreten değerli danışmanım Prof. Dr. Fatma AKAR'a,

Mesleğimle ilgili bana kazandırdığı değerler ve desteği için Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU ve sunumum sırasında bana fikir ve yorumlarıyla yol gösteren Prof. Dr. Nuray ARI'ya,

Çalışmalarımızın birçok aşamasında deneyimleriyle bize katkıda bulunan Yrd. Doç. Orhan ULUDAĞ'a

Biyokimyasal parametrelerin ölçümünde bize yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Aylin SEPİCİ'ye,

Hayvanlarımızın bakımında yardımcı olan Hacer ŞİRİN'e

Çalışmalarımızda bize deneyimleriyle katkıda bulunan Dr. Ecz. Selen SÖYLEMEZ'e,

Çalışmalarımnda desteklerini hiç esirgemeyen arkadaşım Ecz.Ali AYDIN ve değerli ailesine,

Yardımları ve destekleriyle sürekli yanımda olan nişanlım Ecz. Elif BİRİNCİOĞLU'na,

Destekleriyle her zaman yanımda olan çok değerli ve sevgili AİLEME,

TÜM KALBİMİLE TEŞEKKÜR EDERİM.

1.GİRİŞ

Metabolik sendrom artmış kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkili metabolik anormallikler bileşimidir. Diğer bir deyişle metabolik sendrom; bel çevresi obezitesinin, insülin direnci, hipertansiyon, artmış ateroskleroz ve dislipideminin görüldüğü biyokimyasal ve klinik bir durumdur. Bu metabolik bozukluklar kardiyovasküler hastalıkların ve Tip II diyabetin gelişmesinde önemli risk faktörleridir. Metabolik sendrom sıklığı ilerleyen yaşla ve kilo alımıyla artar. Ülkeden ülkeye metabolik sendrom sıklığı değişkenlik göstermektedir ve başta gelişmiş ülkeler olmak üzere bütün dünyada giderek artmaktadır. Fruktoz ve sukroz gibi karbonhidrat ağırlıklı beslenmenin metabolik sendroma yol açtığı çeşitli çalışmalarda görülmektedir. Uygun genetik zeminde çevresel etkenlerin sonucu olarak ortaya çıkan metabolik sendromun tedavisinde ve önlenmesinde en uygun yaklaşım yaşam tarzının düzeltilmesidir. Bu amaçla özellikle fruktoz ve sukroz gibi rafine karbonhidratların tüketimi azaltılmalı, toplam kalori alımı kısıtlanmalı ve fiziksel hareket artırılmalıdır.

Resveratrol, stilbenlerin alt grubu olup, en çok üzüm ve kırmızı şarapta bulunan polifenolik bir bileşiktir. Bu bileşiğin bitkilerde travma ya da fungal bir duruma karşı sentezlendiği anlaşılmıştır. Kimyasal olarak flavanoid yapısındadır ve estrogen benzeri bir biyolojik etkisi vardır. Resveratrol üzerinde pek çok araştırmanın yapıldığı bir moleküldür. Son yıllarda, resveratrolün diyabet üzerine de olumlu etkisinin olduğu bulunmuştur. Diyabetli insanlar ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda, damarların endotel hücre fonksiyonundaki azalmanın, kardiyovasküler komplikasyonların ortaya çıkmasına neden olduğu, resveratrolün ise bu olumsuz etkileri düzelttiği gösterilmiştir. Ayrıca, resveratrolün diyabet nedeniyle oluşan glukoz metabolizmasında bozukluk, kilo kaybı, bozulmuş

vasküler cevap gibi bazı biyolojik durumlar üzerinde de düzeltici etkisi bulunmaktadır.

Tip II diyabetin gelişmesinde en önemli faktörlerden biride insülin direncidir. İnsülin direnci, var olan insüline beklenenden daha az yanıt alınması şeklinde tanımlanabilir. İnsülinin hassasiyetini artırmanın TİP II diyabette etkisi olabileceğini düşünülmüş ve anjiyotensin II reseptör antagonistlerinin insülin hassasiyetini artırdığı ve bunun sonucunda hastalarda Tip II diyabet görülme insidasını azalttığı gösterilmiştir. Fruktozla beslenerek oluşturulmuş metabolik sendrom modelinde hem anjiyotensin II düzeyleri hem de anjiyotensin 1 reseptörleri (AT₁) mRNA düzeyinde artmıştır. Ayrıca, iyi bir antioksidan olan L-carnitinin metabolik sendromda hipertansiyonu ve artmış olan anjiyotensin II düzeylerini normale döndürmüştür.

Son dönemlerde, metabolik sendrom en çok üzerinde çalışılan konulardan biridir. Bu bozukluğun tedavisine yönelik araştırmalar büyük önem taşımaktadır. Deneysel çalışmalarda yüksek fruktoz ile beslenen hayvanlarda yüksek sukrozla beslenen hayvanlara oranla metabolik sendromu daha iyi taklit ettiği gözlenmiştir. Bu yüzden, biz bu araştırmamızda, metabolik sendrom benzeri tabloyu erkek Wistar sıçanlarda fruktoz ile oluşturmayı ve metabolik sendromdaki bozulmuş olan durumu resveratrol ile düzeltmeyi planlamış bulunmaktayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Metabolik Sendrom

Glukoz ve insülin metabolizma bozukluğu, abdominal obezite, dislipidemi ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalık riskini artıran faktörler metabolik sendrom olarak adlandırılmıştır. İlk kez metabolik sendrom kavramı Reaven tarafından Sendrom X olarak ortaya çıkarılmıştır. Reaven'a göre insülin direnci yani fazla insüline karşı gelişen kompensatuvar mekanizmalar metabolik sendromu oluşturan kriterlerin altında yatan en önemli mekanizmadır. İlk kez 1998'de WHO metabolik sendromun tanımlanması için bir takım kriterler belirlemiştir. Burada oral glukoz tolerans testi esas alınmıştır. Glukoz tolerans testi insanlarda ve hayvanlarda insülin direnci ölçümü için kullanılan bir yöntemdir. National Cholesterol Education Program (NCEP) Uzman Paneli 2001 yılında yetişkinlerde kandaki yüksek kolesterolün tespiti ile metabolik sendrom için yeni bir kriter önermiştir. American Assosiation of Endocrinologist (AAACE) 2003 yılında NCEP'in tanımını biraz daha geliştirmiş ve insülin direncinin anlaşılmasına odaklanmıştır. International Diabet Federation (IDF) 2005 yılında dünya çapındaki tanımları formülize etmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Dünya çapındaki bazı kuruluşların metabolik sendrom tanımları.⁶

	WHO(1998)	EGIR(1999)	AACE (2003)	IDF(2005)	ATP-III (2005)
Zorunlu Kriter	IGT, IFG, Tip2 DM Ya da azalmış insülin duyarlılığı	Hiperinsüline minin %75 üzerinde olması	IGT ya da IFG (diyabet yok)	Artmış bel çevresi (toplumlara özgü)	Yok
Diğer kriterler	+herhangi 2 kriter	+herhangi 2 kriter	+herhangi 2 kriter	+herhangi 2 kriter	Herhangi 3 kriter
Vücut ağırlığı	Bel-kalça oranı Erkek>0.90 Kadında>0.8 VKİ>30kg/m ²	Bel çevresi Erkekte ≥ 94cm, Kadında ≥ 80cm	VKİ ≥25 kg/m ²		Bel çevresi Erkekte ≥102cm Kadında ≥88cm
Lipid	TG150mg/dl ve/veya YDL<35(erkek) YDL<39(kadın)	TG≥150 mg/dl ve/veya YDL<39 (erkek veya kadın)	TG≥150 mg/dl ve YDL<40 (erkek) YDL<50 (kadın)	1-TG≥ 150 mg/dl	1-TG≥150 mg/dl
				2-YDL<40 (erkek) YDL<50 (kadın)	2-YDL<40 (erkek) YDL<50 (kadın)
Tansiyon	≥140/90 mm Hg	≥140/90 mm Hg	≥130/85 mm Hg	≥130/85 mm Hg	≥130/85 mm Hg

IGT: Bozulmuş glukoz toleransı, IFG: Bozulmuş açlık glukozu, DM: Diabetes Mellitus, VKİ: vücut kitle indeksi, TG: Trigliserid, YDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

2.1.1 Metabolik sendrom fizyopatolojisi

İnsülin direnci ve takiben gelişen hiperinsülinemi, metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki bağlantının temel nedeni olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir.¹⁻¹² Hiperinsülineminin endotel hücrelerine etki ederek aterosklerozun ortaya çıkmasına katkıda bulunduğu ve hiperinsülinemiye karşı gelişen insülin direnciyle endotel disfonksiyonu arasındaki bağlantı olduğu vurgulanmıştır.¹⁻¹²

Metabolik sendromda kardiyovasküler hastalıkların oluşmasında diğer bir sorumlu durumda dislipidemi dir. Metabolik sendromda dislipidemi düşük HDL ve yüksek trigliserit düzeyi şeklinde gözlenmiştir.¹⁻¹²

Artmış ve kronikleşmiş inflamasyon durumu da metabolik sendromla ve dolayısıyla kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bu durumda C reaktif proteinin miktarında da artış gözlenmiştir.²

Metabolik sendromda görülen diğer olumsuz tablolar mikroalbuminüri, hiperürisemi ve kanda görülen çeşitli pıhtılaşma bozukluklarıdır.^{3,4}

Metabolik sendromla ilgili bazı çalışmalarda metabolik sendromlu bireylerde Tip II diyabet ve kardiyovasküler hastalık riskinde artış görülmüştür.⁵⁻¹¹

Hem kalıtsal hem de çevresel faktörler metabolik sendrom oluşmasında etkilidir fakat kesin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Daha önceden de bahsedildiği gibi majör faktör olarak insülin direnci

gösterilmektedir. Bir çalışmada da obez ve hipertansif hastalarda insülin direncinin olduğu saptanmıştır.¹²

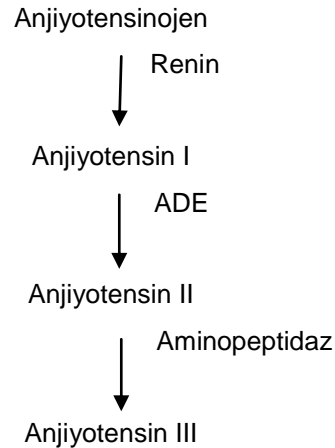
Çeşitli hipertansif kemirgen modellerinde; bunlar spontan hipertansif ratlar, Dahl ratları, fruktozla beslenmiş ratlar, obez Zucker ratları, Zucker diyabet ratlar ve yüksek yağlı diyetle beslenmiş Wistar ratları, glukoz metabolizması ve insülin aktivitesi benzer bozulmalar göstermiştir.¹³⁻²³ Bu metabolik bozulmalar insülin direnciyle ile hipertansiyonun gelişmesinin yakından ilişkili olduğunu göstermektedir.

2.1.2 İnsülin direnci ve hipertansiyon

Genetik ve çevresel faktörlerin metabolik sendromda etkili olduğu bilinmektedir fakat tam olarak nedeni anlaşılamamıştır. Yeni olarak insülin direncinin metabolik sendromun altında yatan ana neden olduğu ve kardiyovasküler hastalık riskini ortaya çıkarıldığı ileri sürülmüştür. İnsülin direnci açlık hiperinsülinemi durumunda insülin etkisindeki bir eksiklik olarak tanımlanır. İnsülin direnci ve bu direnci kırmak için yükselen insülin düzeyleri hipertansiyon patogenezinde katkıda bulunabilir.²⁴ Hayvan ve insan çalışmaları hipertansiyonun, hiperinsülinemi ve insülin direnciyle birlikte olduğu gösterilmiştir.²⁵ Ayrıca, yapılan çalışmalarda insülin direncinin hem şişman hem de zayıf kişilerde olduğu gösterilmiştir.²⁶ Çeşitli hipertansif deney modellerinde ve fruktozla beslenen sıçanlarda insülin etkisinde bir yetersizlik olduğu bulunmuştur.²⁷⁻²⁹ Dahl rat^{30,31} Kanadalı metabolik sendromlu kişilerde ortaya çıkan hipertansiyonun tedavisinde mono terapatik amaçla anjiyotensin antagonistleri çoklu tedavide ise beta blokörler, kalsiyum kanal blokörleri ve diüretikler kullanılabilir.³²

2.1.3 Metabolik sendromda vazokonstriktör bileşiklerin etkisi

Metabolik sendromda aktif rol oynayan bileşiklerin başında anjiyotensinler gelmektedir. Esas olarak anjiyotensinler anjiyotensinojenden reninin enzimatik etkisiyle oluşmaktadır. Renin enzimi böreklerde juksta-glomerular aparat tarafından yapılarak sistemik dolaşıma katılır. Renin enzimi anjiyotensinojenden anjiyotensin I oluşumunu sağlar. Organizmada çeşitli damar yataklarında özellikle endotel ve damar düz kasında ve az oranda kanda bulunan anjiyotensin dönüştürücü enzim tarafından (ADE) tarafından anjiyotensin I anjiyotensin II'ye dönüştürülür. Anjiyotensin II'den aminopeptidaz enzimi etkisi ile anjiyotensin III oluşmaktadır (Şekil 1). Yapılan araştırmalarda anjiyotensinlerin AT₁ ve AT₂ olarak tanımlanan iki reseptörlerin olduğu ve anjiyotensin II ve III'ün bu reseptörlere farklı afinitelerle bağlandığı bulunmuştur. Anjiyotensin I'in ise esas olarak etkisini anjiyotensin II'ye dönüştürerek gösterdiği bulunmuştur. Anjiyotensin II aracılığıyla AT₁ reseptörlerinin daha çok kardiyovasküler etkileri ortaya çıkmaktadır. AT₂ reseptörleri ise daha çok antiproliferasyon ve apoptozis yönünde etkileri vardır.



Şekil 1: Anjiyotensinlerin oluşumu. ADE, anjiyotensin dönüştürücü enzim.⁶

Fruktozdan zengin diyetle 5 hafta boyunca beslenen sıçanlarda, anjiyotensin II reseptör antagonisti telmisartanın 5mg/kg/gün son iki hafta boyunca verilmesi fruktozun oluşturduğu sistolik kan basıncı artışı hipertrigliseridemi ve hiperinsüleminin önemli ölçüde düzeldiği saptanmıştır. Telmisartanın bu etkisi adiponektin düzeyiyle ilişkili bulunmamıştır. Telmisartan etkisinin doğrudan anjiyotensin II reseptör antagonizması sonucu ortaya çıktığı ileri sürülmüştür.³³

Anjiyotensin II antagonisti losartanın fruktozdan zengin diyetle beslenen sıçanlar üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada losartan tedavisinin 30mg/kg/gün sekiz hafta boyunca verildiğinde metabolik sendromun ana parametrelerinden hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve hipertansiyonun normal değerlere döndüğü fakat plazma anjiyotensin II düzeyinin daha da arttığı saptanmıştır. Fruktozla beslenen hayvanlarda anjiyotensin II ve AT₁ reseptörlerinin mRNA düzeyinin arttığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada anjiyotensin II ve fenilefrin doz-cevap eğrileri incelendiğinde fruktozda beslenmenin fenilefrin cevaplarını değiştirmedeği fakat anjiyotensin II'nin E_{maks} değerinde büyük artışa neden olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada losartan tedavisinin fruktozla beslenen hayvanlarda artmış olan süperoksit oluşumunu da düzelttiği bulunmuştur.³⁴

Normal dişi Sprague-Dawley sıçanlarına insülin infüzyonu ile altı hafta boyunca günde 2 ünite insülin uygulaması yapıldığında insülin infüzyonu yapılan grupta anjiyotensin dönüştürücü enzimin azaldığı saptanmıştır. AT₁ reseptör protein düzeyinde bir değişiklik bulunmamıştır. İnsülin infüzyonu yapılan gruba losartan tedavisi yapıldığında asetilkolinin endotel bağlı gevşeme cevaplarının arttığı saptanmıştır.³⁵

Fruktozdan zengin diyetle beslenen sıçanlarda, ADE inhibitörü kaptopril tedavisi, aortasında fruktozla artan AT₁ mRNA düzeyini normal değerlere düşürdüğü ve süperoksit kaynağı NADPH oksidaz mRNA'sını azalttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, kaptopril tedavisinin hiperinsülinemi düzeltmediği gösterilmiştir. Hipertansiyonun ise kaptoprilden sonra normal değerlere döndüğü gözlemiştir.³⁶

Standart yem içeriğinin %60'ını fruktozun oluşturduğu diyetle 2-4 hafta boyunca beslenen sıçanlarda, serum insülin düzeyinin ve ortalama kan basıncının anlamlı bir şekilde arttığı fakat hayvanları vücut ağırlığının anlamlı olmasa da kısmen arttığı saptanmıştır. Anjiyotensin II'nin ve fenilefrin etkisi invivo ve invitro olarak kontrolle karşılaştırıldığında anjiyotensin II'nin her ikisinde fakat fenilnefrinin sadece invitro deneylerde aortada oluşturduğu kontraksiyonların arttığı saptanmıştır. Aynı çalışmada KCl'nin kontraktıl etkisinde ve asetilkolin gevşemelerinde bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir.³⁷

Yüksek yağlı ve şekerli diyetle beslenen erkek sıçanlarda, 4 hafta boyunca renal böbrek mezenterik arter ve arka bacak kan akışının Doppler yöntemiyle ölçülmesi sonucunda böbrek ve arka bacak kan akışının azaldığı mezenterik arter kan akışında ise belirgin bir fark olmadığı saptanmıştır. Bu araştırmada hayvanların plazma insülin ve kan glukoz düzeyinin normalden farklı olmadığı fakat glukoz toleransının yağlı ve şekerli diyetle azaldığı bulunmuştur. Torasik aorta ve iskelet kasında eNOS protein ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır. Bu araştırmada, aortada fenilefrin doz-cevap eğrisi karşılaştırıldığında kontrole göre anlamlı olarak değişmediği gösterilmiştir. Aynı zamanda, mezenterik damar yatağına endotelin-1 (ET-1) oluşumunun kontrolden daha yüksek olduğu da gösterilmiştir. Aynı araştırmada, hayvanların tokluk glukoz,

insülin ve trigliserit düzeyleri ölçülmüş ve yağlı diyetle beslenen grupta düzeyler kontrole göre yüksek bulunmuştur.³⁸

Fruktozdan zengin diyetle beslenen Wistar sıçanları üzerinde yapılan çalışmada, periton içine L-carnitin 300mg/kg verilerek kardiyak hipertrofi ve anjiyotensin dönüştürücü enzim aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. L-carnitin tedavisinin metabolik sendromun parametrelerinden hipertansiyonu düzelttiği, kalp ağırlığındaki artışı normal değerlere getirdiği anjiyotensin dönüştürücü enzim aktivitesindeki artışı da azalttığı gözlenmiştir. Bu çalışmada kalp antioksidan enzimlerinden süperoksit dizmutaz (SOD) ve katalaz aktivitesinin de L-carnitin tedavisinden sonra arttığı gözlenmiştir.³⁹

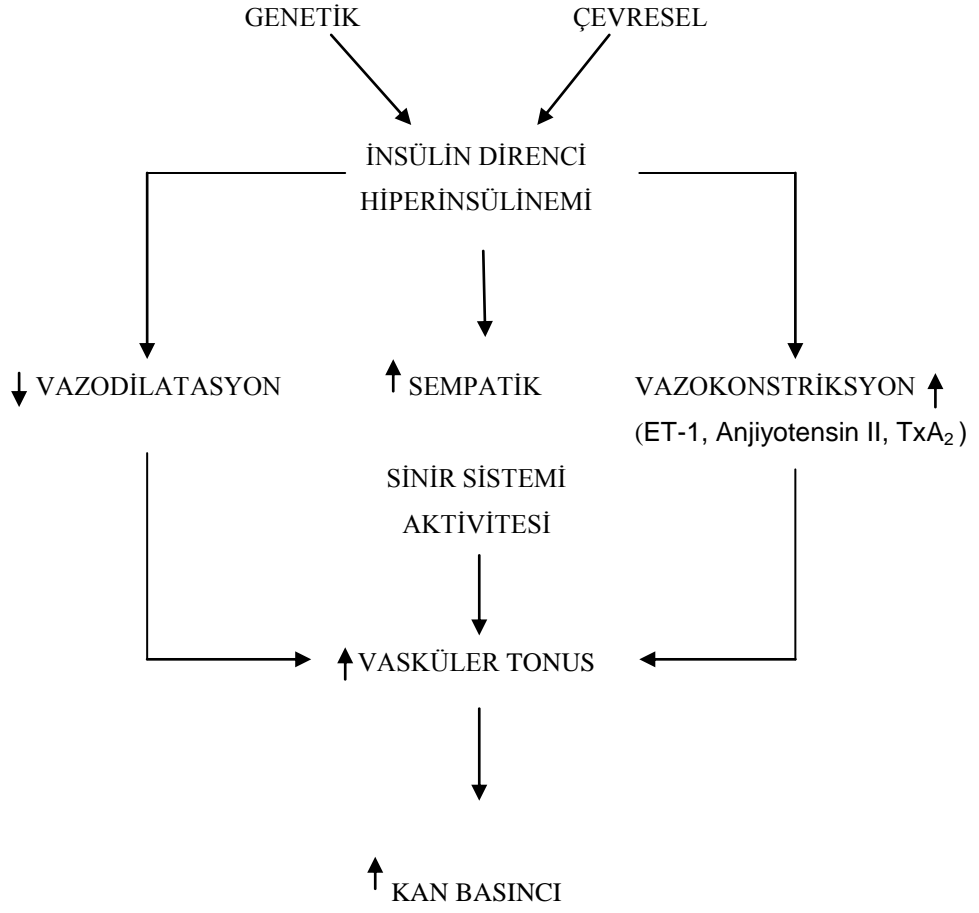
2.1.4 Sempatik sinir sisteminin metabolik sendromda rolü

Damar düz kasındaki alfa-1 adrenerjik reseptörlerin uyarılması fosfolipaz C aktivasyonu sonucu ya da ikincil ulaklardan diaçil gliserol ve inositol trifosfat artışı sonucu intraselüler serbest kalsiyum düzeyini yükselterek damar geriminin artışına neden olur. Vazkonstriktör ajanlardan anjiyotensin II ve noradrenalin G proteini bağlı reseptörleri aktive ederek intraselüler kalsiyum konsantrasyonunun yükselmesine ya da kalsiyuma duyarlılığı artırarak kontraktıl mekanizmaları tetikleyebilirler.⁴⁰

Hiperinsülinemi durumunda insülinin kronik olarak sempatik aktiviteyi uyardığı ve böylece periferik damar direnci artışına neden olduğu ileri sürülmektedir. Bu hipotezi destekleyen çalışmalarda, plazma noradrenalin düzeyi ve sempatik aktivitenin insülin infüzyonuyla arttığı gözlenmiştir.^{41,42}

Sürekli alfa-1adrenerejik reseptörlerin aktivasyonu sonucu damar direncinin artması kan akışını azaltarak glukozun dokulara ulaşımını engelleyip insülin direncinin ortaya çıkmasına neden olabilir.⁴³

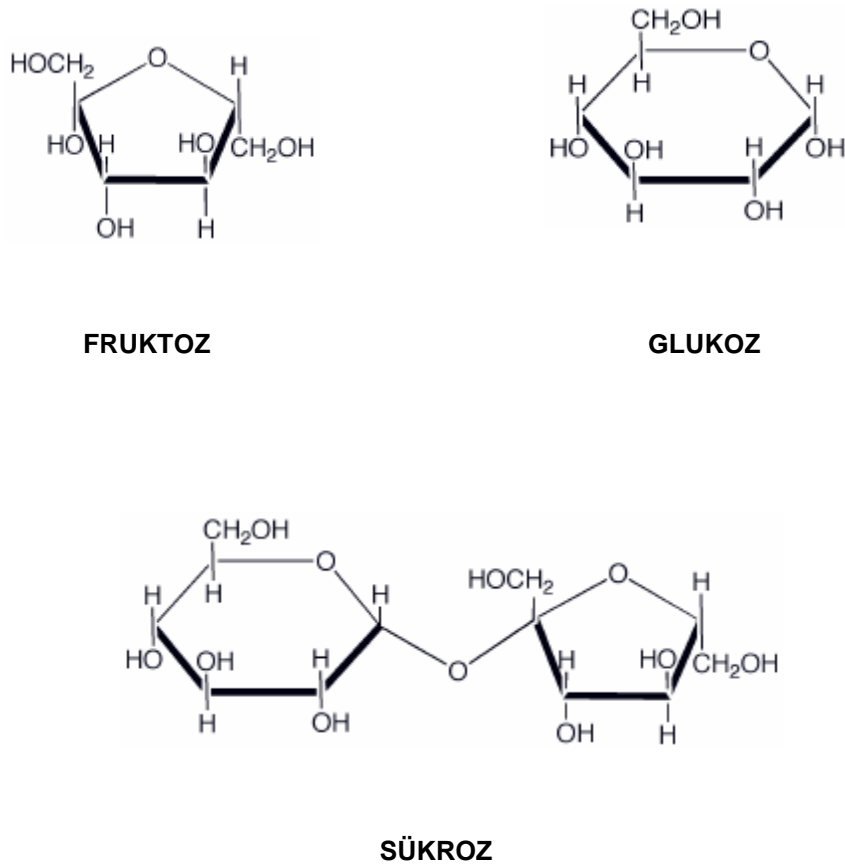
İnsülin direncini yenmek için yüksek miktarda salgılandığı insülin sürekli sempatik sistemi uyarabilir fakat insülin direncinin mi ya da sempatik aktivitenin ilk olarak uyarıldığı tam olarak anlaşılamamıştır. Şişman olmayan genç Japonlar üzerinde yapılan araştırmalarda, sempatik sistemin hiperaktivitesinin hiperinsülinemiye neden olduğu ve sonra kan basıncının arttığı ileri sürülmüştür.⁴⁴ Fruktozla beslenen hayvanlarda kimyasal olarak sempatik sistemin tahrip edilmesinin hiperinsülinemi ve hipertansiyon gelişimini önlediği gösterilmiştir.⁴⁵ Santral sempatik etkinliği azaltan moksonidin, rilmenidin gibi bileşiklerinin insülin direnci ve hipertansiyon gelişimini önlediği gösterilmiştir.^{46,47} Sempatik etkinlikteki artışın kompensatuvar mekanizma noradrenaline cevabın azalması beklenebilir.^{48,49} İnsülin direnci ve hiperinsülineminin hipertansiyonla ilişkisi Şekil 2.'de gösterilmiştir.



Şekil 2: Fruktozla beslene sıçanlarda insülin direnci ve hiperinsülineminin hipertansiyonla ilişkisi⁶

2.2 Fruktoz

Fruktoz, birçok meyve ve sebze de bulunan bir monosakkarittir. Glukozla aynı kimyasal yapıya sahip olmasına rağmen ($C_6H_{12}O_6$) kimyasal yapı olarak farklılık gösterirler. Fruktoz, beşli bir halkaya sahipken, glukoz altılı halka yapısından oluşmaktadır. Fruktoz, yiyeceklerde bir disakkarit olan sukroz şeklinde de bulunmaktadır. Sukroz glukozla sukrozun glikozit bağıyla bağlanmasından oluşmaktadır. Glukoz, fruktoz ve sukrozun kimyasal yapıları Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3: Fruktoz glukoz ve sukrozun kimyasal formülleri⁶

2.2.1 Fruktozun farmakokinetiği ve metabolik etkileri

Birçok meyve ve sebze de bulunan fruktoz metabolizma olarak glukoz ve sükrozdan farklılık göstermektedir. Fruktozun metabolizması insülin bağımlı bir mekanizmadır. Ayrıca, fruktozun absorpsiyonu iki taşıyıcı vasıtasıyla olmaktadır. Bunlar glukoz transporter tip 5 (GLUT5) ve glukoz transporter tip 2 (GLUT2) dir.^{50,51} Karaciğerde fruktoz fruktokinaz enzimiyle fosforillenerek fruktoz 1-fosfata dönüşür. Daha sonra fruktoz 1-fosfat; gilseraldehit, dihidroksiaseton ve gliseraldehit 3-fosfata dönüşür. Bazı ara ürünler glikojenik yollara girerek glukozla dönüşürken bazıları ise laktat ya da trigliserite dönüşmektedir.

Fruktozun glukozla göre hormonal etkileri de farklı bulunmuştur. Fruktozun alımında insülin seviyelerinde bir dalgalanma olmadığı ortaya atılmıştır. Bunun nedeni olarak; pankreas GLUT5 salgılayamamaktadır ve fruktokinaz yokluğuyla fruktozun fosforilasyonu limitli olmaktadır. Ayrıca, fruktoz insülin salımını stimüle eden gastrik inhibitör polipeptidlerin salımını uyarmamaktadır.^{52,53} Fruktoz alımından sonra glukozdan farklı olarak tokluk hormonu olan leptin seviyelerinde de bir değişiklik görülmemektedir.^{53,54} Sıçanlarda kronik fruktoz beslenmesi leptin seviyelerinde değişikliğe yol açmamıştır.^{55,56} Fruktoz adipoz dokuda üretilen ve birçok metabolik yolağı düzenleyen bir hormon olan adiponektinin plazma seviyesini artırmıştır.^{57,58}

2.2.2 Deney hayvanlarında metabolik sendrom oluşturma yöntemi olarak fruktoz verilmesi

Hwang ve arkadaşları 1987 yılında diyet içinde verilen %66 fruktozun sıçanlarda hipertansiyon, hipertrigliseridemi ve hiperinsülinemiye neden olduğunu göstermiştir.¹⁸ Laboratuvar hayvanı olarak kullanılan

rodentlerin diyeti içinde fruktoz eklenmesinin 6-8 hafta sonunda kan basıncını yükselttiği gözlenmiştir.⁵⁹⁻⁶¹ Yüksek fruktozla beslenmeyle metabolik sendrom oluşturma şekli fruktoz konsantrasyonuna ve beslenme süresine bağlı olarak değişmektedir.⁶² Yüksek fruktoz içeriğinin bu süre içinde hayvanlarda ağırlık artışına neden olmadığı gösterilmiştir. Bu açıdan insanlardaki obezitenin eşlik etmediği metabolik sendromu taklit etmektedir. Plazma insülin düzeyinin azaltılması ya da insülin sensitizasyonu oluşturulması fruktozun oluşturduğu hipertansiyonu düzeltmektedir. Örneğin bu hayvanlara egzersiz yapılmasından sonra insüline duyarlılığının arttığı, insülin düzeyinin azaldığı ve hayvanların kan basıncınının düştüğü gözlenmiştir.⁶³ İnsüline duyarlılığı artıran pek çok bileşiğin örneğin metformin ya da tiazolidindionların kan basıncını düşürdüğü gözlemlenmiştir.^{25,61} Bu bulgular insülin direnci ve hiperinsülineminin hipertansiyona neden olduğunu göstermektedir. İnsülin direnci hiperinsülinemi ile hipertansiyon ilişkisinde pek çok mekanizma ileri sürülmüştür; bunlar içinde sempatik sinir sistemi aktivasyonu vazokonstriktör bileşiklerden endotelin-1 (ET-1), anjiyotensin II, tromboksan A₂ (TxA₂) aktivitesinin arttığı ileri sürülmüştür.⁶⁴⁻⁶⁶

Yetişkin 2 aylık Wistar sıçanları üzerinde yapılan bir araştırmada, içme suyu içinde %10 fruktozun iki hafta boyunca verilmesinden sonra fruktoz içen hayvanların vücut ağırlığının kısmen azaldığı fakat bunun anlamlı bulunmadığı, kan glukoz düzeyinin ise değişmediği saptanmıştır. Periferik damar direncinin fruktoz içen grupta anlamlı şekilde arttığı ve kalp debisinin düştüğü bulunmuştur.⁶⁷

Bir başka araştırmada, 14 gün boyunca içme suyu içinde %23 glukoz fruktoz ve sukroz verilerek metabolik sendrom oluşturulmuştur. Hayvanların su içme miktarı karşılaştırıldığında fruktoz içen grubun su içme miktarı kontrol hayvanlara eşit bulunmuştur. Fakat

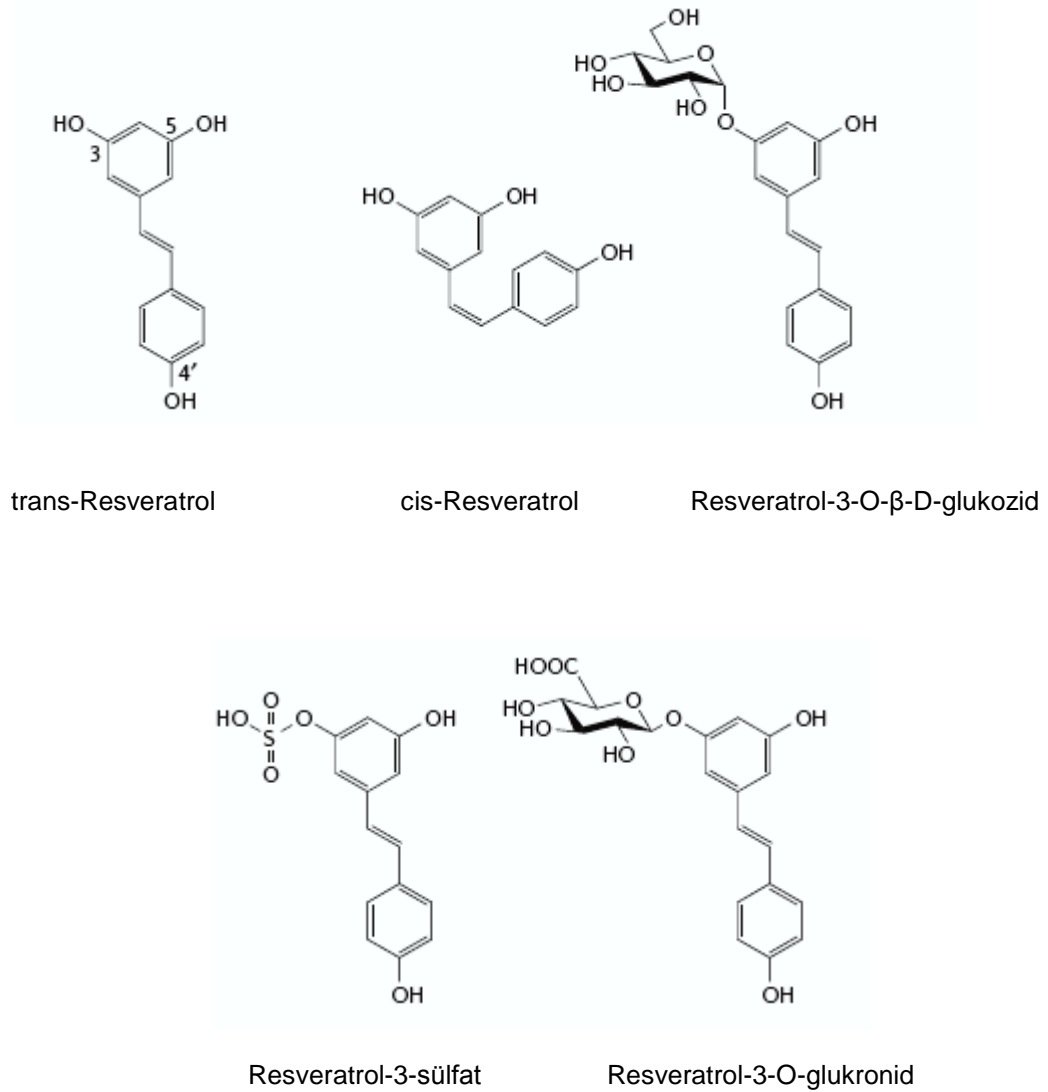
glukoz ve sükroz içen grupta miktarın arttığı görülmüştür. Hayvanların ağırlık artışı karşılaştırıldığında gruplar arası belirgin bir fark gözlenmemiştir. Toplam kalori artışı gözlemlendiğinde glukoz ve sükroz içenin yüksek olduğu bulunmuştur. İştah hormonu leptinin glukoz ve sükroz grubunda daha yüksek olduğu fruktozun ise kontrole yakın olduğu görülmüştür. Serum insülin düzeyi karşılaştırıldığında ise en fazla artışın fruktoz grubunda olmakla beraber kontrolden çok fazla farklı olmadığı anlaşılmıştır. Kan glukoz düzeyi ise gruplar arası çok belirgin bir fark göstermemiştir. Trigliserit düzeyi ise şeker içen üç grupta da yüksek bulunmuştur.⁶⁸

Yirmibeş günlük Wistar erkek sıçanlara içme suyu içinde %30 sukroz verildikten sonra 4-6-12-18 ay boyunca izlenmiştir. Bu süre sonunda hayvanların aortasında 40 mM KCl etkisi araştırılmış ve cevapların ilk altı ay süresi içinde arttığı sonraki aylarda ise kontrol hayvanların cevabına benzer olduğu bulunmuştur. Sistolik kan basıncı değerlerinin ise 4. ve 6. ayda yüksek olduğu sonraki zaman içinde normale döndüğü gösterilmiştir. Trigliserit düzeyi ise izleme periyodu boyunca yüksekliğini korumuştur. İnsülin düzeyleri ilk 12 ay boyunca yüksek seyrederken 18. ayda kontrol düzeyine dönmüştür.⁶⁹

2.3.Resveratrol

Resveratrol ilk kez 1940 yılında *Veratrum grandiflorum* bitkisinin köklerinden daha sonra 1963 yılında geleneksel Çin ve Japon tıbbında ilaç olarak kullanılan *Polygonum cuspidatum* adlı bitkinin köklerinden izole edilmiştir. Bu bileşik bitkiler tarafından strese yanıt olarak üretilir ve normalde fazla miktarda üretilmez. Resveratrol, kimyasal olarak flavonoid yapıda, polifenolik, steroid olmayan bir bileşik olup, estrogen benzeri biyolojik aktiviteye sahiptir. Resveratrol (3, 5, 4'-trihidroksitilben)

cis ve trans izomerleri bulunan stilben sınıfına ait sekonder bir bitki metabolitidir (Şekil 4). Trans izomerlerinin biyolojik aktivitelerinin cis izomerlerine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.⁷⁰ Trans resveratrol yapı olarak dietilstilbestere ve 17 β -estradiol'e benzemektedir ve estrogenik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir.⁷¹



Şekil 4: Resveratrolün cis ve trans izomerleri gösterilmiştir. Resveratrol-3-sülfat ve Resveratrol-3-O-glukronid resveratrolün metabolitleridir. Resveratrol-3-O- β -D-glukozid resveratrolün biyoyararlanımını artıran glikolize formudur.^{70,71}

2.3.1 Resveratrolün farmakokinetiği, biyoyararlanımı ve metabolizasyonu

Resveratrolün büyük kısmı jejunumdan, bir kısmıda ileumdan emilir. Vücuda giren resveratrolün çoğu glukuronid ve sülfat formlarına konjuge edilir(Şekil 4). Resveratrol besinlerde cis ve trans şeklinde bulunur. Glukozile formu 3-O-β-D-glukozidtir(şekil 4). Glukozilasyon resveratrolün enzimlerle oksidasyonunu önler ve böylece biyolojik etkinliğini korur ve biyoyararlanımını artırır.

Resveratrolün hidrofilik konjuge hale gelmesi kana geçişini, vücutta dağılımını ve atılımını kolaylaştırır. Resveratrol ve metabolitleri karaciğer ve safra kesesi tarafından kandan süzülerek safra ile bağırsaklara atılır. Buradan geri emilir. Resveratrol oral yolla alındıktan kısa süre sonra kolonda bulunabilmesine rağmen dokulara geçmesi birkaç saat sürebilir. Resveratrol, karaciğer ve duodenumda metabolize olur. Karaciğerde glikuronatlanır. Duodenum ve karaciğerde ise sülfatlanır. Sülfatla konjugasyon resveratrolün biyoyararlanımında hız sınırlayıcı basamaktır. Diyetle alınan oral dozun % 70'i plazmada resveratrol ve konjugatları şeklinde tepe noktaya erişir. Resveratrolün yarı ömrü yaklaşık dokuz saattir. Değişmemiş resveratrol çok çok az miktarda plazmada saptanır.⁷²

Resveratrolün hücre içi reseptörleriyle ilgili bilinen çok azdır. Bir çalışmada aril hidrokarbon reseptörüne bağlanan digoksinin kompetitif antagonist olabileceği gösterilmiştir. Resveratrol insan estrogenleri ile bazı yapısal benzerlikler göstermektedir ve estrogen reseptörüne bağlanabilmektedir. Bu durumu destekleyen bir çalışmada resveratrolün estrogen reseptörleri arasındaki bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir.⁷³

Resveratrolün atılımı plazmada bulunan resveratrolün konsantrasyonuna bağlıdır. İdrarda genellikle konjuge formda bulunur böbrekte ise daha çok konjuge olmamış şekildedir.⁷⁴

2.3.2 Resveratrolün antioksidan etkisi

Resveratrolün doğal antioksidan etkisini koenzim Q ile yarışarak ve radikal oksijen türleri oluşan yerlerde oksidasyonu azaltarak, mitokondride oluşan süperoksit radikalini yakalayarak, lipid peroksidasyonunun inhibe ederek gösterir. Resveratrolün hem süperoksit hem de hidroksil radikalini tutucu etkisinin olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Resveratrolün invivo antioksidan etkisi invitro göre daha fazladır. Bunun nedeni resveratrolün invivo ortamda nitrik oksitin sentezini artırmasıdır.⁷⁵ Resveratrolün lenfositlerinde hidrojen peroksit ile aktive olan insan glutatyon miktarını arttırdığı gösterilmiştir.⁷⁶

2.3.3 Resveratrolün metabolik sendrom üzerine etkisi

Sıçanlara fruktoz verilerek oluşturulan hipertansiyonun, resveratrol tedavisi sonunda belirgin olarak azalmıştır. Bununla beraber mezenterik arterdeki eNOS aktivitesindeki artış ve lipid peroksidasyonunda da bir azalma gözlenmiştir.⁷⁷ Bir çalışmada resveratrolün, hücresel glutatyon düzeyini ve glutatyon-S-transferaz aktivitesini artırdığı gösterilmiştir. Çalışmanın devamında ise yüksek glukoz ile indüklenen reaktif oksijen türlerinin oluşumunu önlediği bulunmuştur.⁷⁸ Bu çalışmayla paralel olarak obez Zucker sıçanlarda, glukoz verilmesiyle ortaya çıkan iskemik kardiyomiyopati ve reperfüzyon aritmileri resveratrol tedavisinden sonra belirgin bir şekilde azalmıştır. Ayrıca, glukoz taşıyıcı GLUT-4 ekspresyonunda artış gözlenmiş ve insülin

düzeylerinde anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır.⁷⁹ Spontan hipertansiyonlu sıçanlara içme suyu içinde 28 gün süre ile resveratrol(4.48 mg/L) verildiğinde, kan basıncında önemli bir değişiklik oluşturmadığı, ayrıca asetilkolinin endotel-bağımlı gevşeme cevaplarını artırdığı gözlenmiştir.⁸⁰ Aşırı yağlı diyetle beslenen sıçanlarda, oluşan metabolik sendrom sonucu ortaya çıkan hipertansiyon ve endotel fonksiyon bozukluğunun ve 8 haftalık resveratrol (20 mg/gün) tedavisi sonucu önemli ölçüde düzeldiği saptanmıştır.⁸¹ Başka bir çalışmada fareler yüksek kalorili diyetle tabi tutulmuş, yemle beraber resveratrol (22 mg/kg) verilmesinin ardından karaciğerde yağ akümülyasyonunun azaldığı görülmüştür. Ayrıca, farelerin mitokondri sayılarının, insülin duyarlılığının ve yaşam sürelerinin arttığı gözlenmiştir.⁸² Başka bir araştırmada, standart yem ile beslenen genç farelere resveratrol verilmesinin yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir. Resveratrolün diyet kısıtlaması benzeri bir tablo ortaya çıkardığı görülmüştür. Ayrıca, yaşlanmayla ortaya çıkan endotel fonksiyon bozukluğunu düzenlediği gösterilmiştir.⁸³ Farelerde aşırı yağlı diyetle oluşturulan metabolik sendromda, resveratrolün insülin direnci ve obeziteyi azalttığı bulunmuştur.⁸⁴ Resveratrolün mitokondri biyogenezini artırarak enerji metabolizmasını düzenlediği ayrıca kalp ve nöronal hastalıklarla ilgili olumlu etkilerinin olduğu bulunmuştur. Bununla paralel olarak resveratrolün yaşlanma ve şişmanlık sonucu ortaya çıkan bozulmuş metabolik tabloyu düzeltebileceği, birçok çalışmada gösterilmiştir.^{82,84}

2.3.4 Resveratrolün diyabet üzerine etkisi

Diyabet, başta kardiyovasküler hastalıklardan birçok hastalığı hızlandıran bir durum olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Özellikle kardiyovasküler hastalıklardan anjina pektoris, akut miyokard infarktüsü ve ateroskleroza tetiklemiştir. Oksidatif stresin arttığı diyabet, ateroskleroz, hipertansiyon, koroner kalp hastalığı ve yaşlanma gibi durumlarda endotel

fonksiyonun ve damar düz kas cevaplarının azaldığı bildirilmiştir.⁸⁵ Diyabetle ilgili endotel fonksiyon bozukluğunu inceleyen araştırmalar, eNOS ekspresyonu ya da NO dengesinin bozulmasıyla NO'nun oksijen radikalleriyle parçalanmasının artması ve reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumu oranında bir dengesizlik sonucu, damarın fizyolojisinin bozulduğunu ileri sürmektedir. Hastalığın süresi ve deneysel modellerdeki farklılıklar eNOS ekspresyonunda farklılıklara yol açmıştır. Antioksidanlarla tedavi sonucunda, glukoz dengesi bozulmadan olası protein glikasyonlarını harekete geçirilerek reaktif oksijen aracılı yolların oluşumunun önüne geçilmiş ve sonucunda da endotel fonksiyonunu koruduğu görülmüştür.^{86,87} Bununla birlikte eNOS ekspresyonu ve NO dengesinin bozulmasıyla serbest oksijen türlerinin oluşumunun tetiklenmesinde ve sonucunda endotel fonksiyon bozukluklarının oluşumunda NAD(P)H oksidazın önemli bir rolü olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, NAD(P)H oksidaz artışı ile damar endotel ve düz kas hücrelerinde süperoksit oluşumunun arttığı görülmüştür.⁸⁸ Sığır aorta endotel hücreleri kullanılmış bir çalışmada, resveratrolün yüksek doz glukoz ile artırılmış oksidatif stres üzerine etkisi araştırılmıştır. Grup olarak düşük glukoz (7 mM) yüksek glukoz (30 mM) ve yüksek glukoz (30 mM) ile birlikte resveratrol (10 µM) grupları karşılaştırılmıştır. Sonuçta resveratrolün, yüksek glukoz ile artırılmış reaktif oksijen türleri oluşumunu glutatyon düzeyini ve glutatyon-S-transferaz aktivitesini artırarak önlediği bulunmuştur.⁷⁸

Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş Sprague-Dawley sıçanların izole kalplerinde, resveratrol tedavisi sonrası iskemik alan genişliği belirgin ölçüde azalmıştır. Bu çalışmada resveratrolün kan şekerinde bir miktar düşüğe neden olduğu fark edilmiş fakat anlamlı bulunmamıştır.⁸⁹ İntravenöz streptozosin enjeksiyonu (60 mg/kg) ile diyabet oluşturulmuş sıçanlar üzerinde yapılmış başka bir çalışmada resveratrolün doza bağlı olarak plazma glukoz ve lipid düzeylerini

düşürücü etkisi olduğu anlaşılmış ayrıca bu çalışmanın devamında resveratrol vücut ağırlığında düşüş, polifaji ve polidipsi gibi diyabetin genel belirtilerinde olumlu etkiler göstermiştir.⁹⁰ Streptozosin (60 mg/kg) ile diyabet oluşturulmuş sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, lipid peroksidasyonunu incelenmiş ve resveratrol verilen diyabetik grupta kontrol grubuna oranla lipid peroksidasyonunu gösteren malonaldehit ve ksantin oksidaz düzeylerinin, anlamlı olarak düştüğü ayrıca glutatyon düzeyinin de arttığı gözlenmiştir.⁹¹ Bir çalışmada, resveratrolün doza bağımlı hipoglisemik etkisi olduğu ve resveratrol hem kontrol hem de diyabetik gruplarda insülin düzeyini artırdığı görülmüş ayrıca nikotinamid (200 mg/kg) i.p. uygulanması sonrası streptozosin (60 mg/kg) ile insülin bağımsız diyabet oluşturulan grupta, resveratrol uygulamasının 90 dakika sonrası, plazma glukoz düzeyi anlamlı oranda düşmüştür.⁹²

Diyabette kreatinin ve üre klerensinin azalması şekliyle oluşan nefropatide ve böbrekte SOD ve katalaz enzim azalması ve malondialdehit artışında, resveratrol ile önemli ölçüde bu değerleri normale döndürmüştü fakat artan şeker düzeyine anlamlı bir etkisi olmamıştır.⁹³ Buna paralel bir çalışmada, diyabetik sıçanlarda, resveratrol tedavisinin karaciğer ve böbrek dokularında karbonhidrat metabolizmasındaki artmış olan enzimleri düzenlediği bulunmuştur.⁹⁴

2.3.5 Resveratrolün kan lipid profili üzerine etkisi

İlk olarak kırmızı şarabın polifenolik bileşiklerinden olan resveratrolün, epikateşin ve kersetinin karşılaştırıldığında, resveratrolün epikateşin ve kersetinden daha güçlü bir şekilde DDL (düşük dansiteli lipoprotein) peroksidasyonunu azalttığı fark edilmiştir.⁹⁵ Resveratrolün DDL peroksidasyonunu önleyici bu etkisinin antioksidan etkisinden kaynaklandığı anlaşılmıştır.⁹⁶ Resveratrol, koroner bypass materyali olarak

kullanılan internal meme arterinde, bazal ve NAD(P)H ile uyarılan süperoksit oluşumunu kuvvetli bir şekilde azaltarak arterin endotel aktivitesini artırmıştır.⁹⁷ Diyet içinde resveratrolün (50-100 ppm) 20 gün boyunca alınmasının DDL ve ÇDDL (çok düşük dansiteli lipoprotein) düzeylerini düşürdüğü görülmüş ayrıca fecesle atılan safra asitlerindeki artış da bu durumu desteklemiştir.⁹⁸ Başka bir çalışmada erkek Sprague-Dawley sıçanlarına 8 hafta boyunca, %2'lik kolesterol diyetiyle beslenen sıçanlara, bu süre sonunda 2 hafta boyunca günlük oral resveratrol(20 mg/kg) uygulaması yapılmış daha sonra resveratrol grubunda kontrol grubuna oranla ölçülen serum total kolesterol, trigliserit ve DDL düzeylerinin, anlamlı ölçüde düştüğü görülmüştür.⁷¹ Başka bir çalışmada insan meme arteri üzerinde, 20 dakikalık sürelerde resveratrolün 1, 10 ve 20 µM konsantrasyonlarda uygulanmasıyla sonucunda, lipid peroksidasyonu, laktat dehidrojenaz ve malonaldehit aktivitesinde bir azalma görülmüştür.⁹⁷

2.3.6 Resveratrolün Vazodilatör Etkisi

Resveratrolün etkili bir vasküler düz kas gevşetici olduğu düşünülmektedir. Bir çalışmada endotelli sıçan aortasında resveratrolün noradrenalin ve fenilefrin ile oluşan kasılmaları inhibe ettiği gösterilmiştir. Resveratrolün endotelsiz dokularda da gevşeme oluşturduğu gösterilmiştir.⁹⁹ Resveratrolün(5-70 µM), dişi kobay mezenterik ve uterus arterlerinde yapılan bir çalışmada, noradrenalin (10 µM) veya KCl (125 mM) ile prekontrakte edilen dokularda gevşeme cevaplarını artırdığı gösterilmiştir. Nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü L-NAME (10 µM) ile uterus arterinde gevşeme cevapları anlamlı olarak azalmıştır. İndometazin (50 µM) ise resveratrolle oluşan gevşemeleri bloke etmemiştir. Bu da resveratrolün gevşetici etkisinin prostaglandin aracılı olmadığını olduğunu göstermiştir.¹⁰⁰ Bu çalışmadan sonra obez ve normal sıçan mezenterik

arterlerinde yapılan bir çalışmada, noradrenalin (8 μM) veya KCl (125 μM) ile kastırılan endotelli aortalarında resveratrol (5-35 μM) konsantrasyon bağımlı gevşeme meydana getirmiştir. L-NAME (100-300 μM) ile normal sıçanların endotelli aortasında resveratrolün oluşturduğu gevşeme cevapları kısmen inhibe olmuştur fakat obez sıçanların endotelli aortasında resveratrolün oluşturduğu gevşeme cevapları etkilenmemiştir. Resveratrolün oluşturduğu gevşeme, obez sıçan aortasında endotel hasar yapılmasına rağmen ortadan kalkmamıştır bu da gevşeme cevaplarının obez sıçanlarda endotelden ve NO'den bağımsız olduğunu göstermiştir.¹⁰¹ Başka bir çalışmada resveratrolün insan umbilikal ven endotel hücresinde Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} akımları üzerinde tetikleyici etkilerinin olduğu bulunmuştur. Daha sonra resveratrolün Wistar sıçan aortasında vazodilatör etkisinin endotel bağımlılığını incelemiş ve resveratrolün endotel bağımlı gevşetici etkisinin, vasküler NADH/NADPH oksidaz inhibisyonuyla bazal hücre süperoksit radikal oluşumunun azalmasıyla ilgili olduğu bulunmuştur.¹⁰² İnsan safen ven ve internal meme arterinde (İMA) yapılan bir çalışmada resveratrol ile noradrenalin kasılmalarının anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür. Resveratrolün safen vende bir miktar, İMA da ise büyük ölçüde endotel bağımlı ve NO aracılıklı vazodilatasyon oluşturduğu ve resveratrolün endotel işlevini artırdığı gösterilmiştir.¹⁰³ Bu çalışmalar sonucunda resveratrolün endotel bağımlı gevşetici etkisinin nitrik oksit aracılıklı olduğu bulunmuştur. Burada kısaca nitrik oksite değinmek gerekirse bilindiği üzere nitrik oksit proteinlerin parçalanması sonucu hücre içinde hazır bulunabildiği gibi endojen olarak da L-arjininden de sentezlenebilmekte ya da dış kaynaklardan sağlanabilmektedir. Nitrik oksit basit yapılı bir gaz olup depolanmaya uygun değildir. Hedef moleküle kovalen olarak bağlanır. Hücre içi klasik bir reseptör bölgesi yoktur. Nitrik oksit guanilil siklaza bağlanarak siklikguanozin monofosfat (sGMP) miktarını artırır. Bu artış düz kas gevşemesine neden olur. Antitrombositler, antimitojenik, sitotoksik ve vazodilatör etkilerini de cGMP aracılığıyla yapar. Ayrıca, hücre içi kalsiyum düzeylerini de azalttığı bulunmuştur.

Başka bir çalışmada, resveratrol doz bağımlı olarak KCl (1-50 μ M) kontraksiyonlarını inhibe etmiştir. Resveratrol (30 μ M) tedavisiyle doz-cevap eğrisi sağa kaymış ve E_{maks} değeri ise azalmıştır. Ayrıca, resveratrolün kalsiyum antagonisti özelliğe sahip olduğu ve voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından ekstraselüler kalsiyum geçişini inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, endotelsiz sıçan aortasında KCl (10-60 mM) ile stimüle edilen kontraksiyonları inhibe etmiştir. Kalp kapağı endotelinde de resveratrolün kalsiyum üzerine etkisi incelenmiştir. Resveratrolün endotel bağımlı gevşetici etkisinin, endotel hücrelerinde $[Ca^{+2}]_i$ düzeylerindeki artışla ilişkili olduğu, fakat vasküler düz kas kontraksiyonun da inhibe edici etkisinin Ca^{+2} duyarlılığındaki azalmaya bağlı olarak gerçekleşebileceği belirtilmiştir.¹⁰⁴ Resveratrolün guanil siklaz enzimini stimüle ederek cGMP düzeylerini arttırdığı ve böylece resveratrolün endotel bağımsız gevşetici etkisinde olduğu ileri sürülmüştür.

Ca^{+2} duyarlılığındaki azalma ile cGMP artışı birbirleriyle ilişkilidir. Bu durum şöyle açıklanmıştır; cGMP, cGMP bağımlı protein kinaz mekanizması ile intraselüler kalsiyum düzeylerinde azalmaya neden olmuştur. Ayrıca, miyozin hafif zincir kinaz fosforilasyonunun inhibisyonu, potasyumun hücre dışına atılması ve membran repolarizasyonunda artışla damarlarda gevşeme meydana gelmiştir.¹⁰⁵ Endotelsiz sıçan aortasının 1 μ M fenilefrinle ve endotelsiz İMA'nın 10 μ M fenilefrinle kontraksiyonunda resveratrolün (1-100 μ M) konsantrasyon aralığında doz bağımlı gevşeme oluşturduğu (E_{maks} : $100\pm 1\%$, EC_{50} : 5.30; E_{maks} $83\pm 1\%$, EC_{50} : 4.38) ve bu gevşemede voltaj bağımlı potasyum kanallarının etkisini olduğu gösterilmiştir.¹⁰⁶

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hayvanlar ve diyet:

Bu çalışmanın deneysel protokolü Gazi Üniversitesi Hayvan Etik Komitesinin 09/06/2009 tarihli ve G.Ü.ET-09.047 nolu onayı doğrultusunda yapılmıştır. Deneylede, 10 haftalık, 180–220 g ağırlığındaki erkek Wistar türü sıçanları kullanılmıştır. Sıçanlar Gazi Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Satış merkezinden temin edilmiştir. Deneylede 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyoduna uyulmuş, sıcaklığı 21–24 °C olarak ayarlanmış bir ortamda tutulmuştur. Hayvanların tümü 10–12 hafta boyunca standart sıçan yemi ile beslenmiştir. (Kuru madde: %88, protein:%23, selüloz:%7, ham kül:8 HCl'de çözülmeyen kül:%2, kalsiyum:%1.5, fosfor:%0.9, sodyum:0.7, tuz (NaCl):%1, metiyonin:0.3, lizin:1) İçme suyu olarak kontrol gruplarına çeşme suyu, fruktoz gruplarına çeşme suyunda çözülmüş %10 ve %20 fruktoz, kontrol resveratrol grubuna 50 mg/L konsantrasyonda resveratrol, fruktoz (%20) ile birlikte resveratrol (50 mg/L) alan gruba ise içme suyu içinde %20 fruktoz ve 50 mg/L resveratrol verilmiştir. Hayvanların içtikleri suya ve yedikleri yeme kısıtlama getirilmemiştir. Resveratrolün ışıktan bozulmasını önlemek için şişeler alüminyum folyo kaplanarak ya da koyu renk boya ile boyanarak korunmuştur. Resveratrol ve %20'lik fruktoz içen grupta sıçanlara 2 haftalık resveratrol alımından sonra fruktoz başlanmıştır. Hayvanların günlük içtikleri su miktarları sabah akşam kontrol edilmiştir. Ağırlık ölçümleri 0,1,3,7,10. haftalarda her bir sıçan için ayrı yapılmıştır. Sıçanlar, karbonmonoksit ile sakrifiye edildikten sonra kalpten alınan kanla kan glukoz düzeyi arka arkaya üç kez Accu-check Go cihazıyla ölçülmüş daha sonra kan ve doku örnekleri alınmıştır.

Deney grupları aşağıda gösterilmiştir:

Grup 1: kontrol (genç)

Grup 2: kontrol (yaşlı)

Grup 3: İçme suyu içinde 50 mg/L resveratrol verilen (resveratrol)

Grup 4: İçme suyu içinde %10 fruktoz alan (fruktoz 10)

Grup 5: İçme suyu içinde %20 fruktoz alan (fruktoz 20)

Grup 6: İlk 2 hafta içme suyu içinde 50 mg/L resveratrol alan sonra içme suyu içinde %20 fruktoz ile birlikte 50mg/L resvaratrol alan (resveratrol+fruktoz 20)

3.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler (fenilefrin, anjiyotensin II) Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)'dan, trans-resveratrol Sigma ve Herb-Tech (China)'dan, Fruktoz Cargill kimyasallarından, sağlanmıştır. Diğer kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Merck, Tocris ve Serva firmalarından sağlanmıştır. Ölçüm kitleri olarak İnsulin kiti, Mercodia firmasından sağlanmıştır.

Krebs çözeltisi (mM): NaCl :118, KCl :4.73, KH₂PO₄: 1.2, MgSO₄: 1.2, CaCl₂: 2.5, NaHCO₃: 25, Glukoz: 11 EDTA: 0,026 dan oluşmaktadır.

3.3 Kullanılan Araç ve Gereçler

3.3.1 İn-vitro İzole Organ Banyosu Deneyleri

- Çift cidarlı izole organ banyosu (EMKA, Technologies, Paris)
- Gerim ileticisi (EMKA, Technologies, Paris)
- Amplifier (EMKA, Technologies, Paris)
- Bilgisayar kontrollü özel kaydedici sistem (EMKA, Technologies, Paris)
- Sirkülasyonlu su banyosu
- %95 O₂ ve %5 CO₂ içeren gaz karışım tüpü

3.3.2 Serum İnsülin ve Lipit Düzeyi Ölçümü

- Soğutmalı santrifüj (High Speed Brushless Centrifuge MPW 350R)
- Soğutucu (-85 °C) (Sanyo –MDF-U5186S)
- Mercodia Rat Insulin Elisa 10-1124-01

3.3.3 Sistolik Kan Basıncı Ölçümü

- Tail-Cuff, BIOPAC Systems, NIBP200A

3.3.4 Kan Glukoz Düzeyi Ölçümü

- Kan glukoz ölçüm cihazı (Accu-Chek Go Roche)

3.4 Kullanılan Yöntemler

3.4.1 Sıçan Aorta Halkalarının Alınışı ve İn-vitro İzole Organ Banyosu Deneyleri

Karbonmonoksitle sakrifiye edilmiş sıçanlar karın boşluğundan başlayıp göğüs kafesi açılarak torasik aorta izole edilmiştir ve bekletilmeden soğuk krebs çözeltisi içeren petri kabına konulmuştur. Petri kabına konulan torasik aorta çevre dokularından endotele zara vermeyecek şekilde temizlendikten sonra 3 mm lik halkalar halinde kesilmiştir. Aorta halkaları paslanmaz çelik kancalara takılmıştır. Daha sonra 5ml lik izole organ banyosuna yerleştirilmiştir. Dokular %95 O₂ ve %5 CO₂ karışımı ile havalandırılan 37°C'deki Krebs çözeltisi içinde yaklaşık 1 g lık gerim altında 1-1.5 saat süreyle dengelenmeye bırakılmıştır. Bu süre boyunca banyolar her 15 dk bir yıkanmıştır. Her

halka yalnızca bir kez kullanılmıştır. Dokuların gerimindeki değişimler transducer (EMKA, Technologies, Paris, gerim ölçer) aracılığıyla bilgisayara kaydedilmiştir.

3.4.2 Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları

Dokular organ banyosuna asıldıktan sonra 1.5 saatlik dengelenmeye bırakılmıştır. Daha sonra 40 mM KCl uygulaması yapılmıştır. Platoya geldikten sonra yıkama yapılarak baselineye gelmesi sağlanmıştır. KCl uygulaması üç defa tekrarlanmış ve benzer kasılma cevabı gösteren dokularda deney protokolüne geçilmiştir.

Fenilefrinin (10^{-9} - 10^{-4} M) artan konsantrasyonlarda kümülatif verilmiştir ve her dozda kasılma platoları net bir şekilde görülmeden diğer doza geçilmemiştir.

Anjiyotensin II dokulara 1.5 saatlik dengeye gelme periyodundan sonra 10^{-10} - 10^{-5} M artan dozlarda kümülatif olarak verilmiştir. Dozlar uygulanırken bekleme süresi fenilefrine göre nispeten bir daha fazla tutulmuştur bunun nedeni de AII' nin etkisini biraz daha geç göstermesidir. Platolar net bir şekilde görülmeden diğer dozlara geçilmemiştir.

3.4.3 Plazma insülin ve lipid düzeyi ölçümü

Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra intrakardiyak olarak alınan 2 cc kan örneği 2200 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Ayrılan plazma pastör pipeti ile alınarak ependorf tüplerine koyulmuş ve -85 °C'de dondurularak saklanmıştır. Plazma örneklerinde insülin, total kolesterol, YDL kolesterol, DDL kolesterol, ÇDDL kolesterol ve

trigliserit düzeyleri uygun enzimatik analiz kitleri kullanılarak Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarlarında ölçülmüştür.

3.4.4 Kan Glukoz Düzeyi Ölçümü

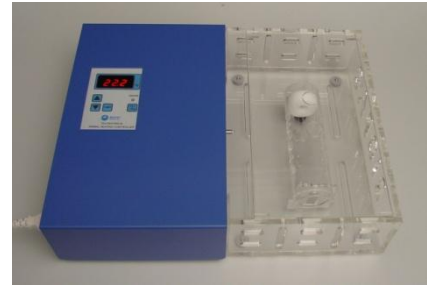
Sıçanların sakrifikasyonunun hemen ardından intrakardiyak olarak alınan kan örneklerinden bir kısmı glukoz ölçüm cihazı üzerine damlatılarak arka arkaya üçer defa ölçülmüştür. Yapılan ölçümler kaydedilerek ortalamaları alınmıştır.

3.4.5 Sistolik Kan Basıncı Ölçümü

Tüm deney gruplarındaki sıçanların sistolik kan basınçları; deneylerin başında ve izole organ çalışmaları için anestezi edilmeden hemen önce laboratuvarımızda bulunan kuyruktan kan basıncı ölçüm sistemi (Tail-Cuff, BIOPAC Systems, NIBP200A) ile gerçekleştirilmiştir



Noninvasif Kuyruktan Kan basıncı Sistemi
(NIBP200A/BIOPAC Systems)



Isınma kabini
(Animal Heating Chamber)

Şekil 5: Sistolik kan basıncı ölçümünde kullanılan sistem

Ölçümden önce sıçanlar ısınma kabini (Animal Heating Chamber)'ne alınarak vücut ve kuyruk ısılarının 32-33°C gelmeleri sağlanmıştır (10-15 dakika). Bu şekilde hazırlanan sıçanlarda, sistolik kan basıncı ve nabız sinyallerinin doğru ölçülebilmesi için düzenli ve sürekli kuyruk kan akışı olduğu bulunmuştur. Sıçanlar kuyruğu dışarıda kalacak şekilde vücutlarına uygun sıkıştırma kabini (Animal Holder)'ne alındıktan sonra kuyruğa manşon ve sensör takılarak ölçümlere başlanmıştır. Bu işlemlere hayvanların koşullanması, hareketsiz ve sakin kalabilmesi için gerçek ölçümlerden bir gün önce 1-2 kez alıştırmaya yapılmıştır.

3.5 İstatistik analiz

Fenilefrin ve anjiyotensin II sonuçları, fenilnefrin ve anjiyotensin II kasılmaları ile 40 mM KCl ile oluşturulan kasılmaya yüzde olarak oranı (relative tension) olarak gösterilmiştir. V (g) olarak gösterilmiştir. Sonuçlar, ortalama \pm standart hata olarak ifade edilmiştir. Maksimal kasılma ve gevşeme cevapları (E_{max}) ve potensler (EC_{50}) Prism 5.01 GraphPad programı kullanılarak non-linear curve fitting ile belirlenmiştir. Bütün deneylerde istatistik analiz, Student's t-test kullanılarak yapılmıştır. P değeri 0.05 den küçük ise, bulgu anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Deney hayvanlarının ağırlık, su tüketimi ve kan şekeri değerleri

Kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında hayvan ağırlıklarının belirgin bir şekilde farklı olduğu gözlenmiştir. Fruktoz içen grupta bariz bir kilo kaybı oluşmuştur. Fruktozun resveratrolle alımından sonra bu kilo kaybının nispeten azaldığı görülmektedir. Kan şekeri fruktoz içen gruplarda yüksek bulunmuştur. Fruktoz ve resveratrolü aynı anda alan deney grubunda bu yüksek şeker düzeyi normal düzeylere yaklaşmıştır. İçtikleri su miktarlarında da fruktoz içen gruplarda kontrol grubuna göre belirgin bir düşme olmuştur. Resveratrol alan grupta ise kontrol grubuna göre alınan su miktarında artış olduğu saptanmıştır. İçilen su miktarları sıçanların 100 gramının içtiği su miktarı cinsinden gösterilmiştir. Ölçümler her bir grupta 6-10 sıçan kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar (Tablo 2)' de gösterilmiştir.

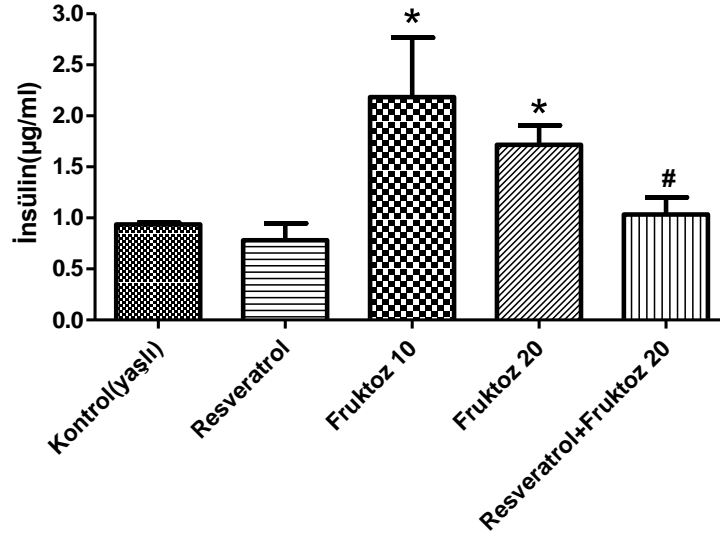
Tablo 2: Deneş gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıkları, kan şekeri ve günlük tükettikleri su miktarlarını gösteren tablo.

GRUPLAR	AĞIRLIK(g)	KAN ŞEKERİ (mg/dl)	GÜNLÜK TÜKETİLEN SU MİKTARI(ml/100g)
KONTROL (GENÇ)	190±5,7	178±11	19,35±1,4
KONTROL (YAŞLI)	320,6±17,8	180±12	18,71±1,5
RESVERATROL	338±21,2	165±6,5	25,89±1,4*
FRUKTOZ 10	305,6±30,6	217±33,5	19,09±1,2
FRUKTOZ 20	213±15,7*	265±32*	14,67±1,9*
RESVERATROL+ FRUKTOZ 20	255±24,6	195±7,1#	16,18±2,2

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=6-10, * p<0.05 kontrole (yaşlı) göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # p<0.05 Fruktoz 20 grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.2 Serum insülin düzeyleri

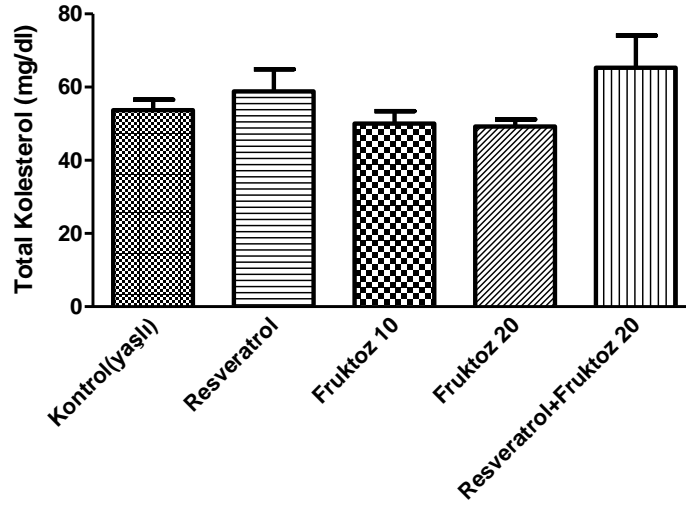
Kontrol, fruktoz, resveratrol ve resveratrol + fruktoz gruplarından alınan serum örneklerinin insülin seviyeleri karşılaştırıldığında fruktoz grubunun insülin düzeyinde anlamlı artış olduğu saptanmıştır (Şekil 6). Resveratrol tedavisinden sonra ise insülin düzeyinde görülen artışların azalarak normal değerler düzeyine indiği saptanmıştır. Kontrol hayvanlara resveratrol verilmesinden sonra insülin düzeyinde bir baskılanma görülmüş fakat bu baskılanma anlamlı bulunmamıştır.



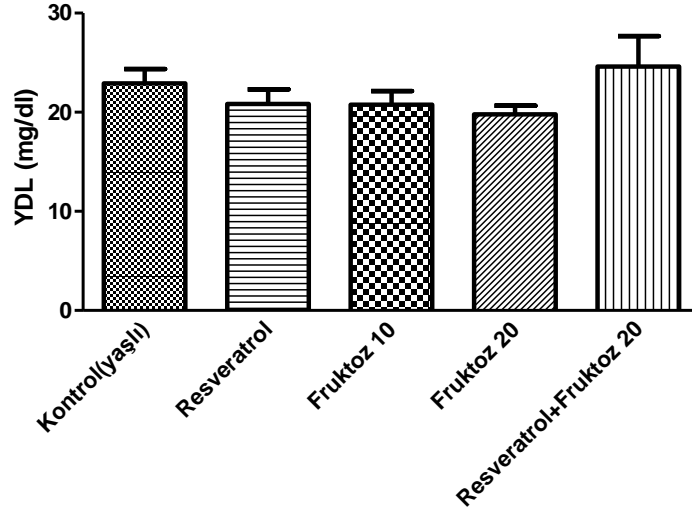
Şekil 6: Deney gruplarındaki serum insülin düzeyleri gösterilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p < 0.05$ Resveratrol + Fruktoz 20 ile Fruktoz 20 grubu arası istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir (n=6-10).

4.3 Serum lipid profili

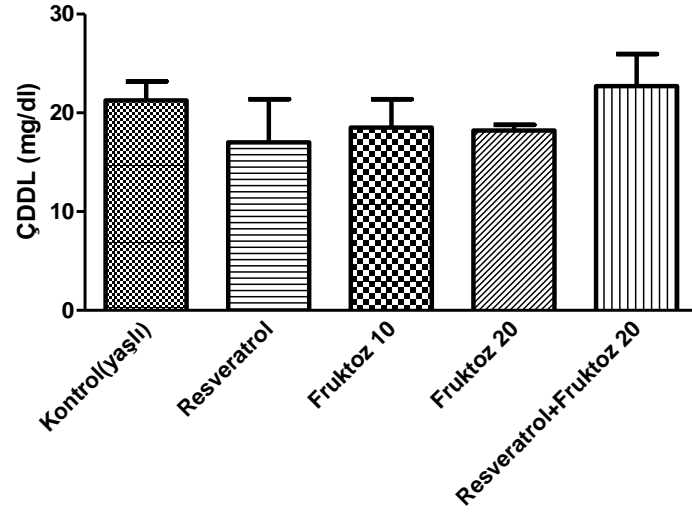
Kontrol ve deney gruplarının serum lipid düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Grupların total kolesterol (Şekil 7), yüksek dansiteli lipoprotein (YDL) (Şekil 8) ve çok düşük dansiteli lipoprotein (ÇDDL) (Şekil 9) düzeyleri gösterilmiştir.



Şekil 7: Deney gruplarındaki serum total kolesterol düzeyleri gösterilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir (n=6-10).



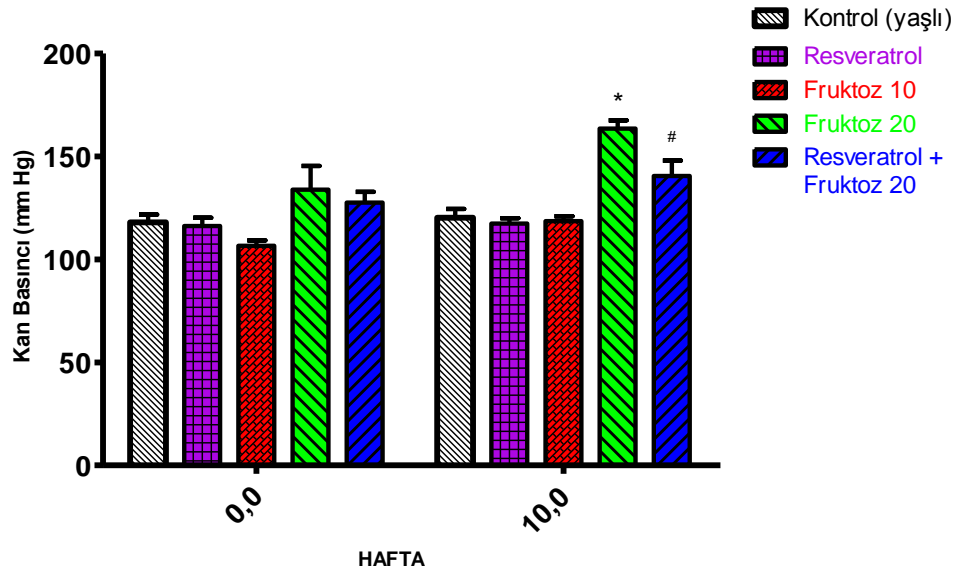
Şekil 8: Deney gruplarındaki serum YDL düzeyleri gösterilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir (n=6-10).



Şekil 9: Deney gruplarındaki serum ÇDDL düzeyleri gösterilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir (n=6-10).

4.4 Kan basıncı ölçümü

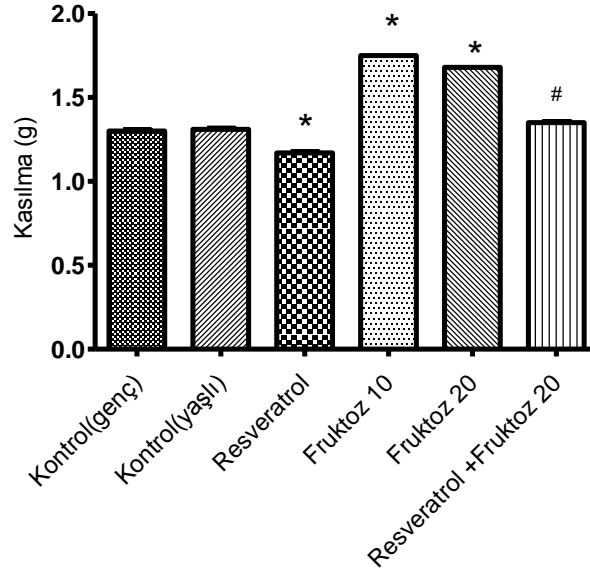
Kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında 10. Hafta sonunda kan basıncılarında %20 fruktoz içeren grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir yükselme olmuştur. Ayrıca, resveratrol tedavisi ile 10. hafta sonundaki artmış olan kan basıncı yükselmesi anlamlı bir şekilde normal değerlere yaklaşmıştır.(Şekil 10)



Şekil 10: Deney gruplarındaki 0. Hafta ve 10.hafta sonundaki kan basınçları sonuçları gösterilmiştir. İlaç vermeye başlanan hafta 0 olarak alınmıştır. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p < 0.05$ Fruktoz 20 grubu ile Resveratrol + Fruktoz 20 göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir (n=6-10).

4.5 Sıçan torasik aorta halkalarında 40 mM KCl'nin kastırıcı etkisi

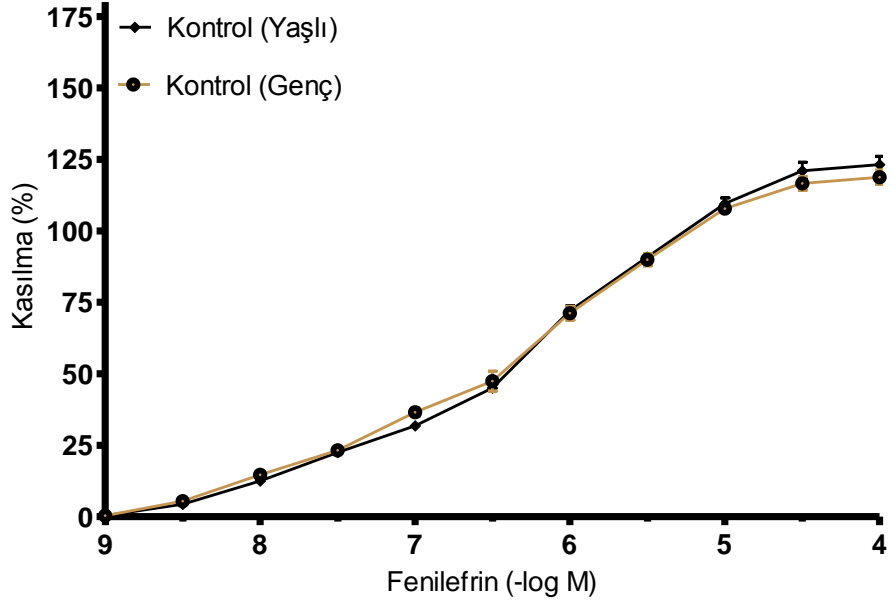
Potasyum klorürün (40mM) tek doz ardarda uygulanmasından sonra elde edilen absolute kontraksiyon değerleri (g) deney gruplarında karşılaştırıldığında alınan sonuçlar (Şekil 11)'de gösterilmiştir. Potasyum klorür cevaplarının kontrol genç ve yaşlı gruplar arasında anlamlı olarak değişmediği saptanmıştır. Resveratrol içiminin kontrol hayvanlarındaki KCl kasılmalarını anlamlı ölçüde azalttığı saptanmıştır. Fruktoz 10 ve fruktoz 20 gruplarının KCl kasılma cevapları kontrole göre çok belirgin şekilde artmıştır. Resveratrol verilmesi fruktoz 20 grubunda artan kasılma cevaplarını anlamlı şekilde azaltarak kontrol değerlerine geri döndürmüştür.



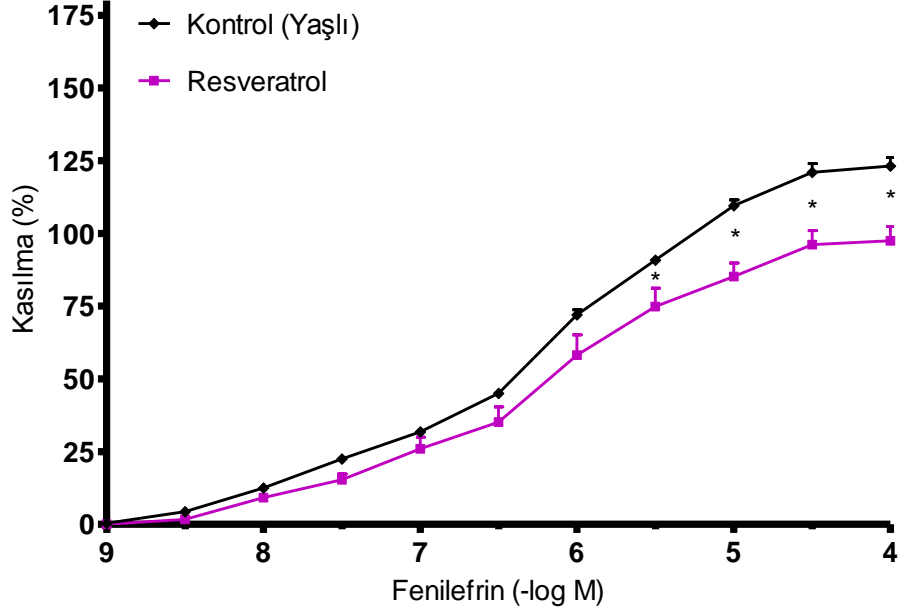
Şekil 11: Kontrol ve deney gruplarının endotelli aorta halkalarında KCl'nin (40mM) tek doz uygulanmasından sonra oluşturduğu kasılma yanıtları. Kasılma yanıtları gram cinsindedir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p < 0.05$ Fruktoz 20 grubu ile Resveratrol + Fruktoz 20 göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir (n:32-61).

4.6 Sıçan torasik aorta halkalarında fenilefrinin doz-cevap eğrisi

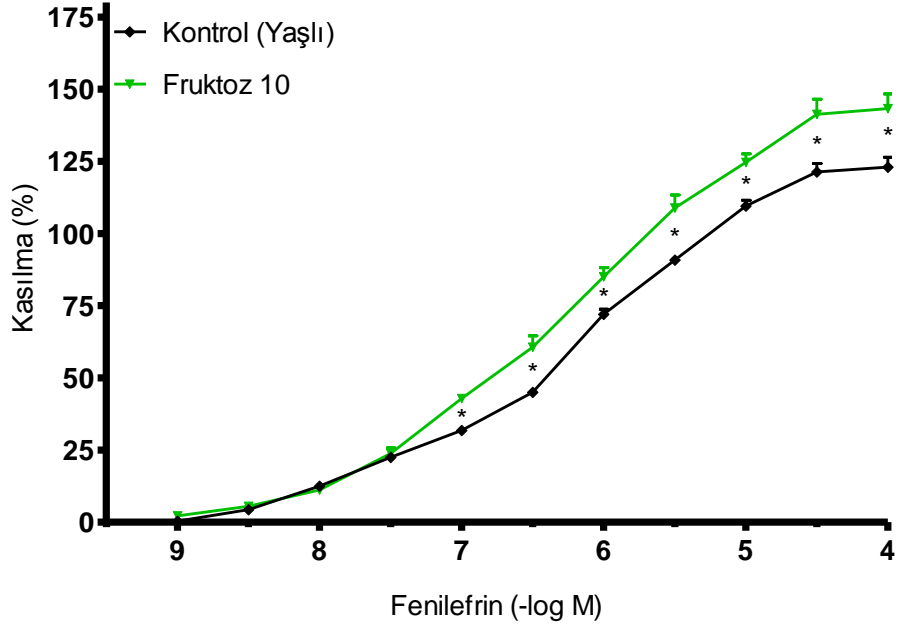
Dengelenme süresinden sonra kümülatif olarak uygulanan fenilefrin (10^{-9} - 10^{-4} M) sıçan aorta halkalarında konsantrasyona bağlı olarak kasılma cevapları oluşturmuştur. Fenilefrin doz-cevap eğrisi kontrol genç ve kontrol yaşlı hayvanlar arasında belirgin bir farklılık göstermemiştir (Şekil 12). Resveratrol içimi kontrol hayvanlarda fenilefrin doz-cevap eğrisini anlamlı ölçüde sağa kaydırmıştır (Şekil 13). Resveratrol içiminin fenilefrin cevapları üzerine bu etkisi E_{maks} düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Tablo 3). Fruktoz içen grupta fenilefrin doz-cevap eğrilerinin kontrole göre anlamlı bir şekilde sola kaydığı görülmüştür (Şekil 14 ve Şekil 15). Fruktoz içiminin fenilefrin kontraktıl cevapları üzerine bu etkisi E_{maks} düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Tablo 3). Resveratrol tedavisi yapılan grup Fruktoz 20 grubuyla karşılaştırıldığında, fruktoz içimiyle artan fenilefrin kontraksiyonlarının resveratrol tedavisinden sonra belirgin bir şekilde azalmış ve kontrol değerlerinin de altına inmiştir (Şekil 16). Resveratrolün bu etkisi hem EC_{50} hem de E_{maks} düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Tablo 3).



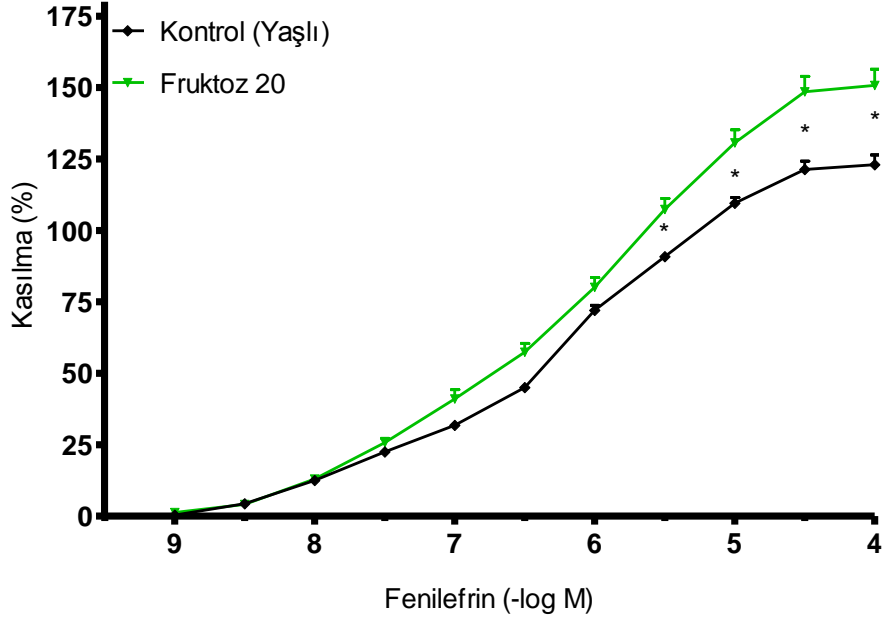
Şekil 12: Kontrol (genç) ile 10 hafta boyunca standart yem ve su alan grubun(yaşlı) endotelli aorta halkalarında fenilefrinin oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları. Sonuçlar, 40 mM KCl'nin oluşturduğu kasılmaların yüzdesi (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir ($p < 0.05$). $n=6-9$.



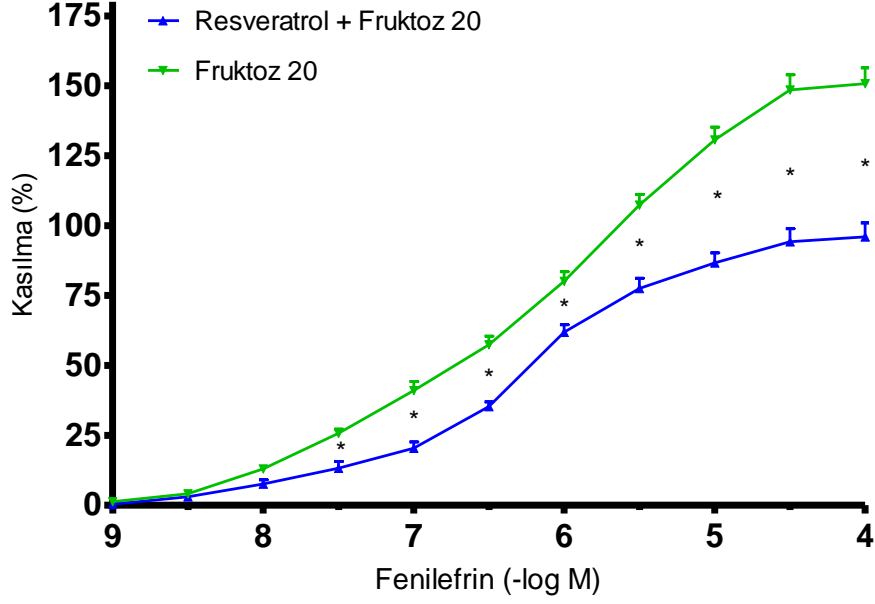
Şekil 13: Kontrol ve 12 hafta süre resveratrol (50 mg/L) içen sıçanların endoteli aorta halkalarının fenilefrinin artan dozlarda (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları. Sonuçlar, 40 mM KCl'nin oluşturduğu kasılmaların yüzdesi (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. n=6. * kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 14: Kontrol ve 10 hafta süre ile %10 fruktoz içeren sıçanların endoteli aorta halkalarının fenilefrinin artan dozlarında (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları. Sonuçlar, 40 mM KCl'nin oluşturduğu kasılmaların yüzdesi (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. n=6. * kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 15: Kontrol ve 10 hafta süre ile %20 fruktoz içen sıçanların endoteli aorta halkalarının fenilefrinin artan dozlarda (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları. Sonuçlar, 40 mM KCl'nin oluşturduğu kasılmaların yüzdesi (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. n=6-8. * kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir (p<0.05).



Şekil 16: Fruktoz %20 (10 hafta) + Resveratrol (50 mg/L, 12 hafta) uygulanmış gruplar ile sadece fruktoz %20 içeren grubun endotelli aorta halkalarında fenilefrinin oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları. Sonuçlar, 40 mM KCl'nin oluşturduğu kasılmaların yüzdesi (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. n=8-10. * Fruktoz 20 grubu ile Resveratrol + Fruktoz 20 göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

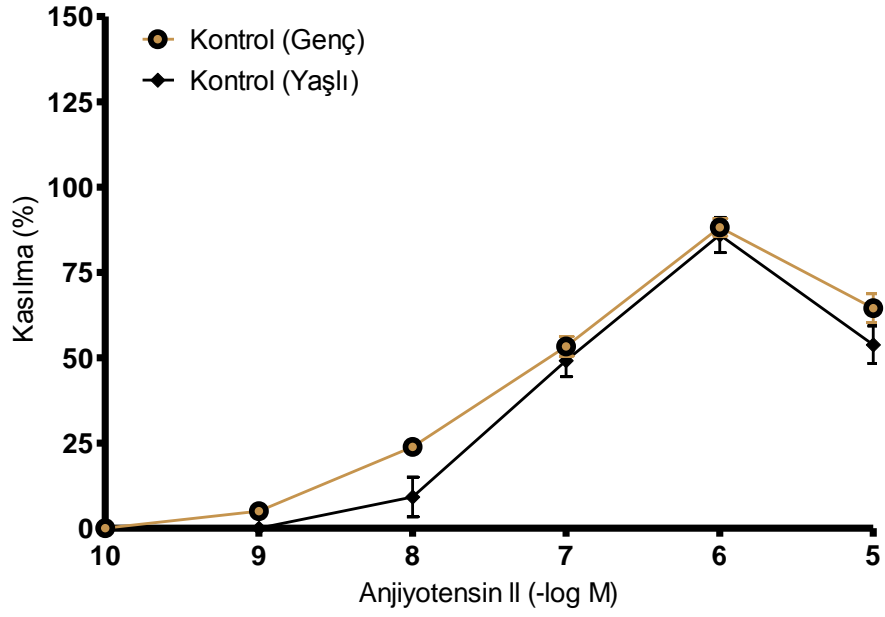
Tablo 3. Deney gruplarındaki sıçanların fenilnefrin'nin log EC₅₀ ve E_{maks} değerleri.

GRUPLAR	LOG EC ₅₀	E _{maks}	DENEY SAYISI (n)
KONTROL (GENÇ)	6,18±0,0583	131,3±3,719	9
KONTROL (YAŞLI)	6,09±0,047	134,7±3,103	6
RESVERATROL	6,15±0,124	104,8±6,278*	6
FRUKTOZ 10	6,21±0,069*	155,6±5,202*	6
FRUKTOZ 20	5,99±0,089 [#]	171,4±7,740 ^{**}	8
RESVERATROL+ FRUKTOZ 20	6,22±0,0632*	97,82±2,792*	10

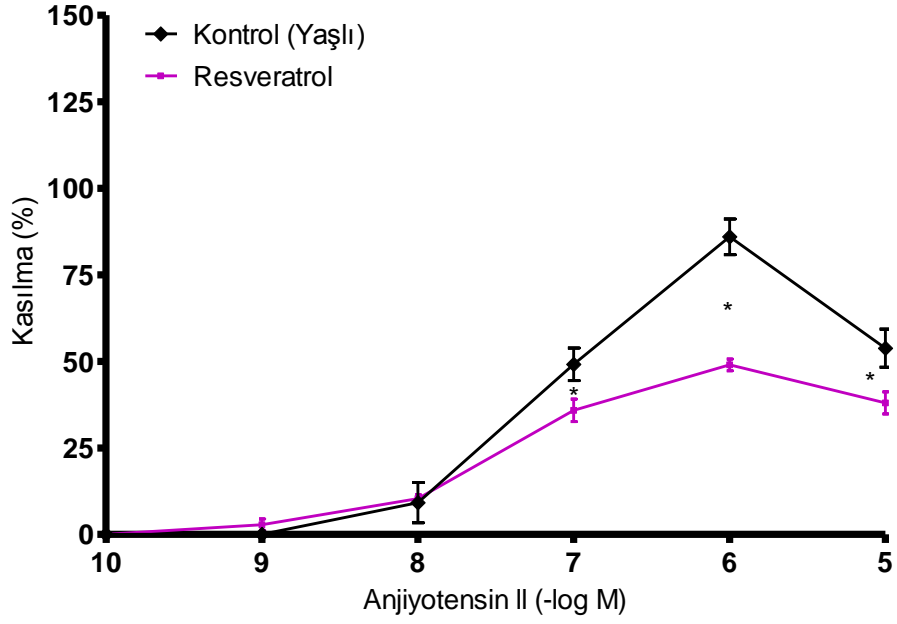
Değerler ortalama ±standart hata olarak ifade edilmiştir. Deney grupları 6-10 hayvandan oluşmuştur. * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # p<0.05 Fruktoz 20 grubu ile Resveratrol + Fruktoz 20 göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.7 Sıçan torasik aorta halkalarında anjiyotensin II'nin doz-cevap eğrisi

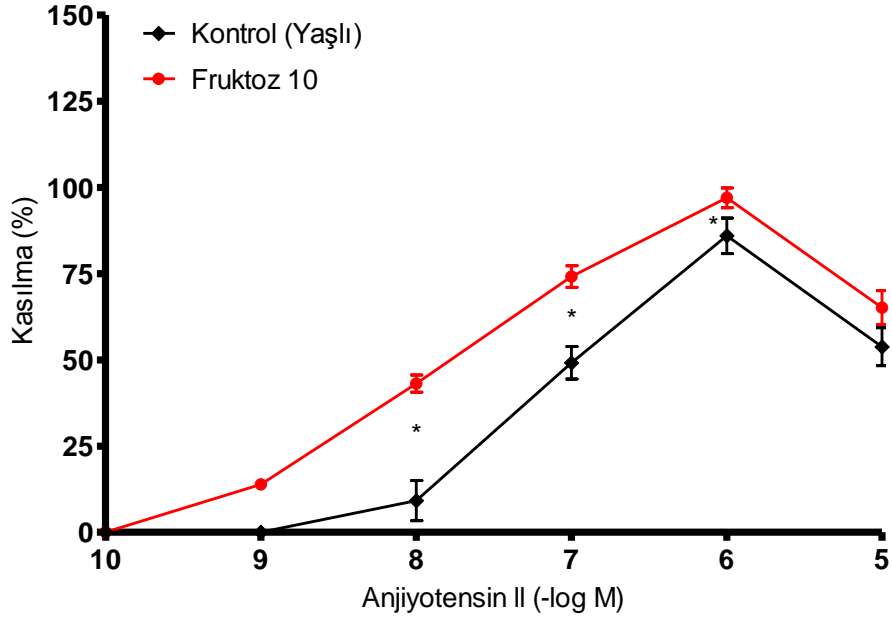
Dengelenme süresinden sonra kümülatif olarak uygulanan anjiyotensin II (10^{-10} - 10^{-5} M) sıçan aorta halkalarında konsantrasyona bağlı olarak kasılma cevapları oluşturmuştur. Genç ve yaşlı kontrol grubundaki hayvanların anjiyotensin II doz-cevap eğrileri karşılaştırıldığında belirgin bir fark olmadığı görülmüştür (Şekil 17). Kontrol grubundaki hayvanlara resveratrol verilmesinden sonra ise anjiyotensin II cevaplarında önemli ölçüde azalma olduğu gözlenmiştir (Şekil 18). Resveratrolün bu etkisi E_{maks} düzeyinde çok belirgin olarak ortaya çıkmıştır (Tablo 4). Fruktoz içen gruplarda anjiyotensin II doz-cevap eğrisinin anlamlı ölçüde sağa kaydığı izlenmiştir (Şekil 19 ve Şekil 20). Fruktozun anjiyotensin II doz-cevap eğrisi üzerindeki etkileri EC_{50} ve E_{maks} düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Tablo 4). Resveratrol tedavisi alan fruktoz grubunda ise anjiyotensin II kontraksiyonunda oluşturduğu artışlar büyük ölçüde azalmış ve normal değerlere yaklaşmıştır (Şekil 21).



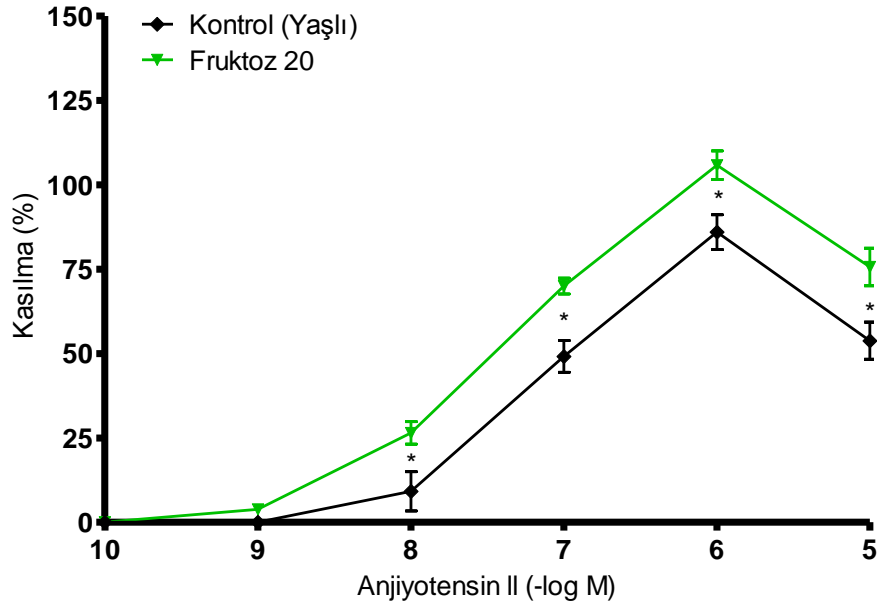
Şekil 17: Kontrol (genç) ile 10 hafta boyunca standart yem ve su alan grubun(yaşlı) endotelli aorta halkalarında anjiyotensin II'nin oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları. Sonuçlar, 40 mM KCl'nin oluşturduğu kasılmaların yüzdesi (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir ($p < 0.05$). $n=6-9$.



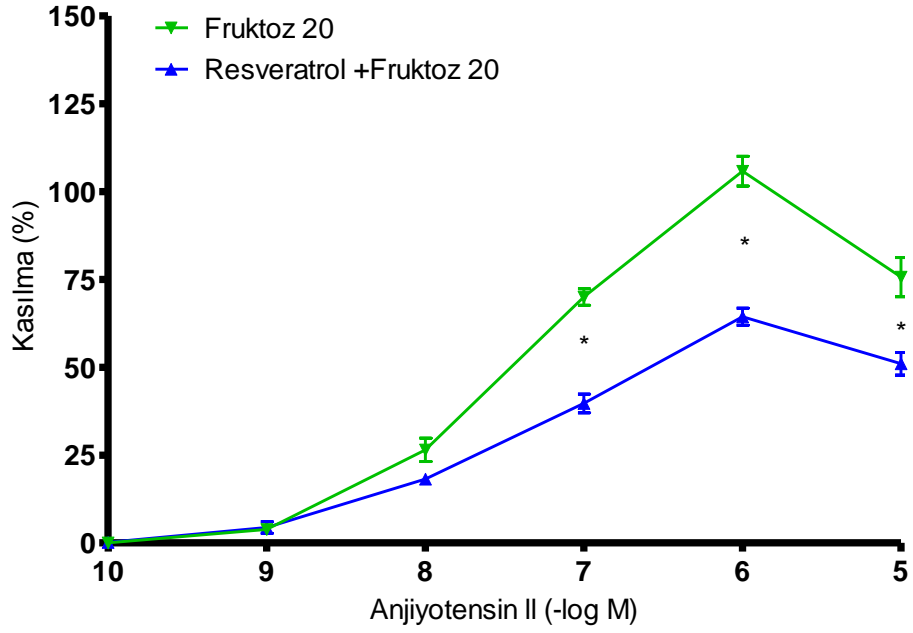
Şekil 18: Kontrol ve 12 hafta süre resveratrol (50 mg/L) içen sıçanların endotelli aorta halkalarının anjiyotensin II'nin artan dozlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları. Sonuçlar, 40 mM KCl'nin oluşturduğu kasılmaların yüzdesi (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. n=6. * kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 19: Kontrol ve 10 hafta süre ile %10 fruktoz içeren sıçanların endotelli aorta halkalarının anjiyotensin II'nin artan dozlarında (10^{-10} - 10^{-5} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları. Sonuçlar, 40 mM KCl'nin oluşturduğu kasılmaların yüzdesi (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. n=6-7 * kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 20: Kontrol ve 10 hafta süre ile %20 fruktoz içen sıçanların endoteli aorta halkalarının anjiyotensin II'nin artan dozlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) kümülatif biçimde uygulanmasına karşı oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları. Sonuçlar, 40 mM KCl'nin oluşturduğu kasılmaların yüzdesi (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. n=6. * kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 21: Fruktoz %20 (10 hafta)+Resveratrol (50 mg/L ,12 hafta) uygulanmış gruplar ile sadece fruktoz %20 içen grubun endotelli aorta halkalarında anjiyotensin II'nin oluşturduğu konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtları. Sonuçlar, 40 mM KCl'nin oluşturduğu kasılmaların yüzdesi (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama \pm Standart hata olarak ifade edilmiştir. n=6-10. * $p<0.05$ Fruktoz 20 grubu ile Resveratrol + Fruktoz 20 göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Tablo 4: Deney gruplarındaki sıçanların anjiyotensin II'nin log EC₅₀ ve E_{maks} değerleri

GRUPLAR	LOG EC ₅₀	E _{maks}	DENEY SAYISI (n)
KONTROL (GENÇ)	7,55±0,117	76,13±4,442	9
KONTROL (YAŞLI)	7,29±0,166	69,62±3,249	6
RESVERATROL	7,56±0,121	43,42±1,932*	6
FRUKTOZ 10	8,10±0,137*	81,07±3,536*	7
FRUKTOZ 20	7,60±0,124	90,16±4,163 ^{#*}	6
RESVERATROL+ FRUKTOZ 20	7,52±0,116	57,97±2,448*	10

Değerler ortalama ±standart hata olarak ifade edilmiştir. Deney grupları 6-10 hayvandan oluşmuştur. * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # p<0.05 Fruktoz 20 grubu ile Resveratrol + Fruktoz 20 göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Bildiğimiz üzere sükroz, glukoz ve fruktoz bileşiminden oluşmaktadır. Fruktoz, çeşitli işlemde geçerek birçok hazır gıdada kullanılmaktadır. Gelişmiş toplumlarda metabolik sendrom ve şişmanlık oranının yüksekliğin fruktoz tüketiminin artışa paralel olduğu ileri sürülmektedir. Aslında fruktoz doğal olarak meyveler ve sebzeler içinde tükettiğimiz bir enerji kaynağıdır. Doğal besinler içinde alınan fruktoz, hem vücutta yüksek konsantrasyonlara ulaşamamaktadır hem de doğal besinler içinde bulunan birçok polifenolik bileşimin etkisiyle zararlı etkisini gösterememektedir. Glukoz iyi metabolize olur ve fruktoza göre zararlı metabolitleri yok denecek kadar azdır. Fruktoz metabolizmasının sonucu düşük dansiteli lipoproteinler ve trigliserittir oluşur. Ayrıca, fruktoz protein molekülleri ile birleşerek ileri glikasyon son ürünlerine dönüşmektedir, bu ürünlerin yaşlanma sürecini hızlandırdığı ve diyabet komplikasyonları ve kardiyovasküler hastalık oluşumunda önemli rol oynadığı saptanmıştır. Fruktozun hücrelere alımı için insülin salınımı gerekmediğinden bazı araştırmacılara göre sükroz ve glukozun tersine fruktoz daha iyi bir şeker kabul edilmektedir fakat uzun vadede metabolizma açısından fruktoz ciddi yan etkilere sahiptir. Fruktoz tüketiminin hipertrigliseridemi, hipertansiyon ve insülin direncine neden olduğu bildirilmektedir. Bu yüzden yüksek fruktoz tüketiminin giderek sağlığı tehdit eden bir durum haline geldiği düşünülmektedir.¹⁰⁷⁻¹¹⁰

Diyet içinde yüksek fruktoz verilmesi ile sıçanlarda insülin direnci, hiperinsülinemi ve hipertansiyon oluştuğu ilk kez Hwang ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir.¹⁸ Rodentlerde, 6-8 hafta yüksek fruktozlu diyet ile beslenmenin metabolik sendroma yol açtığı daha sonraki çalışmalarda da bildirilmiştir¹¹¹⁻¹¹³

Yüksek fruktoz ile beslenmenin olumsuz etkileri fruktoz konsantrasyonu ve beslenme süresine bağlı olarak değişmektedir.⁶² Bazı çalışmalarda, yüksek fruktoz ile beslenme süresi sonunda hayvanlarda ağırlık artışı olmadığı görülmüştür. Bizim bulgularımız da bu sonuçları doğrulamaktadır. Fruktoz 20 grubundaki hayvanlarda, vücut ağırlığının kontrol (yaşlı) gruba göre anlamlı ölçüde azaldığı bulunmuştur. Bu azalma diğer çalışmalarda da görülmüştür. Araştırmaların çoğunda, fruktoz diyet içinde verilmiştir, bizim çalışmamızda ise içme suyu içinde uygulama yapıldı. Literatür taramasında, içme suyu içinde fruktoz (%5-30) verilmesiyle ikinci haftadan itibaren metabolik sendrom oluştuğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır.^{18,77,114}

Yapılan çalışmalar ışığında, bizim çalışmamızda fruktoz 20 ve fruktoz 10 gruplarında su içme miktarlarında kontrole oranla anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Ayrıca, resveratrol içen grupta ise su içme miktarında normale oranla anlamlı bir artış görülmüştür.

Yüksek fruktoz (%23) ile 8 haftalık Sprague-Dawley dişi sıçanlarda yapılan bir çalışmada, fruktoz grubundaki sıçanların su içme miktarının ve vücut ağırlığının kontrolden farklı olmadığı bulunmuştur.¹¹⁴ İçme suyu içinde %30 sükrözün 20 hafta boyunca Wistar erkek sıçanlara verildiği bir çalışmada, su içme miktarının ve vücut ağırlığının kontrollere göre kısmen azaldığı saptanmıştır.¹¹⁵ Bu bulgular bizim çalışmamız ile birlikte değerlendirildiğinde yüksek (%20-30) fruktoz içiminin sıçanlarda kilo artışına neden olmadığı ve su alımının yüksek şeker konsantrasyonuna rağmen değişmediği, fakat kısmen de bu araştırma sonuçlarını desteklediği, görülmektedir.

Yem ve su içinde yüksek fruktoz verilerek oluşturulan metabolik sendromda, kan glukoz düzeyinin genel olarak değişmediği,

fakat insülin salınımında artış olduğu, insülin direnci geliştiği kan basıncının ve trigliserit düzeyinin belirgin olarak arttığı saptanmıştır. Bu sonuçlar yüksek fruktoz içeren beslenme şeklinin obezite olmadan metabolik sendromu oldukça iyi taklit ettiğini göstermektedir.^{18,66,77}

Bu çalışmada, fruktoz 20 grubunun kan glukoz düzeyi kontrole göre yüksek bulunmuştur. Benzeri sonuçlar daha önceki çalışmalarda da gösterilmiştir.³⁶

Bizim çalışmamızda, fruktoz 20 grubunda hem kan basıncı hem de insülin düzeyinde artışı olduğu saptanmıştır. Kan lipit profilinde anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür fakat trigliserit düzey sonuçları, deneyde ortaya çıkan bir hata yüzünden çalışmaya dahil edilememiştir. Fruktoz 10 grubunda kan basıncı belirgin bir şekilde değişmemiş fakat insülin düzeyindeki yükselme izlenmiştir. Bunun nedeni tam olarak anlaşılamamıştır bununla birlikte bazı çalışmalarda %10 fruktoz içimiyle kan basıncı artışı kaydedilmiştir.^{18,77} Ayrıca, son yapılan çalışmalarda yüksek fruktoz alımının tail cuff metodu ile ölçümde kan basıncını artırdığı telemetri sistemi ile sürekli kayıta ise bir değişiklik oluşturamadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada fruktoz alımının trigliserit ve insülin düzeyini yükselttiği de gösterilmiştir.¹¹⁶ Ayrıca, insülin infüzyonu ile oluşturulan hiperinsülinemide kan basıncı artışı olmadığı bir çalışmada görülmüştür.³⁵

Genel olarak yüksek doz fruktoz alımıyla ilgili yapılan çalışmalara bakılarak sıçanlarda kilo artışı ve kan glukoz düzeyinde çok belirgin bir değişiklik oluşturmadan, hipertansiyon, hiperinsülinemi ve hipertrigliseridemi ile karakterize metabolik sendroma neden olmaktadır, bizim sonuçlarımızda bu bulgular ile büyük ölçüde uyumluluk göstermektedir.

Biz bu çalışmada, potasyum klorür, fenilefrin ve anjiyotensin II cevaplılığının fruktoz ile beslenen hayvanlarda nasıl değiştiğinin ve resveratrol tedavisinden sonraki durumu araştırdık.

Sempatik aktivitenin, anjiyotensin cevaplarının, ya da sentezinin fruktozun oluşturduğu metabolik sendromda arttığını gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır.^{36,43,45,69}

Renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonun insülin direnci gelişiminde önemli bir etken olduğu ileri sürülmüş ve anjiyotensinin oluşturduğu oksidatif stresin, pankreasın beta hücrelerinde aşırı uyarılmaya neden olduğu öngörülmüştür.¹¹⁷

Çeşitli anjiyotensin reseptör antagonistlerinin insülin duyarlılığını artırdığı gösterilmekle birlikte, bu düzelmenin altında yatan mekanizma iyi bir şekilde anlaşılamamıştır.¹¹⁸⁻¹²⁰

Fruktoz ile oluşturulan metabolik sendromda anjiyotensin sisteminin önemli bir rol oynadığı hipotez edilmektedir. Anjiyotensin II AT₁ reseptörlerinin ekspresyonunun arttığı fakat AT₂ reseptörlerinde bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. AT₂ reseptörlerinin vazokonstriktör etkiye AT₂ reseptörlerinin ise endotel hücrelerinden nitrik oksit salınımına aracılık ettiği bilinmektedir.^{34,36}

Yüksek fruktoz içeren diyet ile beslenen sıçanlarda, anjiyotensin antagonisti telmisartan tedavisinin, kan basıncındaki artışı ile hipertrigliseridemi ve hiperinsülinemiyi düzelttiği bulunmuştur.⁵⁸

Bir çalışmada, yüksek doz fruktoz ile beslenen sıçanlarda anjiyotensine cevaplılıkta maksimum kontraksiyonunun arttığı görülmüştür. Bu sonuç, daha önce fruktoz ile metabolik sendrom oluşturulan çalışmanın bulguları ile benzerlik göstermektedir.³⁴ Bu çalışmada, sıçan aortasında, AT₁ reseptör ekspresyonunun da fruktoz ile arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, bizim bulgularımızdan farklı olarak fenilefrin cevaplarının değişmediği bulunmuştur. Hâlbuki bu tez çalışmasında KCl, fenilefrin ve anjiyotensin cevaplarının hem fruktoz 10 hem de fruktoz 20 grubunda anlamlı bir şekilde arttığı, dolayısı ile vazokonstriktör bileşiklere cevaplılıkta genel bir artış olduğu görülmektedir. Bu bulgularımız, asetilkolinin endotel bağımlı gevşeme cevaplarındaki azalma ile tam olarak örtüşmemektedir. Çünkü çalışmamızın ikinci kısmında fruktoz 10 grubunda asetilkolin etkisinde bir azalma izlememiştik, aynı şekilde bu grupta kan basıncındaki artış anlamlı bulunmamıştı. Fakat, fruktoz 10 grubunda insülin salınımının artmış olması metabolik sendrom işaretlerinden en azından birisinin bulunduğunu göstermektedir. Triglicerit sonuçlarının alınmasından sonra, bu değerler daha iyi yorumlanabilecektir. Anjiyotensin cevaplılığındaki artışın bir göstergesi olarak, fruktoz ile beslenen sıçanlarda NADPH, damarlardaki en önemli süperoksit kaynağı ve endojen uyarıcı anjiyotensin II, aktivitesinin artışı gösterilebilir. Çalışmamızın diğer bölümünde fruktoz ile beslenen hayvanlarda NADPH oksidaz aktivitesinin arttığını tespit ettik. Bu bulgular, sunulan tez çalışması kapsamı içine dahil edilmemiştir. Bizim bulgularımızdan farklı olarak yüksek fruktoz içeren yem ile beslenmenin potasyum klorür ve noradrenalin cevabının değişmediği sıçan aortasında gösterilmiştir.¹²¹

Diğer bir çalışmada ise yüksek fruktoz diyetinin sıçan aortasında hem fenilefrin hem anjiyotensin kasılmalarında artışa neden olduğu rapor edilmiştir bu sonuçlar bizim bulgularımızı desteklemektedir.³⁷ Aynı çalışmada, bu sunulan çalışmadan farklı olarak, KCl cevaplarının ise değişmediği saptanmıştır.³⁷

Yüksek fruktoz verilmesinin endotelin-1 cevaplılığı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise ET-1'in vazokonstriktör etkisinin arttığı ve potasyum klorür cevaplarının değişmediği saptanmıştır. Endotelin-1 reseptör ekspresyonunun da fruktoz uygulanan grupta yüksek olduğu görülmüştür.¹²²

Fruktoz ile insülin direnci oluşturulmuş bir başka çalışmada da, sıçanların mezenterik arterlerinde endotelin cevaplılığının arttığı ve radyoaktif bağlanma çalışmasında ET1 bağlanmasının yüksek olduğu bulunmuştur.¹²³

Bütün bu sonuçlar, anjiyotensin ya da endotelin cevaplılığı ve reseptör sayındaki artışın insülin direncine yol açabileceği şeklinde değerlendirilmiştir. Genel olarak, fruktoz ile oluşturulan metabolik sendromun vazokonstriktör bileşiklere cevaplılık artışına neden olduğu söylenebilir.

Resveratrol tedavisinden sonra potasyum klorür, fenilefrin ve anjiyotensin cevaplarında maksimum kasılmaların azaldığı görülmektedir. Resveratrolün vazokonstriktör bileşikler üzerindeki inhibitör etkisi, NADPH oksidaz enzimini baskılayarak süperoksit oluşumunu azaltmasına bağlanmıştır. Daha önceki birçok çalışmada resveratrolün oksidatif stresi baskıladığı ve süperoksit oluşumunu azalttığı ve nitrik oksit oluşumunu ya da biyoyararlanımını artırdığı gösterilmiştir.^{77,124}

Resveratrol nonspesifik olarak kalsiyuma duyarlılığı azaltabilir ya da potasyum kanallarını açabilir. Bu özellikleri de damar tonusunun düzenlenmesini değiştirebilir.^{104,106}

Bu çalışmada, içme suyu içinde günde 5-7 mg/kg dozda verilen resveratrolün, fruktozun oluşturduğu vazokonstriktörlerin etkisindeki artışı düzelttiği saptanmış, fakat onun etki mekanizmasına yönelik bulgulara bakılmamıştır. Etki mekanizmasına yönelik çalışmada, resveratrolün fruktoz ile beslenmede artmış olan NADPH aktivitesini düşürdüğü görülmüştür. Sunulan çalışmada biz, fruktoz ile oluşturulan metabolik sendromda ortaya çıkan hiperinsülinemi ve hipertansiyonun resveratrol tedavisi ile önemli ölçüde düzeldiğini de saptamış bulunuyoruz. Resveratrolün bu yaralı etkilerinin hiperinsülineminin düzelmesi sonucu mu yoksa anjiyotensin gibi insülin direncinden sorumlu tutulan bir bileşiğin etkinliğindeki azalma sonucu mu ortaya çıktığı anlaşılamamıştır.

Resveratrolün yüksek yağlı diyet ile beslenen hayvanlarda görülen metabolik sendromda, insülin salınımını azalttığı, obeziteyi önlediği, hipertansiyonu düzelttiği ve hayvanların yaşam süresini uzattığı bulunmuştur.⁸¹

Fruktoz ile oluşturulan metabolik sendromda resveratrol tedavisinin (20 mg/kg), hipertrigliseridemi ve hipertansiyonu düzelttiği gösterilmiş fakat damar cevapları incelenmemiştir.⁷⁷

Resveratrol tedavisi bu çalışmada, bozulan damar cevaplılığını önemli ölçüde düzeltmektedir. Resveratrolün bu etkisinin hipertansiyon üzerindeki olumlu etkisine katkı yapması beklenir. Fruktozun oluşturduğu metabolik sendromda bozulan bazı kardiyovasküler parametrelerin resveratrol alınması ile kontrol altına alınabileceği söylenebilir.

6. SONUÇ

Sonuç olarak, yüksek doz fruktoz içen gruplarda hayvanların içtikleri su miktarı düşmüştür. Resveratrolde ise içilen su miktarında normalden fazla bir artış olduğu görülmüştür. Hayvanların ağırlıklarında ise yüksek doz fruktoz içen grupta kontrole anlamlı bir ağırlık azalması görülmüştür. Yüksek doz fruktoz içen grupta kan basıncında ciddi bir yükselme olmuştur. Ayrıca, kan glukoz düzeyi yüksek çıkmıştır. Yüksek doz fruktoz alan grupta serum insülin düzeyi normalin üstünde çıkmıştır. Bu hiperinsülinemi ve hipertansiyon tablosuna göre hayvanların metabolik sendromu taklit ettiğimizi söylemek mümkündür. Ayrıca, yüksek doz fruktozla birlikte yaşanan kilo kaybı obezitenin eşlik etmediği Tip II diyabete benzemektedir.

Biz bu çalışmada, potasyum klorür, fenilefrin ve anjiyotensin II cevaplılığının fruktoz ile beslenen hayvanlarda nasıl değiştiğinin ve resveratrol tedavisinden sonraki durumu araştırdık. Bu çalışmada KCl, fenilefrin ve anjiyotensin cevaplarının fruktoz içen gruplarda anlamlı bir şekilde arttığı, dolayısı ile vazokonstriktör bileşiklere cevaplılıkta bir artış olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada, içme suyu içinde günde 5-7 mg/kg dozda verilen resveratrolün, fruktozun oluşturduğu vazokonstriktörlerin etkisindeki artışı düzelttiği saptanmıştır. Sunulan çalışmada biz, fruktoz ile oluşturulan metabolik sendromda ortaya çıkan hiperinsülinemi ve hipertansiyonun resveratrol tedavisi ile önemli ölçüde düzeldiğini de saptamış bulunuyoruz. Resveratrol tedavisi bu çalışmada, bozulan damar cevaplılığını önemli ölçüde düzeltmektedir. Ayrıca, resveratrolün bu etkisinin hipertansiyon üzerinde olumlu etkisini olabilir. Metabolik sendromda bozulan bazı kardiyovasküler parametreler resveratrol alınması ile azaltılabilir.

7. ÖZET

Uzun süre fruktoz içen sıçanlarda resveratrol verilmesinin vazokonstriktör cevap üzerine etkisinin incelenmesi

İşlenmiş gıdalar ve gazlı içecekler içinde fruktoz kullanımını giderek artmaktadır, çünkü fruktoz raf ömrünü uzatmaktadır. Yüksek miktarda fruktoz alınımının hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve hipertansiyon nedeni olduğu saptanmıştır. Bu yüzden fruktozun zararlı etkilerinin önlenmesi özel bir önem arz etmektedir. Resveratrolün endotel ve damar fonksiyon bozukluğunu düzelterek kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yararlı olabileceği ileri sürülmüştür. Deneysel olarak fruktozla oluşturulan damar düz kas fonksiyonundaki değişiklik üzerine resveratrolün etkisi iyi bilinmemektedir. Bu tez çalışmasında içme suyu içinde 10 hafta süreyle fruktoz (% 10 ve 20) verilerek oluşturulan metabolik sendromda resveratrolün etkisi incelenmiştir. Resveratrol uygulaması (50 mg/L) fruktoz içiminden 2 hafta önce başlatılmıştır. Deney gruplarından alınan kan örneklerinde biyokimyasal, aortada ise damar düz kas fonksiyonu ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca, kan basıncı değişiklikleri kaydedilmiştir. KCl (40 mM) ve fenilefrin (10^{-9} - 3×10^{-4} M) cevaplarının fruktoz içen sıçanlarda arttığı, anjiyotensin II (10^{-10} - 10^{-5} M) cevaplarının ise değişmediği saptanmıştır. Kasılma cevaplarındaki artış, resveratrol tedavisi alan hayvanlarda büyük ölçüde düzelmiştir. Resveratrol tedavisi, kontrol ve fruktoz alan sıçanlarda, anjiyotensin II (10^{-10} - 10^{-5} M) cevaplarını azaltmıştır. Fruktoz ile beslenme sonucu ortaya çıkan insulin direnci ve hipertansiyon da resveratrol alan grupta anlamlı derecede azalmıştır. Resveratrol ve fruktoz ile beslenme sonucu kan glukoz düzeyi değişmemiştir. Bu bulgular, fazla miktarda fruktoz alınımına bağlı olarak

gelişen kardiyovasküler fonksiyon bozukluklarının resveratrol ön tedavisi ile önlenebileceğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Resveratrol, damar düz kas fonksiyonu, hipertansiyon, insulin direnci, fruktoz ile beslenme.

8. SUMMARY

The investigation of the effect of resveratrol supplementation on vasoconstriction in long term fructose-treated rats

The use of fructose is being increased in processed foods and beverages, because it extends their shelf life. High fructose intake causes insulin resistance, hypertriglyceridemia and hypertension. The harmful effects of increased fructose intake on health and their prevention should take greater consideration. Resveratrol has beneficial effects on endothelial and vascular function which is important in the prevention of cardiovascular disease. However, very little is known about the effect of resveratrol on fructose-induced vascular dysfunction. Therefore, in this study, we assessed whether chronic resveratrol administration changes vascular contractility in association with biochemical parameters, in fructose-treated rats. We investigated the effect of long-term resveratrol treatment (50 mg/L in drinking water for 12 weeks) on vascular contractility to KCl (40 mM), phenylephrine (10^{-9} - 3×10^{-4} M) and angiotensin II (10^{-10} - 10^{-5} M) in either endothelium-intact or denuded aortae from control and fructose-treated (10 and 20% fructose in drinking water for 10 weeks) rats. Blood pressure and serum lipids, insulin, glucose and fructosamine were also evaluated. Our results showed that fructose administration in drinking water for a period 10 weeks caused a modest increase in blood pressure, serum insulin without a change in body weight, serum lipid profile and glucose concentration. Fructose consumption caused an increase the contractions to KCl and phenylephrine in aortae from rat. Long-term resveratrol supplementation suppressed increased vascular contractility. Resveratrol treatment also depressed angiotensin II-induced contractions in both control and fructose groups. Additionally, insulin resistance and hypertension in fructose fed rats were also restrained in resveratrol supplemented rats. Resveratrol and fructose did not

significantly change blood glucose level. The presented results showed that high fructose-induced cardiovascular abnormalities could be prevented by resveratrol pretreatment.

Keywords: Resveratrol, vascular functions, insulin resistance, hypertension, fructose fed rats

9. KAYNAKLAR

1. Laksonen DE, Lakka HM, Niskanen LK, Kaplan GA, Salonen JT, Lakka TA. Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. *Am J Epidemiol* 2002; 156: 1070-1077
2. Solymoss BC, Bourassa MG, Lespérance J, Levesque S, Marcil M, Varga S, et al. Incidence and clinical characteristics of the metabolic syndrome in patients with coronary arter disease. *Coron Artery Dis* 2003;14: 207-212.
3. Mykkanen L, Zaccaro DJ, Wagenknecht LE, Robbins DC, Gabriel M, Haffner SM. Microalbuminuria is associated with insulin resistance in nondiabetic subjects: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 1998; 47: 793-800.
4. Canseco-Avila LM, Jerjes-Sanchez C, Ortiz-Lopez R, Rojas-Martinez A, Guzman-Ramirez D. Fibrinogen. Cardiovascular risk factor or marker? *Arch Cardiol Mex* 2006; 76: 158-172.
5. Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, Knowler WC. Components of the “metabolic syndrome” and incidence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 3120-3127
6. Tran TX. Mechanisms of fructose-induced hypertension. Doktora Tezi. Vancouver: The Univercity Of British Columbia; 2009.

7. Lorenzo C, Okoloise M, Williams K, Stern MP, Haffner SM. The metabolic syndrome as predictor of type 2 diabetes: the San Antonio heart study. *Diabetes Care* 2003; 26: 3153-3159.
8. Isoma B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001; 24: 683-689.
9. Lakka HM, Laksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002; 288: 2709-2716.
10. Malik S, Wong ND, Franklin SS, Kamath TV, L'Italien GJ, Pio JR, et al. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease, and all causes in United States adults. *Circulation* 2004; 110: 1245-1250.
11. Hunt KJ, Resendez RG, Williams K, Haffner SM, Stern MP. National Cholesterol Education Program versus World Health Organization metabolic syndrome in relation to all-cause and cardiovascular mortality in the San Antonio Heart Study. *Circulation* 2004; 110: 1251-1257.
12. Grunfeld B, Balzaretto M, Romo M, Gimenez M, Gutman R. Hyperinsulinemia in normotensive offspring of hypertensive parents. *Hypertension* 1994; 23:112-115.
13. Mondon CE, Reaven GM. Evidence of abnormalities of insulin metabolism in rats with spontaneous hypertension. *Metabolism* 1988; 37: 303-305.

14. Hulman S, Falkner B, Chen YQ. Insulin resistance in the spontaneously hypertensive rat. *Metabolism* 1991; 40: 359-361.
15. Bhanot S, Michoulas A, McNeill JH. Antihypertensive effects of vanadium compounds in hyperinsulinemic, hypertensive rats. *Mol Cell Biochem* 1995; 153: 205-209.
16. Kotchen TA, Zhang HY, Covelli M, Blehschmidt N. Insulin resistance and blood pressure in Dahl rats and in one-kidney, one-clip hypertensive rats. *Am J Physiol* 1991; 261: E692-E697.
17. Somova L, Channa ML. Glucose metabolism and insulin sensitivity in Dahl hypertensive rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1999; 21: 421-425.
18. Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987; 10: 512-516.
19. Dall'Aglio E, Tosini P, Zavaroni I, Olivetti G, Reaven GM. Comparison of the metabolic changes in rats with hypertension secondary to fructose feeding or renal artery stenosis. *Am J Hypertens* 1995; 8: 524-527.
20. Yuen VG, Pederson RA, Dai S, Orvig C, McNeill JH. Effects of low and high dose administration of bis(maltolato) oxovanadium(IV) on fa/fa Zucker rats. *CJPP* 1996; 74(9): 1001-1009.

21. Alonso-Galicia M, Brands MW, Zappe DH, Hall JE. Hypertension in obese Zucker rats. Role of angiotensin II and adrenergic activity. *Hypertension* 1996; 28: 1047-1054.
22. Lesniewski LA, Donato AJ, Behnke BJ, Woodman CR, Laughlin MH, Ray CA, et al. Decreased NO signaling leads to enhanced vasoconstrictor responsiveness in skeletal muscle arterioles of the ZDF rat prior to overt diabetes and hypertension. *AJPP* 2008; 294(4): H1840-H1850.
23. Imai G, Satoh T, Kumai T, Murao M, Tsuchida H, Shima Y, et al. Hypertension accelerates diabetic nephropathy in Wistar fatty rats, a model of type 2 diabetes mellitus, via mitogen-activated protein kinase cascades and transforming growth factor-beta 1. *Hypertens Res* 2003; 26: 339-347.
24. DeFronzo RA. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and coronary artery disease: a complex metabolic web. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20 Suppl 11: S1-16.
25. Verma S. Insulin resistance and hypertension: pharmacological and mechanistic studies. *Can J Diabetes Care* 2000; 23: 23-42.
26. Reaven GM. Relationship between insulin resistance and hypertension. *Diabetes Care* 1991; 14 (suppl 4): 33-38.
27. Bhanot S, Michoulas A, McNeill JH. Antihypertensive effects of vanadium compounds in hyperinsulinemic, hypertensive rats. *Mol Cell Biochem* 1995; 153: 205-209.

28. Hulman S, Falkner B, Chen YQ. Insulin resistance in the spontaneously hypertensive rat. *Metabolism* 1991; 40: 359-361.
29. Mondon CE, Reaven GM. Evidence of abnormalities of insulin metabolism in rats with spontaneous hypertension. *Metabolism* 1988; 37: 303-305.
30. Kotchen TA, Reddy S, Zhang HY. Increasing insulin sensitivity lowers blood pressure in the fructose-fed rat. *Am J Hypertens* 1997; 10: 1020-1026.
31. Somova L, Channa ML. Glucose metabolism and insulin sensitivity in Dahl hypertensive rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1999; 21: 421-425.
32. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet* 2005; 366: 1059-1062.
33. Kamari Y, Harari A, Shaish A, Peleg E, Sharabi Y, Harats D, et al. Effect of telmisartan, angiotensin II receptor antagonist, on metabolic profile in fructose-induced hypertensive, hyperinsulinemic, hyperlipidemic rats. *Hypertens Res* 2008; 31: 135-140.
34. Shinozaki K, Ayajiki K, Nishio Y, Sugaya T, Kashiwagi A, Okamura T. Evidence for a causal role of the renin-angiotensin system in vascular dysfunction associated with insulin resistance. *Hypertension* 2004; 43: 255-262.

35. Johansson ME, Andersson IJ, Alexanderson C, Skøtt O, Holmang A, Bergström G. Hyperinsulinemic rats are normotensive but sensitized to angiotensin II. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294: R1240-R1247.
36. Nyby MD, Abedi K, Smutko V, Eslami P, Tuck ML. Vascular Angiotensin type 1 receptor expression is associated with vascular dysfunction, oxidative stress and inflammation in fructose-fed rats *Hypertens Res* 2007; 30: 451-457.
37. Iyer SN, Katovich MJ. Vascular Reactivity to Phenylephrine and angiotensin II in hypertensive rats associated with insulin resistance. *Clin. and Exper. Hypertension* 1996; 18(2), 227-242.
38. Bourgoin F, Bachelard H, Badeau M, Mélançon S, Pitre M, Larivière R, et al. Endothelial and vascular dysfunctions and insulin resistance in rats fed a high fat high sucrose diet. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295: H1044-H1055.
39. Rajasekar P, Palanisamy N, Anuradha CV. Increase in nitric oxide and reductions in blood pressure, protein kinase C and oxidative stress by L-carnitine a study in the fructose-fed hypertensive rat *Clin and Exp Hypertens* 2007, 29: 517-530.
40. Loirand G, Guerin P, Pacaud P. Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology. *Circ Res* 2006; 98: 322-334.

41. Anderson EA, Hoffman RP, Balon TW, Sinkey CA, Mark AL. Hyperinsulinemia produces both sympathetic neural activation and vasodilation in normal humans. *J Clin Invest* 1991; 87: 2246-2252.
42. Lembo G, Napoli R, Capaldo B, Rendina V, Iaccarino G, Volpe M et al. Abnormal sympathetic overactivity evoked by insulin in the skeletal muscle of patients with essential hypertension. *J Clin Invest* 1992; 90: 24-29.
43. Rattigan S, Clark MG, Barrett EJ. Acute vasoconstriction-induced insulin resistance in rat muscle in vivo. *Diabetes* 1999; 48: 564-569.
44. Masuo K, Mikami H, Ogihara T, Tuck ML. Sympathetic nerve hyperactivity precedes hyperinsulinemia and blood pressure elevation in a young, nonobese Japanese population. *Am J Hypertens* 1997; 10: 77-83
45. Verma S, Bhanot S, McNeill JH. Sympathectomy prevents fructose-induced hyperinsulinemia and hypertension. *Eur J Pharmacol* 1999; 373: R1-4.
46. Rosen P, Ohly P, Gleichmann H. Experimental benefit of moxonidine on glucose metabolism and insulin secretion in the fructose-fed rat. *J Hypertens Suppl* 1997; 15: S31-38.
47. Penicaud L, Berthault MF, Morin J, Dubar M, Ktorza A, Ferre P. Rilmenidine normalizes fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *J Hypertens Suppl* 1998; 16: S45-49.

48. Hogikyan RV, Supiano MA. Arterial alpha-adrenergic responsiveness is decreased and SNS activity is increased in older humans. *Am J Physiol* 1994; 266: E717-724.
49. Bunnag P, Hori MT, Ormsby B, Berger ME, Golub MS, Tuck ML. Impaired in vivo adrenergic responses in diet-induced hypertensive rats. *Hypertens Res* 1997; 20: 17-21.
50. Helliwell PA, Richardson M, Affleck J, Kellett GL. Regulation of GLUT5, GLUT2 and intestinal brush-border fructose absorption by the extracellular signal-regulated kinase, p38 mitogen-activated kinase and phosphatidylinositol 3-kinase intracellular signalling pathways: implications for adaptation to diabetes. *Biochem J* 2000; 350 Pt 1: 163-169.
51. Helliwell PA, Richardson M, Affleck J, Kellett GL. Stimulation of fructose transport across the intestinal brush-border membrane by PMA is mediated by GLUT2 and dynamically regulated by protein kinase C. *Biochem J* 2000; 350 Pt 1: 149-154.
52. Rayner CK, Park HS, Wishart JM, Kong M, Doran SM, Horowitz M. Effects of intraduodenal glucose and fructose on antropyloric motility and appetite in healthy humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 278: R360-366.
53. Teff KL, Elliott SS, Tschop M, Kieffer TJ, Rader D, Heiman M et al. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2963-2972.

54. Adams SH, Stanhope KL, Grant RW, Cummings BP, Havel PJ. Metabolic and endocrine profiles in response to systemic infusion of fructose and glucose in rhesus macaques. *Endocrinology* 2008; 149: 3002-3008.
55. Lee YC, Ko YH, Hsu YP, Ho LT. Plasma leptin response to oral glucose tolerance and fasting/re-feeding tests in rats with fructose-induced metabolic derangements. *Life Sci* 2006; 78: 1155-1162.
56. Roglans N, Vila L, Farre M, Alegret M, Sanchez RM, Vazquez-Carrera M et al. Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPARalpha activity in fructose-fed rats. *Hepatology* 2007; 45: 778-788.
57. Rault-Nania MH, Demougeot C, Gueux E, Berthelot A, Dzimira S, Rayssiguier Y, et al. Inulin supplementation prevents high fructose diet-induced hypertension in rats. *Clin Nutr.* 2008; 27(2): 276-82.
58. Kamari Y, Grossman E, Oron-Herman M, Peleg E, Shabtay Z, Shamiss A et al. Metabolic stress with a high carbohydrate diet increases adiponectin levels. *Horm Metab Res* 2007; 39: 384-388.
59. Reaven GM, Ho H, Hoffmann BB. Somatostatin inhibition of fructose-induced hypertension. *Hypertension* 1989; 14: 117-120.
60. Vasudevan H, Xiang H, McNeill JH. Differential regulation of insulin resistance and hypertension by sex hormones in fructose-fed male rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289: H1335-1342.

61. Verma S, Bhanot S, McNeill JH. Antihypertensive effects of metformin in fructose-fed hyperinsulinemic, hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271: 1334-1337.
62. Dai S, McNeill JH. Fructose-induced hypertension in rats is concentration- and duration-dependent. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1995; 33: 101-107.
63. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607.
64. Cosenzi A, Bernobich E, Plazzotta N, Seculin P, Bellini G. Bosentan reduces blood pressure and the target-organ damage induced by a high-fructose diet in rats. *J Hypertens* 1999; 17: 1843-1848.
65. Iimura O, Shimamoto K, Matsuda K, Masuda A, Takizawa H, Higashiura K et al. Effects of angiotensin receptor antagonist and angiotensin converting enzyme inhibitor on insulin sensitivity in fructose-fed hypertensive rats and essential hypertensives. *Am J Hypertens* 1995; 8: 353-357.
66. Katakam PV, Ujhelyi MR, Hoenig ME, Miller AW. Endothelial dysfunction precedes hypertension in diet-induced insulin resistance. *Am J Physiol* 1998; 275: R788-792.
67. Aljada A, Ghanim H, Assian E, Dandona P. Tumor necrosis factor alpha inhibits insulin-induced increase in endothelial nitric oxide synthase and reduces insulin receptor content and phosphorylation in human aortic endothelial cells. *Metabolism* 2002; 51: 487-491.

68. Freitas RR, Lopes KL, Carillo BA, Bergamaschi CT, Carmona AK, Casarini DE et al. Sympathetic and renin-angiotensin systems contribute to increased blood pressure in sucrose-fed rats. *Am J Hypertens* 2007; 20: 692-698.

69. Rubio ME, Banos G, Diaz E, Guarner V. Effect of age on insulin-induced endothelin release and vasoreactivity in hypertriglyceridemic and hypertensive rats. *Exp Gerontol* 41 2006; 282-288.

70. Basly JP, Marre-Fournier F, Le Bail JC, Habrioux G, Chulia AJ. Estrogenic/antiestrogenic and scavenging properties of (E)- and (Z)-resveratrol. *Life Sci* 2000; 66: 769-777.

71. Cos P, Bruyne TD, Apers S, Berghe DV, Pieters L, Vlietinck AJ. Phytoestrogens: recent developments. *Planta Med* 2003; 69: 589-599.

72. Walle T, Hsieh F, Delege M. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos* 2004; 32: 1377-1382

73. Jannin B, Menzel M, Berlot JP, Delmas D. Transport of resveratrol, a cancer chemopreventive agent, to cellular targets: plasmatic protein binding and cell uptake. *Biochem Pharmacol* 2004, 68: 1113-1118.

74. Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *J Nutr Biochem* 2005; 16: 449-466.

75. Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochem Soc Trans* 2007; 35: 1156-1160.

76. Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv* 2006; 6: 36-47

77. 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.

78. Lu C, Bambang IF, Armstrong JS, Whiteman M. Resveratrol blocks high glucose-induced mitochondrial reactive oxygen species production in bovine aortic endothelial cells: role of phase 2 enzyme induction? *Diabetes Obes Metab* 2008; 10(4): 347-349.

79. Lekli I, Szabo G, Juhasz B, Das S, Das M, Varga E, et al. Protective mechanisms of resveratrol against ischemia-reperfusion-induced damage in hearts obtained from Zucker obese rats: the role of GLUT-4 and endothelin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H859-H866.

80. Rush JWE, Quadriatero J, Levy AS, Ford RJ. Chronic resveratrol enhances endothelium-dependent relaxation but does not alter eNOS levels in aorta of spontaneously hypertensive rats. *Exper Biol Med* 2007; 232: 814–822.

81. Aubin MC, Lajoie C, Clement R, Gosselin H, Calderone A, Perrault LP. Female rats fed a high-fat diet were associated with vascular dysfunction and cardiac fibrosis in the absence of overt obesity and hyperlipidemia: therapeutic potential of resveratrol. *J Pharmacol Exp Therap* 2008; 325: 961-968.

82. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444: 337-342.

83. Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN, Peshkin L, Price NL, Labinskyy N, et al. Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending lifespan. *Cell Metab* 2008; 8(2): 157-168.

84. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* 2006; 127: 1109-1122.

85. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res*, 2000; 87: 840-844.

86. Pieper GM. Enhanced, unaltered and impaired nitric oxide mediated, endothelium-dependent relaxation in experimental diabetes mellitus: importance of disease duration. *Diabetologia*, 1999; 42: 204-213.

87. Pieper GM, Siebeneich W, Olds LC, Felix CC, Del Soldato P. Vascular protective actions of a nitric oxide aspirin analog in both in vitro and in vivo models of diabetes mellitus. *Free Rad Biol Med*, 2002; 32(11): 1143-1156.
88. Brandes RP. A radical adventure: the quest for specific functions and inhibitors of vascular NADPH oxidase. *Circ Res*, 2003; 92: 583-585.
89. Thirunavukkarasu M, Penumathsu SV, Koneru S, Juhasz B, Zhan L, Otani H. et al. Resveratrol alleviates cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetes: Role of nitric oxide, thioredoxin, and heme oxygenase. *Free Radical Bio Med* 2007; 43: 720-729.
90. Su HC, Hung LM, Chen JK. Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290: E1339-1346.
91. Ateş O, Cayli SR, Yuce IN, Altinoz E, Kocak A, Durak MA ve ark. Central nervous system protection by resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Clin Neurosci* 2007; 14: 256-260.
92. Chi TC, Chen WP, Chi TL, Kuo TF, Lee SS, Cheng JT. Phosphatidylinositol-3-kinase is involved in the antihyperglycemic effect induced by resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* 2007; 80: 1713-1720.

93. Sharma S, Anjaneyulu M, Kulkarni K, Chopra K. Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin, attenuates diabetic nephropathy in rats. *Pharmacology* 2006; 76: 69-75.
94. Palsamy P, Subramanian S. Modulatory effects of resveratrol on attenuating the key enzymes activities of carbohydrate metabolism in streptozotocin–nicotinamide-induced diabetic rats. *Chemico-Biol Interact* 2009; 179: 356-362.
95. Frankel EN, Waterhouse AL, Kinsella JE. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet* 1993; 341: 1103-1104.
96. Belguendouz L, Fremont L, Linard A. Resveratrol inhibits metal-iron dependent and independent peroxidation of porcine low density lipoproteins. *Biochem Pharmacol* 1997; 53: 1347-1355.
97. Coskun B, Soylemez S, Parlar AI, Ulus AT, Katircioglu SF, Akar F. Effect of resveratrol on nitrate tolerance in isolated human internal mammary artery. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47: 437-445.
98. Miura D, Miura Y, Yagasaki K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma bearing rats *Life Sci* 2003; 73: 1393-1400.
99. Chen CK, Pace-Asciak CR. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen Pharmacol* 1996; 27(2): 363-366.

100. Naderali EK, Doyle PJ, Williams G. Resveratrol induces vasorelaxation of mesenteric and uterine arteries from female guinea-pigs. *Clin Sci*, 2000; 98: 537-543.
101. Naderali EK, Smith SL, Doyle PJ, Williams G. The mechanism of resveratrol-induced vasorelaxation differs in the mesenteric resistance arteries of lean and obese rats. *Clin Sci* 2001; 100: 55-60.
102. Orallo F, Alvarez E, Camina M, Leiro JM, Gomez E, Fernandez P. The possible implication of trans-resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption. *Mol Pharmacol* 2002; 61: 294-302.
103. Rakıcı O, Kızıltepe U, Coskun B, Aslamacı S, Akar F. Effects of resveratrol on vascular tone and endothelial function on human saphenous ven and internal mammary artery. *Int J Cardiol* 2005; 105: 209-215.
104. Buluç M, Demirel-Yilmaz E. Resveratrol decreases calcium sensitivity of vascular smooth muscle and enhances cytosolic calcium increase in endothelium. *Vasc Pharmacol* 2006; 44: 231-7.
105. El-Mowafy AM. Resveratrol activates membrane-bound guanylyl cyclase in coronary arterial smooth muscle: a novel signaling mechanism in support of coronary protection. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2002; 291:1218-1224.

106. Novakovic A, Gojkovic-Bukarica L, Peric M, Nezic D, Djukanovic B, Markovic-Lipkovski J. The mechanism of endothelium-independent relaxation induced by the wine polyphenol resveratrol in human internal mammary artery. *J Pharmacol Sci* 2006; 101: 85-90.,

107. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, et al. Sugarsweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA* 2004; 292: 927-934.

108. Swanson JE, Laine DC, Thomas W, Bantle JP. Metabolic effects of dietary fructose in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 851-856.

109. Elliott SS, Keim NL, Stern JS, et al. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 911-922.

110. Goldberg T, Cai W, Peppas M, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J Am Diet Assoc* 2004; 104: 1287-1291.

111. Verma S, Bhanot S, Yao L, McNeill JH. Defective endotheliumdependent relaxation in fructose-hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 1996; 9: 370 -376.

112. Juan CC, Fang VS, Hsu YP, Huang YJ, Hsia DB, Yu PC, et al. Ho L-T. Overexpression of vascular endothelin-1 and endothelin-A receptors in a fructose-induced hypertensive rat model. *J Hypertens*. 1998; 16: 1775-1782.

113. Navarro-Cid J, Maeso R, Perez-Vizcaino F, Cachofeiro V, Ruilope LM, Tamargo J, et al. Effects of losartan on blood pressure, metabolic alterations, and vascular reactivity in the fructose-induced hypertensive rat. *Hypertension*. 1995; 26: 1074 -1078.

114. Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson C. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals *Regulatory Peptides* 2008; 150: 26-32

115. El-Hafidi M, Cuellar A, Ramirez J, Banos G. Effect of sucrose addition to drinking water, that induces hypertension in the rats, on liver microsomal D9 and D5-desaturase activities. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2001; 12: 396-403.

116. D'Angelo G, Elmarakby A, Pollock DM, Stepp DW. Fructose feeding increases insulin resistance but not blood pressure in Sprague-Dawley rats. *Hypertension*. 2005; 46: 1-6.

117. Cooper ME, Tikellis C, Thomas MC: Preventing diabetes in patients with hypertension: one more reason to block the renin-angiotensin system. *J Hypertens Suppl* 2006; 24: S57-S63.

118. Jandeleit-Dahm KA, Tikellis C, Reid CM, Johnston CI, Cooper ME: Why blockade of the renin-angiotensin system reduces the incidence of new-onset diabetes. *J Hypertens* 2005; 23: 463-473.

119. Scheen AJ: Renin-angiotensin system inhibition prevents type 2 diabetes mellitus. Part 2. Overview of physiological and biochemical mechanisms. *Diabetes Metab* 2004; 30: 498-505.

120. Derosa G, Cicero AF, D'Angelo A, et al: Telmisartan and irbesartan therapy in type 2 diabetic patients treated with rosiglitazone: effects on insulin-resistance, leptin and tumor necrosis factor- α . *Hypertens Res* 2006; 29: 849-856.

121. Katsuo K, Noriyasu K, Akemi I. Mechanisms underlying attenuated contractile response of aortic rings to noradrenaline in fructose-fed mice *European Journal of Pharmacology* 2001; 428: 241-249

122. Chi-Chang J, Victor F, Yung-Pei H, Yan-Jiun H, Ding-Bung H, Pi-Chin Y, et al. Overexpression of vascular endothelin-1 and endothelin-A receptors in a fructose-induced hypertensive rat model *J Hypertens* 1998, 16: 1775-1782

123. Katakam P, Pollock JS, Pollock DM, Ujhelyi MR, Miller AW. Enhanced endothelin-1 response and receptor expression in small mesenteric arteries of insulin-resistant rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H522-H527.

124. Soylemez S, Gurdal H, Sepici A, Akar F. The effect of long-term resveratrol treatment on relaxation to estrogen in aortae from male and female rats: role of nitric oxide and superoxide. *Vasc Pharmacol* 2008; 49: 97-105.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Yasin Atacan

Soyadı: AYTEKİN

Doğum Yeri ve Tarihi: Niğde-19.09.1984

Eğitimi: Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi(2002-2006), Niğde Fen Lisesi(1999-2002), Bor Akın Gönen Anadolu Lisesi(1995-1999)

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Bilimsel Etkinlikleri: TÜBİTAK yurtiçi yüksek lisans bursu