

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Ali AYDIN

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Fatma AKAR

ANKARA
EYLÜL 2009

KABUL VE ONAY

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan 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, Grafikler	v
Tablolar	vi
Kısaltmalar	vii
Önsöz	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Metabolik Sendrom	3
2.1.1 Metabolik Sendromun Sebepleri	5
2.1.2. Metabolik Sendromda İnsülin Rezistansı	5
2.1.3. Metabolik Sendromda Endotel Fonksiyon Bozukluğu	7
2.1.4. Metabolik Sendromda Resveratrolün Etkisi	10
2.2. Fruktoz	14
2.2.1. Fruktozun Kimyasal Yapısı	14
2.2.2. Fruktozun Absorbsiyonu	15
2.2.3. Fruktozun Metabolizması	16
2.2.4. Diyetle Fruktoz Alımı ve Zararlı Etkileri	17
2.2.5. Fruktozun İleri Glikasyon Ürünleri ve Yaşlanma	19
2.2.6. Fruktozun Bağırsak Fonksiyonu Üzerine Etkileri	21
2.2.7. Fruktozun Obezite ile İlişkisi	21
2.2.8. Fruktozun Hormonal Etkileri	22
2.2.9. Fruktozun Hipertansif Etkileri	23
2.2.10. Fruktoz Tüketimi ile İnsülin Rezistansı İlişkisi	24
2.2.11. Fruktoz ile Endotel Fonksiyon Bozukluğu İlişkisi	25
2.3. Resveratrol	27
2.3.1. Resveratrolün Farmakokinetiği ve Biyoyararlanımı	28
2.3.2. Resveratrolün Vazodilatör Etkisi	28

2.3.3. Resveratrolün Antioksidan Etkisi	30
2.3.4. Resveratrolün Estrojenik ve Antiestrojenik Etkileri	31
2.3.5. Resveratrolün Antikarsinojenik Etkisi	31
2.3.6. Resveratrolün Trombosit Fonksiyonu Üzerine Etkileri	32
2.3.7. Resveratrolün Lipit Profili Üzerine Etkileri	32
2.3.8. Resveratrolün Diyabet Üzerine Etkisi	32
2.4 Nitrik Oksit	34
2.4.1. Nitrik Oksit Biyosentezi	34
2.4.2. Nitrik Oksit Sentaz İnhibisyonu	35
2.4.3. Nitrik Oksitin İnaktivasyonu	35
2.4.4. Nitrik Oksitin Etki Mekanizması	35
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	36
3.1. Hayvanlar ve Diyet	36
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	37
3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler	38
3.3.1. <i>In vitro</i> İzole Organ Banyosu Deneyleri	38
3.3.2. Serum Lipit Düzeyi Ölçümü	38
3.3.3. Serum İnsülin Düzeyi Ölçümü	39
3.3.4. Sistolik Kan Basıncı Ölçümü	39
3.4. Kullanılan Yöntemler	39
3.4.1. Sıçan Aorta Halkalarının İzole Organ Banyosu İçin Hazırlanışı	39
3.4.2. Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları	40
3.4.3. Kan Glikoz Düzeyi Ölçümü	41
3.4.4. Serum Lipit Düzeyi Ölçümü	41
3.4.5. Serum İnsülin Düzeyi Ölçümü	42
3.4.6. Sistolik Kan Basıncı Ölçümü	42
3.5. İstatistiksel Analiz	43

4. BULGULAR	44
4.1. Deney Gruplarının Ağırlık ve Kan Glikoz Düzeyleri ile Günlük Su Tüketim Miktarları	44
4.2. Serum İnsülin Düzeyleri	46
4.3. Serum Lipit Profili	47
4.4. Sistolik Kan Basıncı	49
4.5. Sıçan Aorta Halkalarında Asetilkolinin Gevşetici Etkisi	50
4.6. Sıçan Aorta Halkalarında L-NOARG Preinkübasyonunun Etkisi	58
4.7. Sıçan Aorta Halkalarında Sodyum Nitroprusiyatın Gevşetici Etkisi	61
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ	69
7. ÖZET	70
8. SUMMARY	72
9. KAYNAKLAR	74
10. EKLER	96
11. ÖZGEÇMİŞ	98

ŞEKİLLER VE GRAFİKLER

Şekil 1. Glikoz, fruktoz ve sükrozun kimyasal yapıları	15
Şekil 2. Fruktoz ve glikozun karaciğerde metabolizasyonu	17
Şekil 3. Yüksek fruktoz ile beslenen sıçanlarda hipertansiyon gelişimi	24
Şekil 4. Resveratrolün <i>cis</i> ve <i>trans</i> izomerlerinin kimyasal yapısı	28
Şekil 5. Nitrik oksit biyosentezi	34
Şekil 6. Serum insülin seviyesi	46
Şekil 7. Serum total kolesterol seviyesi	47
Şekil 8. Serum HDL seviyesi	48
Şekil 9. Serum VLDL seviyesi	48
Şekil 10. Kontrol gruplarının asetilkolin gevşeme yanıtları	51
Şekil 11. Kontrol ve fruktoz 10 gruplarının asetilkolin gevşeme yanıtları	52
Şekil 12. Kontrol ve resveratrol gruplarının asetilkolin gevşeme yanıtları	53
Şekil 13. Kontrol ve fruktoz 20 gruplarının asetilkolin gevşeme yanıtları	54
Şekil 14. Fruktoz 10 ve fruktoz 20 gruplarının asetilkolin gevşeme yanıtları	55
Şekil 15. Fruktoz 20 ve resveratrol + fruktoz 20 gruplarının asetilkolin gevşeme yanıtları	56
Şekil 16. Kontrol ve deney gruplarının L-NOARG kasılma yanıtları	59
Şekil 17. Kontrol ve deney gruplarının L-NOARG uygulanmasından sonra asetilkolin gevşeme yanıtları	60
Şekil 18. Kontrol ve deney gruplarının SNP gevşeme yanıtları	61

TABLÖLAR

Tablo 1. Metabolik sendrom tanı kriterleri	4
Tablo 2. Deney gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıkları, kan şekeri ve günlük tüketilen su miktarları	45
Tablo 3. Deney gruplarındaki sıçanların 0. hafta ve 10. haftada ölçülen sistolik kan basıncı değerleri	49
Tablo 4. Deney gruplarındaki sıçanların endotelli aortalarında asetilkolinin EC ₅₀ (- log M) ve maksimum gevşeme (E _{maks}) değerleri	57

KISALTMALAR

AACE	American Association of Clinical Endocrinologists
ADP	Adenozin difosfat
AHA/NHLBI	American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute
Ang II	Anjiotensin II
AMP	Adenozin monofosfat
Asetil KoA	Asetil-koenzim A
ATP	Adenozin trifosfat
ATP III	National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
DM	Diyabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
EC₅₀	Maksimal cevabın yarısını oluşturan doz
EDHF	Endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör
EGIR	European Group for the Study of Insulin Resistance
E_{maks}	Maksimal cevap
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
ET-1	Endotelin-1
Fruktoz 1,6-biP	Fruktoz 1,6-bifosfat
Fruktoz 1-P	Fruktoz 1-fosfat
Fruktoz 6-P	Fruktoz 6-fosfat
Gliseraldehit 3-P	Gliseraldehit 3-fosfat
GLUT4	Glikoz transportu tip-4
GLUT5	Fruktoz spesifik glikoz transportu
GTP	Guanozin trifosfat
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HO-1	Oksijenaz-1
ICAM-1	Hücre içi adezyon molekülü

IDF	International Diabetes Federation
IFG	Bozulmuş açlık glikozu
IGT	Bozulmuş glikoz toleransı
IL-6	İnterlökin-6
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
K⁺ kanalları	Potasyum kanalları
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
L-NAME	N ^G -nitro-L-arjinin metil ester
L-NIO	N-iminoetil-L-ornitin
L-NOARG	N ^G - nitro-L-arjinin
Mn SOD	Manganez superoksit dismutaz
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
NAD	Nikotinamid adenin dinukleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
sGMP	Siklik Guanozinmonofosfat
Sh	Standart hata
SNP	Sodyum nitropursiyat
SOD	Superoksit dismutaz
TG	Trigliserit
TNF	Tumor necrosis factor
TxA₂	Tromboksan- A2
VEGF	Damar endotel growth faktörü
VKİ	Vücut kitle indeksi
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

Her zaman yanımda olduklarını bildiğim sevgili AİLEM'e...

Tezimin başından sonuna kadar yardımını ve desteğini bir an olsun esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle bana araştırmacılığı öğreten, değerli hocam ve danışmanım Fatma AKAR'a,

Çalışmamın önemli bir bölümünde bana yardım eden ve titiz çalışmasıyla örnek aldığım hocam Orhan ULUDAĞ'a

Bana kazandırdığı mesleki değerler ve bakış açısı ile desteği için Nurettin ABACIOĞLU ve sunumum sırasında fikirleriyle yol gösteren hocam Nuray ARI'ya,

Biyokimyasal parametrelerin ölçümünde emeği geçen Aylin SEPİCİ'ye ve deneycilik açısından bana çok şey öğreten Selen SÖYLEMEZ'e

Yüksek lisans derslerim ve tez çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan anabilimdalımızın değerli öğretim üyesi hocalarıma ve her ihtiyacım olduğunda bana yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarıma,

Hayvanlarımı gönül rahatlığıyla teslim ettiğim, onların bakımıyla ilgilenen Hacer şİRİN'e,

Yüksek lisansa başladığım günden beri her zaman yanımda olan ve çalışmamı bereber yürüttüğüm en yakın arkadaşım Yasin Atacan AYTEKİN'e,

Bana olan inancını hiçbir zaman kaybetmeyen ve manevi destek olan annem, babam, ablam, kardeşim ve teyzeme,

BÜTÜN KALBİMLE TEşEKKÜR EDERİM.

1. GİRİŞ

Metabolik sendrom; obezite, hiperinsülinemi, hiperlipidemi, hipertansiyon ile karakterize olan ve kardiyovasküler hastalıklar ile tip II diyabet için ciddi risk faktörü oluşturan bir durumdur. Bu bozukluk, yaşam tarzının düzenlenmesi ve egzersiz ile yeterince kontrol altına alınamaz ise, ilaçlı tedaviye geçilmektedir. Toplumda metabolik sendrom sıklığı, başta gelişmiş ülkeler olmak üzere bütün dünyada giderek artmaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde yetişkin nüfustaki oranının %22'nin üstünde olduğu rapor edilmiştir. Hazır gıdaların artması, özellikle karbonhidrat ağırlıklı besleme ve hareketsiz yaşam bu artışın en büyük sorumlusu olarak gösterilmektedir. İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar, basit şekerler fruktoz ve sükroz ağırlıklı beslenmenin metabolik sendroma yol açtığını göstermektedir.

Resveratrol, kimyasal olarak flavonoid yapıda, polifenolik, steroid olmayan bir bileşik olup, estrogen benzeri biyolojik aktiviteye sahiptir. Bu fitoestrogenik bileşiğin bitkiler tarafından travmatik zedelenme ve fungal saldırılara karşı cevap olarak sentezlendiği anlaşılmıştır. Resveratrol esas olarak üzüm, yer fıstığı, ananas ve *Polygonum cuspidatum* adlı bitkinin köklerinde yüksek oranda bulunmaktadır. *Trans*-resveratrol yapı olarak dietilstilbesterole ve 17 β -estradiole benzemekte olup miksestrojenik (agonist/antagonist) özelliklere sahiptir.

Resveratrol hem diyabetik hem diyabetik olmayan insanlarda insülin düzeyini artırdığı saptanmıştır. Diyabet nedeniyle kilo kaybı, hiperglisemi ve plazma malonaldehit düzeyinde artış gibi birçok metabolik ve biyokimyasal parametrede oluşan bozulma ve değişiklikler üzerinde

resveratrolün düzeltici etkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, diyabet nedeniyle oluşan glikoz metabolizmasında bozukluk, oksidatif hasar ve bozulan vasküler cevabın düzeltilmesinde de resveratrolün önemli rol oynadığı gösterilmiştir.

Farelere yüksek kalorili diyet verilerek yapılan bir çalışmada, resveratrolün karaciğerde yağ akümüülasyonunu azalttığı, mitokondri sayısını ve insülin duyarlılığını artırdığı ve organ histolojisinde belirgin bir düzelme sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca, bu farelerin yaşam sürelerinin arttığı saptanmıştır.

Metabolik sendrom, gelişen dünyada artarak seyreden bir bozukluk olarak son dönemlerde en çok araştırılan konuların başında gelmektedir. Bu yüzden bozukluğun fizyopatolojisi, önlenmesi ve tedavisine yönelik araştırmalar büyük önem taşımaktadır. Deneysel çalışmalarda yüksek fruktoz ile beslenen hayvanlarda, metabolik sendromu taklit eden değişikliklerin yüksek sükroz ile beslenmeye göre daha iyi gözleendiğı bildirilmiştir. Bu yüzden biz bu araştırmamızda, metabolik sendrom benzeri tabloyu erkek Wistar sıçanlarda fruktoz ile oluşturmayı ve onu resveratrol ile önlemeyi planlamış bulunmaktayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metabolik Sendrom

Günümüzün hastalığı haline gelen metabolik sendromun yaygınlaşmasında, gelişmiş toplum bireylerinin hareketsiz yaşam tarzları ve beslenme şekillerini değiştirmeleri sonucu oluşan çevresel faktörlerin yanında, genetik faktörler de etkili olmaktadır.

Metabolik sendrom bel çevresi obezitesi, bozulmuş glikoz toleransı, dislipidemi (düşük HDL, yüksek trigliserit) ve hipertansiyonu içeren bir takım fizyolojik ve metabolik anormallikler olarak tanımlanmıştır¹. İlk olarak 1988'deki tanımından sonra, gelişen ülkelerde metabolik sendrom sıklığı yetişkinlerde %20'nin üzerinde bir artış göstermiştir^{2,3}. Metabolik sendrom sıklığının yaş ile artması, diyabet ve diğer kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde yüksek risk faktörüdür^{2,4,5}.

Tablo 1. Metabolik sendrom tanı kriterleri⁶

	WHO(1998)	EGIR(1999)	AACE (2003)	IDF(2005)	ATP-III (2005)
Zorunlu Kriter	IGT, IFG, Tip II DM ya da azalmış insülin duyarlılığı	Hiperinsülin- eminin %75'in 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	Diğer 3 kriter
Vücut ağırlığı	Bel-kalça oranı Erkeklerde >0.90, Kadınlarda >0.85 VKİ >30kg/m ²	Bel çevresi Erkeklerde ≥94 cm, Kadınlarda ≥80 cm	VKİ ≥25 kg/m ²		Bel çevresi Erkeklerde ≥102 cm Kadınlarda ≥88 cm
Lipit	TG ≥150 mg/dl ve/veya HDL <35 (erkek) HDL <39 (kadın)	TG ≥150 mg/dl ve/veya HDL <39 (erkek veya kadın)	TG ≥150 mg/dl ve HDL <40 (erkek) HDL <50 (kadın)	1-TG ≥ 150 mg/dl	1-TG ≥150 mg/dl
				2-HDL <40 (erkek) HDL <50 (kadın)	2-HDL <40 (erkek) HDL <50 (kadın)
Tansiyon	≥140/90 mmHg	≥140/90 mmHg	≥130/85 mmHg	≥130/85 mmHg	≥130/85 mmHg

IGT: Bozulmuş glikoz toleransı, IFG: Bozulmuş açlık glikozu, DM: Diabetes Mellitus,
VKİ: vücut kitle indeksi, TG: Trigliserit, HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

2.1.1. Metabolik Sendromun Sebepleri

Metabolik sendrom gelişimine hem çevresel hem kalıtsal faktörler yol açabilir. Fakat bu bozukluğun kesin nedenleri açık değildir. En çok kabul gören hipotez, insülin rezistansının asıl neden olduğu ve buna bağlı olarak da kardiyovasküler hastalıkların geliştiğidir^{1,7}. İnsülin rezistansı, insülin etkisinde bir bozukluk olduğu zaman otaya çıkar ve açlık hiperinsülinemisine sebep olur. “İnsülin hipotezi”, insülin rezistansı ve kompensatuvar hiperinsülineminin hipertansiyon patogenezinin katkı sağladığını söyler^{1,8}. İnsan ve hayvan deney modellerinde hipertansiyonun hiperinsülinemi ve insülin rezistansı ile ilişkili olduğunun bulunması bu hipotezi destekler^{9,10}.

Metabolik sendromun bu kadar yaygınlaşmasının en geçerli nedeni olarak, son yıllarda gelişmiş ülkelerde karbonhidrat tüketimindeki belirgin artış gösterilmektedir^{11,12}. Metabolik sendrom ile fruktoz ve sükrozun birbiri ile ilişkili olduğu insan^{13,14} ve hayvan^{9,15} çalışmalarında gösterilmiştir. Metabolik sendromun sebebi, hem genetik hem de çevresel faktörlerdir¹⁰.

2.1.2. Metabolik Sendromda İnsülin Rezistansı

Birçok araştırmacıya göre insülin rezistansı, metabolik sendromda ortaya çıkan hipertansiyonun ana nedenlerinde birisidir. İnsülin rezistansı açlık hiperinsülinemisi durumunda insülin etkisindeki bir eksiklik olarak tanımlanır⁷. İnsanlarda ve deneysel çalışmalarda, insülin rezistansı, hipertansiyon ve hiperinsülineminin birlikte seyrettiği gözlenmiştir¹⁶.

Çalışmalarda hem şişman hem zayıf kişilerde, hipertansiyonun genelde hiperinsülinemi ile beraber olduğu bulunmuştur¹⁷. Çeşitli hipertansif deney modellerinde ve spontan hipertansif sıçanlarda insülin rezistansı bulunduğu gösterilmiştir⁶. Fruktoz ile beslenen sıçanlarda hiperinsülinemi ve hipertansiyonun beraber ortaya çıktığı gösterilmiştir¹⁸⁻²⁰. Diyet içinde yüksek fruktoz verilmesi ile sıçanlarda insülin rezistansı, hiperinsülinemi ve hipertansiyon olduğu ilk kez Hwang ve ark. tarafından gösterilmiştir¹⁶. Laboratuvar hayvanlarında, yüksek fruktozlu diyet ile 6-8 haftalık beslenme süresinin hipertansiyon oluşturduğu daha sonraki çalışmalarda tespit edilmiştir²¹⁻²³. Yüksek fruktoz ile beslenmenin etkileri, fruktoz konsantrasyonu ve beslenme süresine bağlı olarak değişmektedir²⁴. Bu çalışmalarda, yüksek fruktoz ile beslenme süresi boyunca hayvanların ağırlık artışı olmadığı, dolayısıyla fruktoz ile beslenme sonucu ortaya çıkan metabolik sendromda obezitenin söz konusu olmadığı görülmektedir. Fruktoz ile beslenen hayvanlardaki hipertansiyonun, insülin rezistansının düzeltilmesinden sonra ortadan kalktığı tespit edilmiştir^{1,21}. Egzersiz uygulamasının fruktoz ile beslenen sıçanlarda plazma insülin düzeyini ve hipertansiyonu düzelttiği gözlenmiştir. İnsülin salgılanmasını baskılayan somatostatin hormonunun verilmesinden sonra da insülin salgılanmasının azaldığı ve hipertansiyonun normal değerlere düştüğü görülmüştür²¹. Ayrıca, insülin sensitivitesini geliştiren pek çok bileşik, metformin¹⁷, vanadyum bileşikleri¹⁸, tiyazolidinedionlar²⁰ metabolik sendromlu sıçanlardaki kan basıncı artışını düzelttiği gösterilmiştir.

Metabolik sendromlu hayvanlardaki insülin rezistansı ile hipertansiyon arasındaki mekanizma konusunda pek çok hipotez öne sürülmüştür. Bunlar içinde sempatik sistem aktivasyonu olduğu²⁵, Ang-II, ET-1, TxA₂ gibi endojen vazokonstriktörlerin oluşumunun ya da aktivitesinin arttığı²⁶⁻²⁹ gibi hipotezler sayılabilir. Bunların dışında endotel bağımlı

gevşeme cevaplarındaki azalmanın da hipertansiyona neden olabileceği ileri sürülmüştür³⁰⁻³⁴.

2.1.3. Metabolik Sendromda Endotel Fonksiyon Bozukluğu

Sıçanlara %66 fruktoz içeren yem ile 3, 7, 14, 18 ve 28 günlük diyetler uygulamıştır. Yüksek fruktoz alan bütün gruplarda serum insülin düzeyinde artış olduğu, fakat serum glikoz düzeyinin değişmediği, kan basıncının ise sadece 28 gün fruktoz alan grupta yükseldiği saptanmıştır. Asetilkolinin endotel bağımlı vazodilatör etkisinin, 14, 18 ve 28 gün fruktoz alan gruplarda belirgin olarak azaldığı görülmüştür³⁰. Sıçanlarda fruktoz ile beslenmenin metabolik sendrom oluşturduğunu gösteren ilk çalışmada, sıçanlar %66 fruktoz içeren yem ile 13 gün boyunca beslendikten sonra kan basıncı düzeyinde orta dereceli bir artış olduğu, trigliserit ve insülin düzeyinin belirgin olarak arttığı, fakat kan glikoz düzeyi değişmediği saptanmıştır. Yetişkin erkek fareler içme suyu içinde %11 ya da %25 fruktoz solüsyonu verilerek 17 ay beslenmiştir. Bu sürenin sonunda fruktoz tüketiminin mitokondrideki ana antioksidan enzimlerden SOD aktivitesinin dokularda belirgin olarak azaldığı görülmüştür. Elektron mikroskopik çalışmalar da fruktoz tüketiminin mitokondri fonksiyonunu bozduğunu göstermiştir³⁵.

Sprague-Dawley sıçanlarda 4 hafta yüksek fruktoz içeren diyetle beslenmeden sonra, mezenterik arterde intraluminal çap ölçümü yapılmış ve asetilkolinin oluşturduğu maksimum gevşeme cevabının fruktoz alan grupta belirgin olarak düştüğü görülmüştür. NOS inhibitörü ile ön tedaviden sonra asetilkolinin gevşeme cevabının fruktoz ile beslenen hayvanlarda kontrole göre daha az inhibe olduğu gösterilmiştir³¹. Aynı

araştırmacıların bir başka çalışmasında, video mikroskopisi kullanılarak koroner arterlerde değişiklik olduğu saptanmıştır. Yüksek fruktoz ile beslenen ve insülin rezistansı gelişen sıçanlarda SNP cevaplılığının değişmediği, fakat asetilkolinin E_{maks} değerinde belirgin bir azalma olduğu saptanmıştır. Asetilkolinin fruktoz alan grupta gevşetici etkisinin kısmen K^+ kanallarının açılmasıyla ilgili olduğu gösterilmiştir³².

Diyet içinde yüksek fruktoz verilerek hiperinsülinemi geliştirilmiş sıçanlarda kan basıncında anlamlı bir artış olduğu, fakat rezistans arterlerinden mezenterik arterin noradrenaline vazokonstriktör cevaplarında bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Bu hipertansif hayvanların arterlerinde asetilkolin cevaplarının da belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir. Fakat SNP cevaplılığında bir farklılık gözlenmemiştir³⁴.

Erkek Sprague-Dawley sıçanların yüksek fruktoz içeren diyet ile 40 hafta beslenmesinden sonra tail-cuff metodu ile kan basıncı ölçüldüğünde sistolik kan basıncının fruktoz alan grupta anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Ayrıca, fruktoz alan grupta açlık insülin değerinin yüksek olduğu, fakat plazma glikoz konsantrasyonunda bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Mezenterik arterde asetilkolin gevşemelerinin ise, fruktoz ile azaldığı ve kısmen NOS inhibitörü ile inhibe edildiği gösterilmiştir³³.

Erkek Wistar sıçanlarda yapılan bir çalışmada yüksek fruktoz ile beslenme ile artan kan basıncının gonadektomi sonucu normal değerlere indiği, fakat testosteron verilmesi sonucu tekrar yükseldiği görülmüştür. Mezenterik arterlerde asetilkolin gevşemeleri ise fruktoz ile azaldığı, gonadektomi ile normal değerlere ulaştığı gösterilmiştir³⁶.

Tromboksen sentaz inhibitörü dasmegrelin fruktozun oluşturduğu hipertansiyonu normal değerlere düşürdüğü, fakat insülin sensitivitesindeki azalmayı düzeltmediği gösterilmiştir. Böylece bu çalışmanın sonucu, hiperinsülinemi ile hipertansiyon arasında bir ilişki olamayacağını ileri sürmüştür²⁹.

Fruktoz ile beslenmenin, sıçanlarda hipertansiyon oluşturduğunu gösteren pek çok çalışmada, kan basıncı ölçümü tail-cuff yöntemi ile yapılmıştır. Son yıllarda geliştirilen uzun süreli telemetri kayıtlarında ise, 8 haftalık fruktoz ile beslenmenin kan basıncında belirgin bir değişikliğe neden olmadığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar ile, fruktoz içen hayvanların tail-cuff ile ölçüm sırasında daha fazla strese girerek kan basıncında daha fazla artış olduğu söylenebilir. Bir çalışmada tail-cuff metodu da kullanılmış, fruktoz içenlerin kan basıncının yükseldiği saptanmıştır. Bu çalışmada, plazma trigliserit insülin ve kan glikoz düzeyinde fruktozun önemli artışlar oluşturduğu gösterilmiştir³⁷.

Metabolik sendromda izlenen hiperinsülineminin kan basıncı üzerine etkisini taklit etmek için, dişi Sprague-Dawley sıçanlara yüksek dozda insülin infüzyonu yapılmış ve hayvanların kan glikoz düzeyindeki aşırı düşmeleri önlemek için %10 glikoz solüsyonu ile kan şekeri dengelenmeye çalışılmıştır. İnsülin infüzyonu alan hayvanlarda kan basıncı telemetri sistemi ile ölçüldüğünde, kan basıncında herhangi bir değişiklik olmadığı ve yüksek insülinin damar fonksiyonunu etkilemediği görülmüştür. Böylece, hiperinsülineminin damar fonksiyonunda bozulmaya yol açmayacağı söylenmiştir³⁸.

İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, 21-33 yaş arasındaki 15 sağlıklı gönüllüye 500 ml sıvı içinde 60 g fruktoz ve sükroz verildiğinde fruktoz içen kişilerin kan basıncının 2 saat sonra belirgin bir şekilde yükseldiği, kalp hızının ve kalp debisinin arttığı, fakat total periferik damar rezistansında bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir³⁹. İnsanlar üzerinde glikoz ve fruktozun etkisi, 10 hafta boyunca enerji gereksiniminin %25'ini karşılayacak şekilde içecekler içinde verilmesi ile araştırılmıştır. Visceral adipoz doku dağılımının ve post prandiyal trigliserit, oksidize olmuş LDL ve total kolesterol düzeyinin fruktoz tüketen grupta daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca, açlık plazma glikoz ve insülin düzeylerinin fruktoz tüketen grupta daha yüksek olduğu saptanmıştır⁴⁰.

2.1.4. Metabolik Sendromda Resveratrolün Etkisi

Fruktoz ile beslenen sıçanlarda ortaya çıkan hipertansiyon, resveratrol verilen grupta belirgin olarak azalmış, bu etkinin mezenterik arter eNOS aktivitesindeki artış ve plazma lipit peroksit değerlerinde azalma ile birlikte olduğu bildirilmiştir⁴¹. Spontan hipertansiyonlu sıçanlara resveratrol (4.48 mg/L) 28 gün süre ile içme suyu içinde verildiğinde, kan basıncında önemli bir değişiklik oluşturmadığı, fakat aortada hidrojen peroksit oluşumunu azaltarak asetilkolinin endotel-bağımlı gevşeme cevaplarını artırdığı ileri sürülmüştür⁴². İzole-perfüze sıçan kalbinde koroner arter iskemisi sonucu oluşan fatal ventriküler taşikardi ve fibrilasyon sıklığını azaltarak mortalitede belirgin bir azalma oluşturduğu görülmüştür. Resveratrolün bu etkileri, serbest oksijen radikal oluşumunu baskılamasına bağlanmıştır⁴³. Deneysel olarak oluşturulan spinal kord zedelenmesinin, resveratrol (10 mg/kg) verilen tavşanlarda oksidatif stresdeki inhibisyonla birlikte azaldığı gösterilmiştir⁴⁴. Diyet içinde verilen resveratrolün trigliserit, LDL (düşük dansiteli lipoprotein), HDL

(yüksek dansiteli lipoprotein) ve total kolesterol üzerindeki etkileri çelişkilidir⁴⁵. Bununla birlikte, resveratrolün yüksek kolesterolü diyetle beslenen tavşanlarda kan akışını artırdığı ve aterom plak oluşumunu azalttığı gösterilmiştir⁴⁶.

Resveratrolün, hücrel glutatyon düzeyini ve glutatyon-S-transferaz aktivitesini artırarak, yüksek glikoz ile indüklenen reaktif oksijen türlerinin oluşumunu önlediği gösterilmiştir⁴⁷. Diyabetik sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında, resveratrol tedavisinin karbohidrat metabolizmasındaki ana enzimlerden heksokinaz, piruvat kinaz, laktat dehidrogenaz, glikoz-6-fosfataz, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimlerini ve glikojen düzeylerini normal değerlere yaklaştırdığı bildirilmiştir. Resveratrolün bu olumlu etkileri insülin salınımında oluşturduğu artışla paralellik göstermiştir⁴⁸. Bu bulgunun tersine izole pankreas hücrelerinde yapılan çalışmada, glikozla uyarılan insülin sekresyonunu, resveratrolün baskıladığı saptanmıştır⁴⁹. Tavşanlarda alloxan ile oluşturulan deneysel diyabette, uzun süreli resveratrol tedavisinin insülin salınımını artırdığı, diyabette bozulmuş olan damar endotel işlevini kısmen düzelttiği, fakat kan glikoz düzeylerinde belirgin bir iyileşme sağlamadığı görülmüştür. Resveratrolün bu etkileri, nitrit/nitrat miktarındaki artış ve süperoksit oluşumundaki azalma ile birlikte seyretmiştir. Elektron mikroskopisi ile yapılan çalışmalarda, diyabette bozulmuş olan endotel bütünlüğünün, resveratrol tedavisi ile kısmen korunduğu saptanmıştır⁵⁰. Diyabetin oluşturduğu nefropatide, kreatinin ve üre klerensinin azalması ve proteinüri ile böbrek homojenatlarında süperoksit dismutaz ve katalaz enzim azalması ve malondialdehit artışıyla tanımlanan tabloda, resveratrol ile önemli ölçüde düzelme sağlanmış, fakat kan glikoz düzeyleri değişmemiştir⁵¹. Glikoz verilen obez Zucker sıçanlarda ortaya çıkan iskemik kardiyomiyopati ve reperfüzyon aritmileri, resveratrol tedavisi gören grupta belirgin ölçüde azalmıştır. Bu etkiler, glikoz taşıyıcı

pompalardan GLUT-4 ekspresyonundaki artışla birlikte kan glikoz düzeyinde bir düşmeye neden olmuş, fakat insülin salınımında bir değişiklik olmadığı bulunmuştur⁵². Streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş Sprague-Dawley sıçanların izole kalplerinde, global iskekiye bağılı gelişen sol ventrikül diyastolik fonksiyon bozukluğu ve iskemik alan genişliği resveratrol tedavisi gören hayvanlarda belirgin olarak azalmıştır. Resveratrolün bu olumlu etkileri, oksijenaz-1 (HO-1), damar endotel growth faktörü (VEGF), eNOS protein ekspresyonunda artış ve manganez superoksit dismutaz (Mn SOD) düzeyinde artışla birlikte seyretmiştir. Bu araştırmada resveratrolün kan şekerinde oluşturduğu düşüş dikkate değer bulunmuş, fakat mekanizması anlaşılamamıştır⁵³. Hücre kültürü çalışmasında, hipergliseminin neden olduğu mitokondri kaynaklı süperoksit oluşumunu resveratrolün endojen antioksidanlardan glutatyon ve glutatyon-S-transferazı artırarak önlediği gösterilmiştir⁴⁷.

Fazla yağlı diyetle beslenen sıçanlarda gelişen metabolik sendrom sonucu ortaya çıkan endotel fonksiyon bozukluğu ve hipertansiyonun, 8 hafta aynı anda resveratrol (20 mg/gün) verilmesi ile büyük ölçüde düzeldiği saptanmıştır⁵⁴. Farelere yüksek kalorili diyet verilerek yapılan bir çalışmada, yem içinde günde 22 mg/kg resveratrol verilmesinin, karaciğerde yağ akümülyasyonunu azalttığı, mitokondri sayısını ve insülin duyarlılığını artırdığı ve organ histolojisinde belirgin bir düzelme sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca, bu farelerin yaşam sürelerinin de uzadığı saptanmıştır⁴⁵. Benzeri bir çalışmada, resveratrol içeren yemler ile beslenen farelerde yaşlanmaya bağılı olumsuz değişikliklerden endotel fonksiyon bozukluğu, albuminüri ve apoptozisin azaldığı, aortik elastisite ve motor koordinasyonun arttığı ve kemik mineral dansitesinin korunduğu bildirilmiştir. Bu araştırmada ayrıca, standart yem ile beslenen genç farelere resveratrol verilmesi, yaşam süresini uzatırken ortaya yaştaki hayvanlarda böyle bir etkinin olmadığı ortaya konulmuştur. Farelerde %

30-50 kalori kısıtlaması ya da gün aşırı yiyecek verilmesi uygulaması, yaşlanmaya bağlı belirtilerin geç ortaya çıkmasına ve strese karşı dayancın artmasına neden olmaktadır. Normal diyetlerini alan farelere resveratrol verilmesi, yiyecek kısıtlaması benzeri (dietary restriction mimetic) bir tablonun ortaya çıkmasına neden olmaktadır⁵⁵. Farelerde fazla yağlı diyetle oluşturulmuş metabolik sendromda, resveratrol verilmesinin mitokondri fonksiyonunu ve kas liflerinin oksijen kullanımını artırarak aerobik kapasiteyi yükselttiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada, resveratrolün insülin rezistansı, vücut kitle indeksi ve obeziteyi azalttığı ve soğuğa toleransı artırdığı da rapor edilmiştir⁵⁶. Resveratrolün memelilerde, nikotinamid adenin dinukleotid (NAD)-bağımlı deasetilaz grubundaki sirtuinlerden SIRT-1'i aktive ederek mitokondri biyogenezini artırdığı, böylece enerji metabolizması bozukluğu, kalp-damar ve nöronal hastalıkları düzelttiği ileri sürülmektedir^{45,56,57}. Bu bulgular, resveratrolün yaşlanma ve şişmanlık sonucu ortaya çıkan patolojik tabloyu düzeltebileceğini, böylece sağlığın sürdürülmesine şaşırtıcı bir katkı sağlayabileceğini göstermektedir.

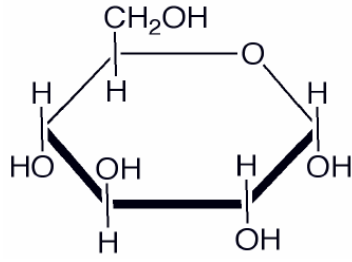
LDL ve TNF-alfa (tumor necrosis factor) ile oluşturulan endotel hücrelerindeki apoptozis ve hücre ölümü resveratrol ile önlenebilmiştir bu etkide onun glutatyon peroksidaz ve hem oksijenaz-1 üzerindeki antioksidan etkisinin rolü olduğu belirtilmiştir⁵⁸. Sigara dumanına maruziyet sonucu ortaya çıkan aortik endotel hücrelerindeki apoptotik hücre ölümü, endotel fonksiyon bozukluğu, reaktif oksijen türlerindeki ve inflamasyon göstergelerindeki (ICAM-1, hücre içi adezyon molekülü, iNOS, IL-6, TNF-alfa) artışın resveratrol ile önendiği ve bu özellikleri ile damar koruyucu nitelikte olduğu gösterilmiştir⁵⁹.

2.2. Fruktoz

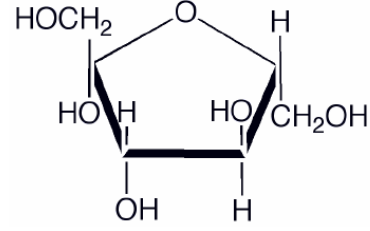
Fruktoz, birçok meyve ve sebzede bulunun bir monosakkarittir. Fruktoz ve glikoz aynı kimyasal formüle sahip olduğu halde yapısı farklıdır. Fruktoz, ticari olarak tatlandırıcı amaçla mısır şurubu adıyla kullanılmaktadır. Tatlıların hazırlanmasında, karbonatlı içeceklerde, hazır yiyeceklerde, bisküvilerde, hazır şekerli gıdalarda ve şekerlemeler içinde bulunmaktadır, ayrıca pastacılıkta sıkça kullanılır. Fruktoz gibi rafine şekerli ürünlerin yüksek miktarda diyetle tüketilmesi dislipidemi obezite insülin rezistansı ve kalp hastalıkları riskini artırır.

2.2.1. Fruktozun Kimyasal Yapısı

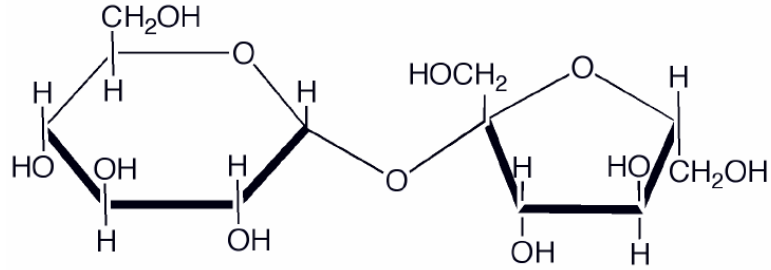
Fruktoz, 2. karbona bağlanmış bir keton grubu taşıyan, 5 karbonlu halkaya sahip bir yapıdadır. Glikoz ise, 6 karbonlu, ilk karbondan bir aldehit grubu taşımaktadır. Fruktoz aynı zamanda süktroz şeklinde disakkarit olarak da yiyeceklerde bulunur. Süktroz içinde fruktoz ve glikoz glikozit bağı ile bağlıdır (Şekil 1).



GLİKOZ



FRUKTOZ



SÜKROZ

Şekil 1. Glikoz, fruktoz ve sükrozun kimyasal yapıları

2.2.2. Fruktozun Absorbsiyonu

Fruktoz ince bağırsaklardan kolaylaştırılmış difüzyon ile absorbe edilir⁶⁰. Sağlıklı kişilerde alınan fruktozun %80-90 oranında absorbe edilebildiği ve kişiler arasında absorpsiyon derecesinin değişebildiği bildirilmiştir⁶¹.

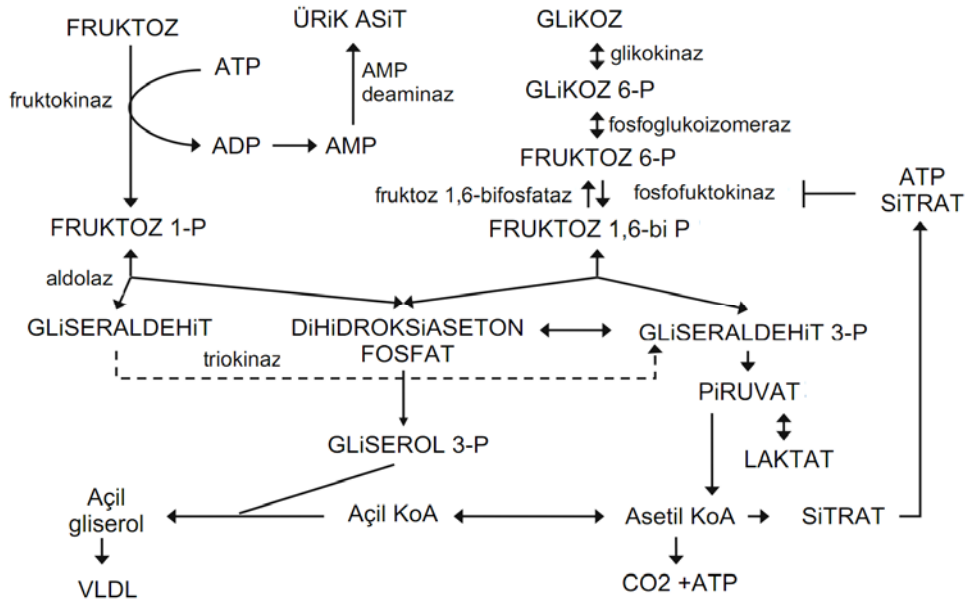
Sağlıklı kişilerde açlık kan fruktoz konsantrasyonunun 1 mg/dl'nin altında olduğu gösterilmiştir. Çok yüksek miktarda fruktoz alınması ile bu değerin 13 mg/dl'ye kadar çıktığı bildirilmiştir. Fruktoz

alımından 60 dakika sonra kan fruktoz düzeyinin en üst noktaya çıktığı gösterilmiştir⁶². Fruktozun sükroz şeklinde alınmasından sonra, kan konsantrasyonunun %40 daha düşük olduğu görülmüştür. Meyve ve sebze içinde alınan fruktozun, kanda ölçülebilir bir düzeye ulaşmadığı saptanmıştır. Bu durum, bu tür besinlerde fruktoz oranının düşük olmasından ve lifli besinlerden absorpsiyon süresi uzamasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, doğal besinler içindeki fruktozun neredeyse tümü karaciğer ve bağırsak enzimleri tarafından metabolize edilmektedir⁶³.

2.2.3. Fruktozun Metabolizması

Fruktozun metabolizması, glikozdan farklılık gösterir ve insülin bağımsız bir şekilde gerçekleşir. Fruktoz yiyecekler içinde alındıktan sonra, fruktoz spesifik glikoz transportu (GLUT-5) aracılığı ile bağırsaklardan absorbe edilir. Fruktoz karaciğerde fruktoz spesifik enzim fruktokinaz ile fosforile edilerek fruktoz-1-fosfata dönüşür. Bu ürün sonra, 3 karbonlu gliseraldehite veya dihidroksiasetonfosfata dönüşür. Bu ara ürünlerin bir kısmı likogenik yoldan glikoza ya da laktat ve trigliserite metabolize olur⁶⁴.

Fruktoz metabolizmasında, gliseraldehitten sonra oluşan pruvat, pruvat dehidrojenaz enzimi ile asetil KoA'ya dönüşür. Oluşan asetil KoA, lipojenezin ilk basamak ürünü olarak uzun zincirli yağ asitlerine dönüşür. Böylece, yüksek miktarda fruktoz tüketimi kontrolsüz trigliserit kaynağı oluşturur.



Şekil 2. Fruktoz ve glikozun karaciğerde metabolizasyonu⁶

2.2.4. Diyetle Fruktoz Alımı ve Zararlı Etkileri

Yüksek fruktoz içeren mısır şurubu, insanlarda fruktoz alımının ana kaynağını oluşturmaktadır. Yüksek fruktoz içeren şurupların gıdalarda tatlandırıcı olarak kullanımı, son on yılda giderek artmıştır. Özellikle karbonatlı içecekler, konserve gıdalar, şekerler, reçeller, jeller ve süt ürünlerinde yüksek fruktoz içeren mısır şurubu kullanılmaktadır. Hazır gıdalarda, yüksek fruktoz içeren mısır şurubu sükroza göre daha ucuz olduğu için tercih edilmektedir. Sükroz içindeki total kaloringin %55'ini fruktoz, % 42'sini glikoz oluşturur. Fruktozun doğal olarak sebze ve meyve ile alınımı günlük 15 g, diğer hazır gıdalar ile alımı günde 81 g'dır. Fruktozun doğal besinler ile alımının dışında 1970'lerde besinlerle alımı günlük 0.5 g iken 1997'de 40 g'a yükselmiştir⁶⁵.

Genelde, aşırı rafine şekerlerin herhangi bir şekilde tüketimi tavsiye edilmez. Çünkü besinler içinde aşırı şeker alımı, vitamin, mineral, aminoasit ve yağ asitlerine göre boş kalori olarak değerlendirilir. Ayrıca, rafine şekerler enerji açısından güçlü enerji kaynağıdır. Çünkü, küçük miktarları ile büyük enerji oluştururlar ve lif içermezler. Aşırı miktarda tatlı almak obezitenin ana kaynağı olarak görülmektedir. Sükroz tüketiminin dış problemlerinin de ana nedeni olduğu düşünülmektedir. Birçok araştırmada, sükrozun diyabet, iskemik kalp hastalıkları, dikkat bozukluğu, insülin rezistansı ve reaktif hipogliseminin sebebi olduğu görülmüştür. Bu konuda tartışmalar halen devam etmektedir.

Bazı araştırmacılar, sükroz ve glikozun tersine fruktoza güvenli şeker olarak bakmaktadır. Çünkü fruktozun hücrelere alımı için insülin salınımı gerekmemektedir. Orta derecede fruktoz alımı kısa sürede kan glikoz düzeyini olumsuz düzeyde etkilememektedir. Sükroz ile karşılaştırıldığında orta derecede fruktoz tüketiminin, reaktif hipoglisemi ve hipoglisemiye bağlı aşırı yeme ihtiyacına daha az neden olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle fruktoz, diyabetli kişilere tavsiye edilmektedir. Glisemik kontrolde fruktoz tüketiminin olumsuz etkileri az olmak ile birlikte metabolizma açısından bakıldığında, fruktoz ciddi yan etkilere sahiptir. Çünkü fruktoz, protein molekülleri ile birleşerek ileri glikasyon son ürünlerine dönüşmektedir ki bu ürünlerin, yaşlanma sürecini hızlandırdığı, diyabet komplikasyonları ve kardiyovasküler hastalık patogenizinde önemli rol oynadığı saptanmıştır. Fruktoz tüketiminin hipertrigliseritemi, hiperürisemi ve insülin rezistansına neden olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, fruktozun kronik diyareye veya diğer bağırsak bozukluklarında semptomların kötüleşmesine neden olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak fazla fruktoz tüketimi, obezite, tip II diyabet ve karaciğer yağlanması'nın nedeni olarak gösterilmektedir. Uzun süreli fruktoz tüketiminin insanlardaki

olumsuz etkileri henüz net bir şekilde belirlenmemiştir, fakat deneysel çalışmalar zararlı olabileceğini göstermektedir⁶³.

2.2.5. Fruktozun İleri Glikasyon Ürünleri ve Yaşlanma

İndirgenmiş şekerleler, protein ve aminoasitlerle reaksiyona girerek aminoşekerler oluşturur. Bu reaksiyona, Maillard reaksiyonu veya glikozidasyon ya da glikasyon adı verilir. Genellikle, reaksiyon protein zincirinin lizin aminoasiti üzerinden bazen de triptofan veya arjinin aminoasiti üzerinden gerçekleşir. Reaksiyon sonucunda glikasyon ürünleri oluşur. Oluşan bu ürünlerin kollajen ve DNA gibi uzun ömürlü moleküller üzerinde toplanarak, yaşlanma sürecinde önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür. Diyabetteki damar, böbrek ve göz problemlerinin glikasyon ürünleri sebebiyle oluşabileceği düşünülmüştür^{66,67}. Maillard reaksiyonu oluşma hızı, alınan şekerin konsantrasyonu ve türüne göre değişir. Besinler içinde fruktoz alınınının, glikozdan düşük olmasına rağmen glikasyon reaksiyonlarına 10 kat daha fazla neden olduğu bildirilmiştir⁶⁸.

Sıçanlara içme suyu içinde 250 g/L fruktoz, glikoz ve sükroz verildiğinde kan glikoz düzeyinin önemli ölçüde değişmediği saptanmıştır. Fakat, glikozile hemoglobin düzeyi ve idrar içindeki lipid peroksit düzeyinin en fazla fruktoz içenlerde görüldüğü bildirilmiştir. Fruktoz içeren besinlerin pişirilme sırasında fruktozun glikasyon ürünlerine dönüşümünün hızlandığı saptanmıştır⁶⁹. Diyet içinde alınan glikasyon ürünlerinin %10'u absorbe edilir. Diyet içinde alınan bu zararlı maddelerin, hayvanlarda yaşam süresini kısalttığı bildirilmiştir⁷⁰. Diyabetli kişilerde, pişirmeye bağlı yiyecekler içinde artan glikasyon ürünlerinin, kardiyovasküler hastalıklara yatkınlığı arttırdığı gösterilmiştir⁶⁹.

Batı tarzı diyetle yüksek ölçüde bulunan fruktozun, protein ve yağlar ile birlikte pişirilmesi sonucunda daha yüksek miktarda glikasyon ürünü kaynağı olduğu bildirilmiştir⁷¹. İnsanların düşük miktarda fruktoz alması ile az miktarda alınan fruktozun ince bağırsakta glikoza dönüştüğü ve tip II diyabetli kişiler tarafından iyi bir şekilde tolere edildiği gösterilmiştir. Tip II diyabetli kişiler üzerinde yapılan bir araştırmada, 50 g glikoz, sükroz ya da fruktoz verilmesinden sonra kan insülin ve glikoz düzeyleri ve glikozürinin en az fruktozda arttığı saptanmıştır⁷². Yine diyabetli kişiler üzerinde yapılan başka bir çalışmada, fruktozun sükroza göre insülin gereksiniminde daha az oynamalara neden olduğu gösterilmiştir⁷³. Fruktoz ile beslenmenin, diyabetli kişilerde glisemik kontrolü 3 ay boyunca iyi bir şekilde sağlayabildiği, postprandial kan glikoz ve insülin düzeylerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir. Böylece, fruktoz içeren diyetin tip II diyabetlilerde glisemik kontrolü ve insülin sensitivitesini iyileştirdiği görülmektedir. Sağlıklı kişiler üzerinde yapılan bir araştırmada, enerjinin %20'sinin fruktozdan alındığında açlık kan glikoz düzeyinin değişmediği, fakat serum total kolesterol ve LDL düzeyinin arttığı saptanmıştır⁷⁴. Sağlıklı erkekler üzerinde yapılan bir başka çalışmada enerjinin %25'ini karşılayacak şekilde günde kilogram başına 3 g fruktoz alınmasının 6 gün içinde insülin rezistansına neden olduğu gösterilmiştir⁷⁵. Benzeri bir başka çalışmada günlük 1000 kcal fruktoz alınının bir hafta içinde sağlıklı kişilerde insülin rezistansı geliştirdiği gösterilmiştir⁷⁶.

Diyabette orta dereceli fruktoz tüketiminin glikoza göre daha emniyetli bir şeker olarak görüldüğü halde, fruktozun metabolizma üzerindeki advers etkilerinin geç dönemde sorun olması beklenmektedir. Fruktoz alımı, diyabetli kişilerde özellikle el ve ayaklarda dolaşım bozukluğuna neden olmaktadır⁶³. Doku protein glikasyonu ve oksidatif stresten dolayı el ve bacaklarda kan dolaşımını kötüleştirdiği bildirilmiştir.

Diyet içinde %62 fruktoz içeriği ile beslenen erkek sıçanların karaciğerde ve böbrekte sorbitol konsantrasyonunun arttığı, fakat dişi sıçanlarda değişmediği saptanmıştır⁷⁷. Tip II diyabetli 38 kişi üzerinde yapılan bir araştırmada, yüksek fruktoz ile beslenme sebebiyle diyabetik retinopatinin hastaların %75'inde kötüleştiği gösterilmiştir⁷⁸.

2.2.6. Fruktozun Bağırsak Fonksiyonu Üzerine Etkileri

Glikozdan farklı olarak fruktozun bağırsaktan absorpsiyon kapasitesi sınırlıdır. Fruktozun %10'luk solüsyonu verilen kişilerin bazılarında 5 g, bazılarında ise 50 g fruktozun absorbe edildiği bildirilmiştir. Absorbe olmadan kalan fruktoz, bağırsak içinde ozmotik gradiente uygun olarak bağırsak lümenine su çekerek, diyare, abdominal ağrı ve şişkinliğe neden olduğu saptanmıştır. Ayrıca, bağırsakta kalan fruktozun bağırsakta bakteri üremesini arttırdığı saptanmıştır. Yüksek miktarda verilen fruktozun iyi absorbe edilememesinden dolayı, kişilerin %50'sinde bağırsak şikayetleri meydana gelmiştir⁷⁹. Fruktoz malabsorpsiyonu glikoz ile birlikte verildiğinde azalmaktadır. Sorbitol ise, fruktoz absorpsiyonunu engellemektedir. Şeftali ve elmada fruktoz içeriği glikoz içeriğinden fazla olmasına rağmen sorbitol içeriği de fazla olmasından dolayı elma ve şeftali suyunun kronik verilmesi çocuklarda diyareye neden olur.

2.2.7. Fruktozun Obezite ile İlişkisi

Günümüzde, yüksek fruktoz içeren mısır şurubu tüketimindeki artışın şişmanlık ile paralellik gösterdiği bildirilmiştir. Son

yıllarda, fruktoz tüketimindeki artışın obezitenin yayılmasında en önemli faktör olduğu öne sürülmüştür. Yapılan bir araştırmada, 51,603 kadın izlenmiş ve yüksek şekerli içeceklerin tüketimine bağlı kilo alınımında artış olduğu saptanmıştır⁸⁰. Ortalama yaşı 11.7 olan 548 okul çocuğu üzerinde yapılan 11 aylık gözlemsel çalışmada, yüksek fruktoz şurubu içeren içeceklerle beslenen çocuklarda total enerji alımı sabit olsa bile obezitede artış olduğu saptanmıştır⁸¹. Maymunlarda yapılan bir araştırmada sükröz tüketiminin glikoza göre abdominal obeziteyi daha fazla arttırdığı ve sükrözün bu etkisinin içerisindeki fruktoza bağlı olduğu saptanmıştır⁸². Farelerde yapılan bir çalışmada ise, yüksek fruktozlu diyetin visceral yağ artışına neden olduğu bildirilmiştir⁸³.

Sağlıklı 24 kişi üzerinde yapılan eşit enerjili bir diyet uygulamasında, diyetin %17'si fruktoz olan grup ile %14'ü glikoz olan grup karşılaştırıldığında açlık ve tokluk plazma trigliserit konsantrasyonunun fruktoz alan grupta daha yüksek olduğu görülmüştür. Fakat ilginç olarak kadınlarda fruktozun böyle bir etkisinin olmadığı saptanmıştır⁸⁴. Gönüllü erkekler üzerinde yapılan bir başka çalışmada, enerjinin %20'sinin fruktoz ile sağlanması durumunda plazma trigliserit düzeyinin anlamlı ölçüde arttığı saptanmıştır. Fruktozun bu etkisinin, hiperinsülinemik erkeklerde çok daha belirgin olduğu belirtilmiştir⁸⁵.

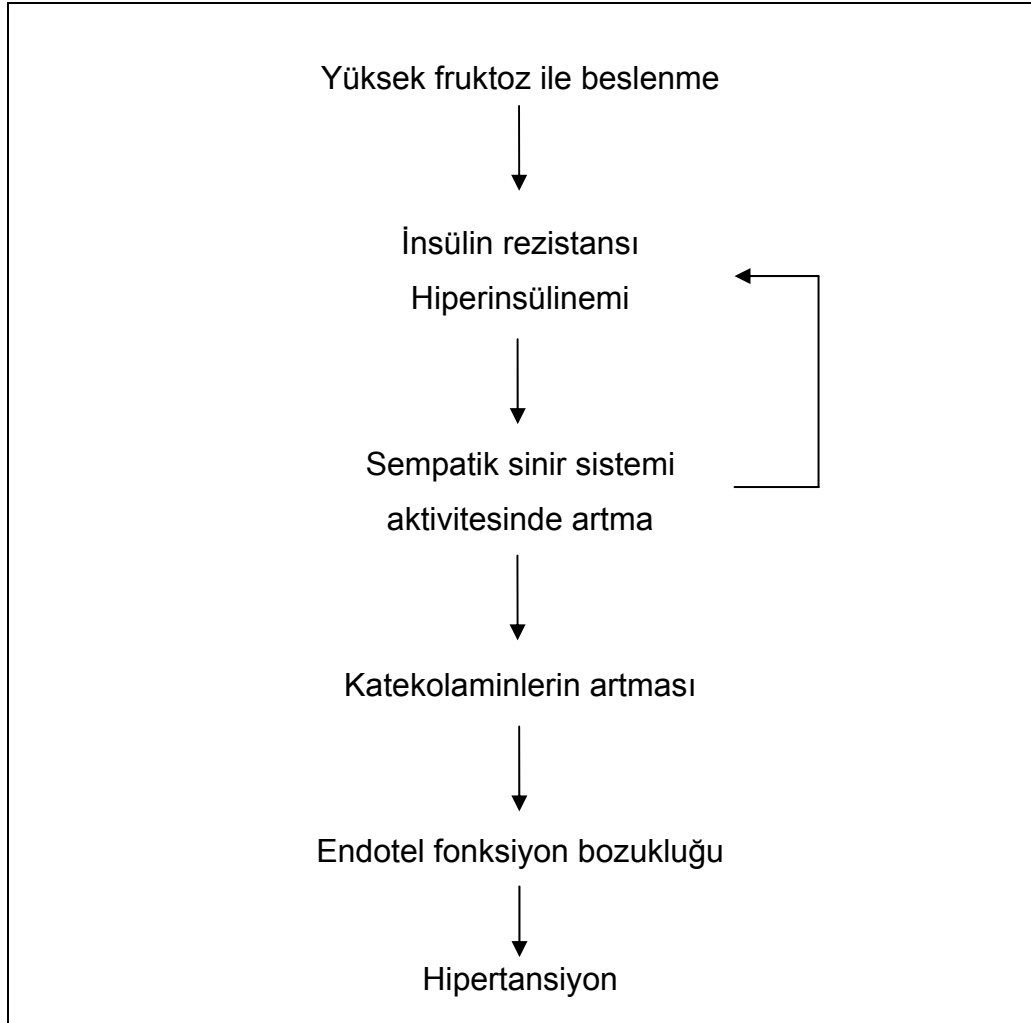
2.2.8. Fruktozun Hormonal Etkileri

Fruktozun hormonal etkileri, glikoz ile birçok yönden farklıdır. Fruktoz alınması, glikozun aksine insülin salınımında büyük bir artışa sebep olmaz, çünkü pankreas fruktoz transportu GLUT5 taşımaz⁸⁶. Fruktoz aynı zamanda insülin salgılatıcı hormon olan gastrin inhibitör peptit

salınımını uyarmaz^{87,88}. Ayrıca, fruktozun glikozdan bir diğer farkı, fruktoz leptin (doyma hissi oluşturan hormon) uyarısı oluşturmaz^{89,90}. Deney hayvanlarının uzun süre fruktoz ile beslenmesi sonucu leptin rezistansı geliştiği ve doyma hissinin kaybolduğu saptanmıştır. Fruktoz plazma adiponektin (glikoz homeostazını sağlayan hormon) düzeyini artırır. Benzer şekilde, fruktoz ile beslenen sıçanlarda adiponektin hormonuna rezistans gelişebilir^{89,90}.

2.2.9. Fruktozun Hipertansif Etkileri

Fruktoz ile beslenen sıçanlar, metabolik sendrom ve hipertansiyon arasındaki ilişkiyi çözmek için sıkça kullanılan bir modeldir. Fruktoz ile beslenen sıçanlarda metabolik sendromun farklı özelliklerinden hipertansiyonun geliştiği gözlenmiştir. Huwang ve ark. ilk kez yüksek fruktoz ile beslenen hayvanlarda insülin rezistansı, hipertrigliseritemi ve hipertansiyon geliştiği saptamıştır. Çeşitli laboratuvarlarda, standart rodent diyetine fruktoz eklenmesi ile 4-8 haftalık periyotlardan sonra sistolik kan basıncının yükseldiği, fakat ortalama kan basıncının değişmediği rapor edilmiştir^{23,29}. Fruktoz ile beslenmenin etkisi konsantrasyon ve zamana bağlı olarak değişmektedir²⁴. Fruktoz ile beslenen sıçanlarda, kan basıncındaki yükselmenin 3 aylık süre içinde olduğu bildirilmiştir. Yüksek fruktoz ile beslenen sıçanlarda 4-8 haftada kilo artışı görülmemektedir^{23,29,91}.



Şekil 3. Yüksek fruktoz ile beslenen sıçanlarda hipertansiyon gelişimi⁶⁴

2.2.10. Fruktoz Tüketimi ile İnsülin Rezistansı İlişkisi

İnsülin rezistansı, insülinin hapatik glikoz oluşumunu baskılamadaki yetersizliği olarak tanımlanabilir. Fruktoz ile beslenen sıçanların karaciğerlerinden glikoz salınımı, insülin ile baskılanamamaktadır. Fruktoz ile beslenen sıçanlarda, bütün vücut hücrelerinin insülin duyarlılığında azalma gözlenir. Oral glikoz tolerans testi sonucunda görülen insülin sensitivite indeksindeki azalmalar, fruktoz ile beslenen hayvanlarda insülin rezistansı oluştuğunu göstermektedir⁹².

Bazı çalışmalarda, fruktoz beslenen sıçanlarda sürekli yüksek plazma glikoz düzeyi bildirilmiştir¹⁹. İskelet kası ve karaciğer örneklerinde yapılan araştırmalarda, insülin reseptör dansitesinin mRNA ölçümleri ile azaldığı tespit edilmiştir⁹³. Aynı zamanda post reseptör düzeyde insülin sinyal iletiminde de bazı eksiklikler olduğu saptanmıştır⁹⁴.

Fruktoz ile beslenen hayvanlar, egzersiz bandına alındıktan sonra insülin duyarlılığındaki iyileşme ile hipertansiyon oluşumu önlenmektedir⁹⁵. İnsülin sensitivitesini geliştiren ajanlar kan basıncında da düşüş oluşturur⁶⁴. Bütün bu bulgular insülin rezistansı ve hiperinsülineminin hipertansiyon gelişimine yol açabileceğini gösterir.

2.2.11. Fruktoz ile Endotel Fonksiyon Bozukluğu İlişkisi

Endotel fonksiyon bozukluğunun, insülin rezistansı ve hipertansiyon gelişiminin altında yatan temel mekanizma olduğu ileri sürülmüştür³¹. Çeşitli çalışmalarda, fruktoz ile beslenen sıçanlarda asetilkolinin endotel bağımlı gevşeme cevaplarında azalma olduğu gösterilmiştir^{30,32-34,36,96,97}. Fakat, α -reseptör cevaplılığında değişiklik olmadığı saptanmıştır. Yüksek fruktoz ile beslenmenin vazokonstriktör cevaplar üzerindeki etkisi çok açık değildir. Yüksek fruktoz ile beslenen sıçanların torasik aortasında fenilefrin ve Ang-II cevaplarının erken dönemde arttığı, geç dönemde değişmediği gösterilmiştir. Bir başka çalışmada, KCl, fenilfrin ve endotelin vazokonstriktör etkisinde herhangi bir fark olmadığı saptanmıştır. Sıçan kuyruk arterinde yapılan bir çalışmada, noradrenalinin vazokonstriktör etkisine duyarlılıkta bir azalma olduğu saptanmıştır. Çeşitli deneylerde vazokonstriktör ajanlara verilen

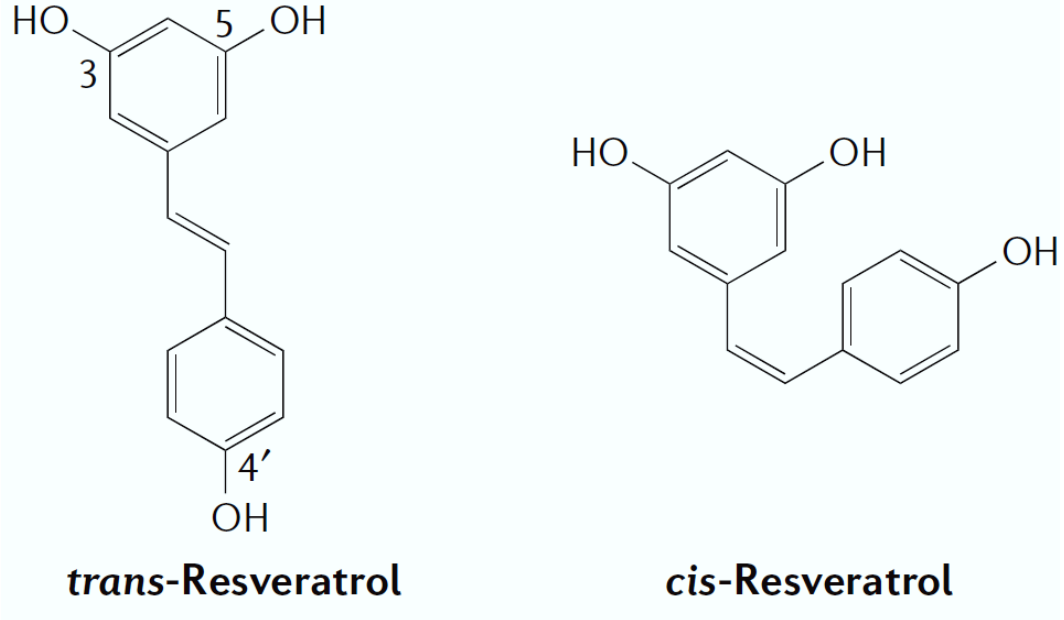
cevaplardaki farklılıkların, deneysel dizaynın ve sıçan türlerinin fruktoz ile beslenme süresinin farklı olmasından kaynaklandığı söylenebilir.

İnsülin rezistansının, endotel fonksiyon bozukluğunun nedeni mi sonucu mu olduğu net olarak bilinmemektedir. İnsülin rezistansının endotel üzerindeki doğrudan etkisi sonucu, endotel fonksiyon bozukluğu olabileceğini ileri süren bazı araştırmalar bulunmaktadır^{98,99}. Endotel fonksiyon bozukluğundan dolayı iskelet kaslarının kan akışının azalması, bu dokularda glikoz transportunun bozulmasına neden olur¹⁰⁰. Fruktoz ile beslenmenin 3. gününde hiperinsülineminin olduğu ve endotel fonksiyon bozukluğunun 18. günde saptandığı, 28. günde ise, hipertansiyon saptandığı görülmüştür³⁰. Bu tür hayvanlarda antihipertansif tedavinin endotel fonksiyon bozukluğunu düzeltmediği ve bu olayın geri dönüşsüz bir biçimde olduğu saptanmıştır¹⁰¹. Bu bulgular ışığında, endotel fonksiyon bozukluğunun insülin rezistansı sonucu olduğu söylenebilir. İnsülin rezistansı ile hipertansiyon arasındaki bağ net olarak anlaşılmamakla birlikte, sempatik sinir sistemi aktivasyonu nedeniyle olduğu düşünülmektedir^{25,102,103}. Bazı araştırmalarda vazokonstriktör ajanlardan ET-1, Ang-II ve TxA₂'ye verilen cevaplılığın arttığı gözlenmiştir^{30,32,33,36,96,97}.

2.3. Resveratrol

Resveratrol (3, 5, 4'-trihidroksitilben) stilbenler olarak bilinen bir polifenolik bileşik grubuna dahil, polifenolik yapıda, fakat steroid olmayan bir bitki metabolitidir. Bu bileşiğin bitkiler tarafından zedelenme, fungal saldırılara karşı veya ultraviyole radyasyona bir cevap olarak üretildiği anlaşılmıştır. Resveratrol genel olarak, üzüm, fıstık, ananas, ökaliptus ve *Polygonum cuspidatum* adlı bitkinin köklerinde bulunmaktadır¹⁰⁴.

Resveratrol, *cis* ve *trans* izomerleri olan yağda çözünebilen bir bileşiktir (Şekil 4). *Trans* izomerlerinin biyolojik aktivitelerinin *cis* izomerlerine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. *Trans*-resveratrol, ultraviyole varlığında *cis*-resveratrole dönüşmektedir¹⁰⁵. Bitkilerde *cis*- ve *trans*-resveratrolün her ikisi glukozit halinde bulunabilirler. Resveratrol-3-O-beta-glukozit "piceid" olarak da adlandırılır.



Şekil 4. Resveratrolün *trans* ve *cis* izomerlerinin kimyasal yapısı

2.3.1. Resveratrolün Farmakokinetiği ve Biyoyararlanımı

Resveratrol besinler ile alındığında, gastrointestinal kanaldan iyi absorbe olur. Yapılan çalışmalarda resveratrolün bağırsaklardan emildiği ve 30 dakika içinde plazma doruk konsantrasyonuna ulaştığı gösterilmiştir¹⁰⁶. Resveratrol sistemik dolaşıma girdikten sonra karaciğerde glukuronidlere metabolize olmaktadır.

2.3.2. Resveratrolün Vazodilatör Etkisi

Resveratrolün vazodilatör aktivitesinin yüksek olduğu düşünülmektedir. Deney hayvanları ve insan damarlarında yapılan

Çalışmalarda, resveratrol (1-100 µmol/L) endotel bağımlı ve endotel bağımsız gevşemelere neden olmaktadır¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. Resveratrolün oluşturduğu endotel bağımlı gevşeme yanıtları eNOS, endoteldeki nitrik oksit sentaz, aktivasyonuna ve süperoksit radikal süpürücü özelliğine bağlanabilir¹⁰⁹⁻¹¹².Yapılan bir çalışmada, diyabetli farelere 4 hafta boyunca ağızdan resveratrol (20 mg/kg) tedavisi verilmiştir. Diyabet sebebiyle azalan asetilkolinin vazodilatör etkisinin resveratrol tedavisi ile düzeldiğı gösterilmiştir.

İnsan umbilikal ven endotel hücre kültürlerinde kırmızı şarabın polifenolleri içinde, *trans* resveratrolün eNOS protein ekspresyonunu en çok uyaran bileşik olduğu gösterilmiştir¹¹³. Yapılan bir çalışmada endotelli sıçan aortasında resveratrolün noradrenalin ve fenilefrinin oluşturduğu kasılmaları azalttığı gösterilmiştir. Noradrenalin ve fenilefrinin ile kastırılan aortalarda resveratrol, 10⁻⁵ M üzerindeki dozlarda kasılmaları anlamlı şekilde düşürmüştür. Fakat L-NNA (1µM) inkübasyonu ile resveratrolün bu vazodilatör ekisinin ortadan kalktığı saptanmıştır¹⁰⁷.

Resveratrolün vazodilatör etkisini inceleyen bir çalışmada, insanlardan alınan safen ven ve internal meme arterlerinde 70µM resveratrolün endotel aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Resveratrolün bu dozda, insan safen veninde ve internal meme arterinde anlamlı bir şekilde gevşeme sağladığı görülmüştür. Aynı şekilde uygulanan resveratrolün endoteli kazınmış damarlar üzerine etkisi ve nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NOARG'ın preinkübasyonu sonrası etkisi incelenmiştir. Resveratrolün sağladığı gevşemenin, internal meme arterinde tümüyle, safen vende ise kısmen ortadan kalktığı saptanmıştır. İndometazin (10⁻⁵ M) inkübasyonu ise hem internal meme arterinde hem de safen vende resveratrolün oluşturduğu gevşemeleri değıştirmemiştir. Resveratrolün

safen vende ve internal meme arterinde endotel bağımlı ve NO aracılığıyla gevşeme oluşturduğu ve resveratrolün endotel fonksiyonunu artırdığı saptanmıştır¹⁰⁹. Bu çalışmalar göstermektedir ki, resveratrolün vazodilatör etkisi büyük ölçüde endotel bağımlı ve nitrik oksit aracılı bir şekildedir¹⁰⁹.

Yapılan çalışmalarda resveratrolün, NO ile birçok ortak fizyolojik özelliği saptanmıştır. Resveratrolün gösterdiği vazodilatör, antiinflamatuvar ve antiplatelet aktivitelere NO da sahiptir^{114,115}. Ayrıca, resveratrol ve NO antioksidan aktivite göstererek lipid peroksidasyonunu azaltabilir. Resveratrol ile NO'nin birçok ortak biyolojik aktivite göstermesi resveratrolün faydalı etkilerini NO aracılığıyla sağladığını göstermiştir¹¹⁶.

2.3.3. Resveratrolün Antioksidan Etkisi

Yapılan çalışmalarda, üzüm ve çekirdeğinde ve kırmızı şarapta bulunan polifenolik bileşiklerden resveratrol, epikateşin ve kersetinin LDL oksidasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır. Resveratrolün bu bileşikler içinde daha güçlü bir şekilde LDL peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir¹¹⁷. Resveratrolün LDL oksidasyonunu önleyici etkisinin, esas olarak bakırla şelasyon sonucu ortaya çıkan serbest radikal süpürücü etkiden kaynaklandığı anlaşılmıştır¹¹⁸. Hücre kültürü çalışmasında, hipergliseminin neden olduğu mitokondri kaynaklı süperoksit oluşumunu, resveratrolün endojen antioksidanlardan glutatyon ve glutatyon-S-transferazı artırarak önlediği gösterilmiştir⁴⁷.

2.3.4. Resveratrolün Estrojenik ve Antiestrojenik Etkileri

Estrojenler memeliler tarafından sentezlenen estrojen reseptörlerine bağlanarak etki gösteren steroid hormonlardır. *Trans*-resveratrol kimyasal yapıca estrojen agonisti olan dietilstilbestrole benzemektedir. Bu sebeple, resveratrol bir estrojen agonisti olarak etki gösterebilir. Resveratrol 17 β -estradiol yokluğunda zayıf estrojen agonisti olarak etki eder, fakat 17 β -estradiol varlığında estrojen antagonisti olarak işlev görerek 17 β -estradiol etkisini inhibe eder¹¹⁹. Resveratrol, estrojen reseptörlerine bağlanıp onları aktive edebilir, bu sebeple fitoöstrojen olarak tanımlanabilir¹²⁰.

2.3.5. Resveratrolün Antikarsinojenik Etkisi

Resveratrolün antikarsinojenik etkisi ile ilişkili çalışmalarda resveratrolün çok sayıdaki kanser hücre proliferasyonu inhibe ettiği ve resveratrol tüketiminin göğüs kanseri riskini azalttığı bildirilmiştir^{121,122}. Fakat insan meme kanser hücreleri ile yapılan bir araştırmada estrojen reseptörler üzerinden, resveratrolün hücre proliferasyonunu daha da arttırdığı saptanmıştır¹²⁰. Resveratrolün cilt kanseri üzerine etkisini araştıran bir çalışmada ise, resveratrol (25 μ M) uygulanan farelerde tümör sayısı büyük ölçüde azalmıştır¹¹⁴.

2.3.6. Resveratrolün Trombosit Fonksiyonu Üzerine Etkileri

Ateroskleroz gelişimindeki en erken olaylardan biri, enflamatuvar akyuvar hücrelerinin vasküler hücre adezyon molekülleri vasıtasıyla kandan arter duvarına toplanmalarıdır. Resveratrolün, miyokard infarktüsü ve damar tıkanıklıklarının en önemli nedenlerinden trombosit agregasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir¹²³. Sağlıklı bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada 28 gün süreyle 4 mg/L resveratrol alımının TxA_2 oluşumunu azalttığı ve trombositlerin agregasyona karşı direncini arttırdığı saptanmıştır¹²⁴.

2.3.7. Resveratrolün Lipit Profili Üzerine Etkileri

Resveratrolün kalp damar sistemi üzerindeki faydalı etkilerinden birisi de LDL oksidasyonunu inhibe etmesidir¹²⁵. Tek doz (60 mg/kg) intravenöz streptozosin enjeksiyonu ile diyabet oluşturulmuş sıçanlar üzerinde yapılmış bir çalışmada, resveratrolün doza bağımlı olarak plazma lipit konsantrasyonlarını düşürücü etkisi olduğu gösterilmiştir¹²⁶. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, günlük diyetle resveratrol eklenmesinin serum LDL, VLDL ve trigliserit düzeylerini düşürdüğünü ve safra asitleriyle atılımının arttığı saptanmıştır¹²⁷.

2.3.8. Resveratrolün Diyabet Üzerine Etkisi

Resveratrolün diyabette faydalı etkisinin olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Siyah üzüm ve kırmızı şarap içeriğindeki

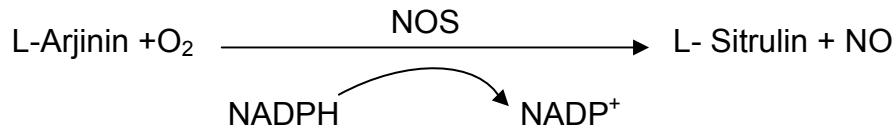
flavonoid ve antosiyanin gibi maddeler, sağlık açısından çok faydalıdır. Bu flavonoidlerinden quercetinin, deneysel olarak diyabet yapılmış sıçanlarda insülin salınımını arttırarak antidiyabetik etkiler oluşturduğu gösterilmiřtir¹²⁸. Yapılan bir çalışmada, streptozosin (60 mg/kg) ile diyabet yapılmış sıçanlarda resveratrol, diyabetin temel semptomları olan vücut ağırlığında düşüş, polifaji ve polidipsi gibi belirtilerde iyileşme sağlamış, aynı çalışmada resveratrol verilmesinin konsantrasyon bağımlı kan glikoz düzeyinde düşürücü etkisi olduğu gösterilmiřtir¹²⁶. Sıçanlar kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada, resveratrolün (3 mg/kg) intraperitoneal verilmesiyle insülin salınımında artış yaparak kan glikoz düzeyini düşürücü etkisi olduğunu saptanmıştır. Resveratrolün bu etkisinin pankreasın beta hücrelerindeki K⁺ kanallarını bloke etmesiyle gerçekleştiği düşünölmektedir¹²⁹. Wistar sıçanları kullanılarak yapılmış bir çalışmada, deneysel olarak streptozosin (60 mg/kg) ile insülin bağımlı diyabet oluşturulmuş ve diğer bir grupta nikotinamid (200 mg/kg) intraperitoneal enjeksiyonu sonrası streptozosin (60 mg/kg) ile insülin bağımsız diyabet oluşturulmuş ve resveratrolün doza bağımlı hipoglisemik etkisi olduğu gösterilmiştir. Resveratrol her iki grupta da insülin düzeyini artırmıřtır¹³⁰. Resveratrolün yüksek glikoz ile indüklenmiş oksidatif stress üzerine etkisini araştıran bir çalışmada sığır aortik endotel hücreleri kullanılmıştır. Bu çalışmada gruplar; düşük glikoz (7 mM), yüksek glikoz (30 mM) ve yüksek glikoz (30 mM) ile resveratrol (10 µM) şeklinde belirlenmiştir. Bu alışma sonunda resveratrolün, yüksek glikoz ile indüklenen reaktif oksijen türleri oluşumunu bloke ettiği görölmüřtür⁴⁷.

2.4 Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO), azot ve oksijenden oluşan 2 atomlu endojen bir serbest radikaldır. Tıpta kullanılan birçok ilaç etkisini nitrik oksit üzerinden gösterir. Çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik olaylardan sorumlu bir sinyal molökülü olan nitrik oksit, esansiyel bir aminoasit olan L-arjininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile üretilir¹³¹.

2.4.1. Nitrik Oksit Biyosentezi

Nitrik oksit, L-arjininde bulunan guanidin grubundaki azot ile nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve moleküler oksijen (O₂) varlığında sentezlenir (Şekil 5). Nitrik oksit üretiminden sorumlu nitrik oksit sentaz enziminin 3 izoformu bulunmaktadır, bunlar; sinir hücrelerinde bulunan nöronal NOS (nNOS), immünolojik uyarılarla indüklenen ve bütün hücrelerde bulunan indüklenebilir NOS (iNOS) ve endotel hücrelerindeki endotel kaynaklı NOS (eNOS)'dur¹³².



Şekil 5. Nitrik oksit biyosentezi

2.4.2. Nitrik Oksit Sentaz İnhibisyonu

NOS inhibisyonu birçok vasküler deneyde kullanılmaktadır. Nitrik oksit sentezi L-arjinin analoglarıyla inhibe edilir. Bunlar arasında en çok kullanılan L^G-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME), N^G-nitro-L-arjinin (L-NOARG) ve N-iminoetil-L-ornitin (L-NIO) sayılabilir¹³².

2.4.3. Nitrik Oksitin İnaktivasyonu

Nitrik oksit kararsız yapıda bir moleküldür. Doğrudan ilaç olarak kullanılmamasının sebebi yarılanma ömrünün sadece 3-5 saniye olmasıdır. Nitrik oksitin büyük bir kısmı, oksijen ile reaksiyona girerek nitrit ve nitrat haline dönüşür ve inaktive olur¹³³.

2.4.4. Nitrik Oksitin Etki Mekanizması

Nitrik oksit etkisini guanilil siklazin aktivasyonu ile gösterir. Guanilil siklaz enzimi ise, guanozin trifosfat (GTP)'ı ikinci haberci molekül olan 3',5'-siklik guanozin monofosfat (sGMP)'a dönüştürerek birikimine neden olur. sGMP, miyozin hafif zincir kinazın deaktivasyonu ile düz kas gevşemesi yapar¹³².

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER:

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. Deneylerde 180–220 g ağırlığında erkek Wistar türü sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Satış merkezinden temin edilmiştir. Deneylerde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyoduna uyulmuş, hayvanlar sıcaklığı 21–24 °C olarak ayarlanmış bir ortamda tutulmuştur. Hayvanların tümü 10–12 hafta boyunca standart sıçan yemi ile beslenmiştir. Hayvanlara verilen yem; 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 içermektedir. 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.

Hayvanlar 10-12 haftalık süre sonunda karbondioksit ile sakrifiye edilerek intrakardiyak yolla kan ve aorta örnekleri toplanmış, kan glikoz düzeyi Accu-Check Go (Roche) şeker ölçüm cihazı kullanılarak periyodik aralıklarla en az 3 kere ölçülmüştür. Alınan kan örnekleri derhal

2200 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmış ve -85 °C'de saklanmıştır.

Deney grupları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir:

Grup 1: Kontrol (genç)

Grup 2: Kontrol (yaşlı)

Grup 3: Resveratrol içen kontrol grubu(50 mg/L içme suyu içinde, 12 hafta, n=6): Resveratrol

Grup 4 : Fruktoz içen kontrol grubu (% 10 içme suyu içinde, 10 hafta, n=6)
: Fruktoz 10

Grup 5 : Fruktoz içen kontrol grubu (% 20 içme suyu içinde, 10 hafta, n=6)
: Fruktoz 20

Grup 6 : Fruktoz ile birlikte resveratrol içen grup (% 20 fruktoz 10 hafta ve 50 mg/L Resveratrol içme suyu içinde 12 hafta, n=6): Resveratrol+ Fruktoz 20

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler (L-NOARG, asetilkolin, fenilefrin) Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)'dan sağlanmıştır. Sodyum nitropursiyat (SNP) (Nipruss) Adeka İlaç Sanayi

(Türkiye)'nden satın alınmıştır. Fruktöz Cargill Gıda San. A.Ş.'den, *trans*-resveratrol Sigma ve Herb-Tech (China)'den sağlanmıştır. Diğer kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Merck ve Tocris firmalarından sağlanmıştır. Ölçüm kitleri olarak insulin kiti, Mercodia firmasından sağlanmıştır. Asetilkolin, 0.001 N HCl içinde çözülmüştür. İleri seyreltimler Krebs çözeltisi kullanılarak yapılmıştır.

Deneylerde Kullanılan Krebs Çözeltisinin Bileşimi (mM):

NaCl: 118, KCl: 4.73, KH₂PO₄: 1.2, MgSO₄:1.2, CaCl₂: 2.5, NaHCO₃: 25, Glikoz: 11, EDTA: 0.026.

3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.3.1. *In vitro* İzole Organ Banyosu Deneyleri

- Çift cidarlı izole organ banyosu (EMKA, Technologies, Paris)
- Gerim ölçer (İzometrik Transducer 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 Lipit Düzeyi Ölçümü

- Soğutmalı santrifüj (High Speed Brushless Centrifuge MPW 350R)
- Soğutucu (-85 °C) (Sanyo –MDF-U5186S)

3.3.3. Serum İnsülin Düzeyi Ölçümü

- Mercodia Rat Insulin Elisa 10-1124-01

3.3.4. Sistolik Kan Basıncı Ölçümü

- Kuyruktan kan basıncı ölçüm sistemi (Tail-Cuff, BIOPAC Systems, NIBP200A)
- Isınma kabini (Animal Heating Chamber)

3.4. Kullanılan Yöntemler

3.4.1. Sıçan Aorta Halkalarının İzole Organ Banyosu İçin Hazırlanışı

Sıçanlar, CO₂ uygulanarak sakrifiye edilmişlerdir. Toraks ve abdomen hızla açılarak torasik aorta izole edilmiş ve soğuk ve oksijenize edilmiş Krebs çözeltisi içine alınmıştır. Krebs içine alınan torasik aorta çevre ve adipoz dokularından temizlenerek ve yaklaşık 3 mm'lik halkalar şeklinde kesilmiştir. Aorta halkalarının hazırlanması sırasında endotel dokusunun tahrip edilmemesi için azami dikkat gösterilmiştir. Aynı hayvanın torasik aortasından 4-8 halka oluşturulmuş ve paralel olarak çalışılmıştır. Her preparat yalnızca bir deney için kullanılmıştır. Hazırlanan damar parçaları %95 O₂ ve %5 CO₂ ile oksijenlenen ve 37°C'de krebs çözeltisi içeren 5 cc'lik izole organ banyosuna paslanmaz çelikten yapılmış üçgen şeklinde kancalı tel halkalar arasında sabitlenerek yerleştirilmiştir. Dokular organ banyosuna yerleştirildikten sonra 1 g'lık öngerim verilerek 1-1.5 saat süre ile dengeye gelmesi sağlanmıştır. Dengelenme süresi

içinde 1 g'ın altına inen gerimler tekrar arttırılarak 1 g düzeyinde kalması sağlanmıştır. Bu süre içinde, organ banyosundaki çözelti her 15 dakikada bir defa değiştirilmiştir. Damarların gerimlerindeki değişiklikler, transducer (EMKA Technologies, Paris, gerim ölçer) aracılığıyla bilgisayara kaydedilmiştir.

3.4.2. Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları

İzole organ banyosundaki aorta halkaları, dengelenme üresinin ardından 40 mM KCl ile kastırılmıştır. KCl uygulaması üç defa tekrarlanmış ve benzer kasılma cevabı gösteren dokularda deney protokolüne geçilmiştir. KCl'e 1 g'dan az cevap veren dokular deneyden çıkarılmıştır. Deney gruplardaki sıçanlardan alınan aorta halkalarında fenilefrin doz cevap eğrisi 10^{-9} - 10^{-4} M aralığında kümülatif uygulanarak çalışılmıştır. Bu doz cevap eğrisinden fenilefrinin submaksimal (% 80-90) kasılma oluşturan konsantrasyonu 10^{-6} M olarak saptanmıştır. Kontrol ve deney grubundaki sıçanlardan izole edilen endoteli sağlam aortalar 10^{-6} M fenilefrin ile prekontrakte edilmiştir. Fenilefrin kasılması düzgün bir plato oluşturduktan sonra asetilkolin artan konsantrasyonlarda kümülatif olarak uygulanmıştır. Asetilkolinin her doz uygulaması bir önceki dozun etkisinin tamamlanmasından sonra yapılmıştır. Asetilkolin (10^{-4} - 10^{-9} M) ve sodyum nitropursiyat (10^{-5} - 10^{-10} M) için kümülatif uygulamalar sonucu basamaklı doz cevap eğrileri elde edilmiştir. Nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü, L-NOARG (100 μ M) ile 30 dakikalık preinkübasyon sırasında oluşan kasılmalar ölçülmüştür. NOS inhibitörleri ile nitrik oksit oluşumunun inhibisyonu, ön tonussüz arterlerde bazal endotel kaynaklı nitrik oksit oluşum kapasitesini belirlemek için kullanılır. Kontrol, fruktoz ve resveratrol içeren diyabetik sıçanların aortalarının L-NOARG ile inkübasyonu sırasında gelişen kasılmalar KCl ile oluşturulan kasılmanın %'si (relative tension)

olarak ifade edilmiştir. Ayrıca, asetilkolinin oluşturduğu gevşemelerin nitrik oksit ile ilişkisini saptamak için L-NOARG varlığında asetilkolin doz-cevap eğrisi tekrarlanmıştır. SNP doz-cevap eğrisi damar düz kasının cevaplılığını kontrol etmek amacıyla kullanılmıştır. Zaman kontrollü çalışmalarda 10^{-6} M ile oluşturulan fenilefrin kasılmasının, asetilkolin doz cevap eğrisinin tamamlanması için gereken sürede korunduğu saptanmıştır.

3.4.3. Kan Glikoz Düzeyi Ölçümü

Deney süresi boyunca belirli periyodik aralıklarla kuyruktan alınan kan örneklerinde ve deney günü sıçanların sakrifikasyonundan hemen sonra intrakardiyak olarak alınan kan örneklerinde, glikoz ölçüm cihazı kullanılarak kan glikoz düzeyi ölçülmüştür. Yapılan ölçümler kaydedilerek ortalamaları alınmıştır.

3.4.4. Serum Lipit Düzeyi Ölçümü

Toraks ve abdomen açıldıktan sonra intrakardiyak olarak alınan 2 cc kan örneği 2200 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Ayrılan serum pastör pipeti ile alınarak ependorf tüperine koyulmuş ve -85 °C'de dondurularak saklanmıştır. Serum örneklerinde total kolesterol, HDL kolesterol ve VLDL kolesterol düzeyleri uygun enzimatik analiz kitleri kullanılarak Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarlarında ölçülmüştür.

3.4.5. Serum İnsülin Düzeyi Ölçümü

Deney gruplarını oluşturan sıçanların serum insülin düzeyleri, uygun ELISA kiti kullanılarak üretici firmanın kullanım talimatına göre ölçülmüştür.

3.4.6. 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.

Ölçümden önce sıçanlar ısınma kabini (Animal Heating Chamber)'ne alınarak vücut ve kuyruk ısılarının 32-33°C'ye 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 sensor takılarak ölçümlere başlanmıştır. Bu işlemlere hayvanların koşullanması, hareketsiz ve sakin kalabilmesi için gerçek ölçümlerden bir gün önce 1-2 kez alıştırmaya yapılmıştır.

3.5. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Fenilefrine kasılma cevapları, 40 mM KCl ile oluşturulan kasılmanın %'si (relative tension) olarak gösterilmiştir. Asetilkolinle oluşan gevşemeler, fenilefrin prekontraksiyonundaki % azalmalar olarak verilmiştir. Maksimal kasılma ve gevşeme cevapları (E_{max}) ve potensler (EC_{50}) Prism 5.02 GraphPad programı kullanılarak non-linear curve fitting metodu ile belirlenmiştir. Bütün deneylerde istatistik analiz, Student t-test ile eş olmayan gruplara arasındaki farkın anlamlılık testi kullanılarak yapılmıştır. P değeri 0.05'den küçük ise, bulgu anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Deney Gruplarının Ağırlık ve Kan Glikoz Düzeyleri ile Günlük Su Tüketim Miktarları

Bütün gruplardaki hayvanların ağırlık artışı karşılaştırıldığında, en fazla ağırlık artışının resveratrol grubunda olduğu saptanmıştır. Fruktoz 20 grubundaki hayvanlarda ise, en az kilo artışının olduğu saptanmıştır. Fruktoz 20 grubu hayvanların kontrol grubu hayvanlarından anlamlı bir şekilde daha az ağırlık artışına sahip olduğu saptanmıştır. Fruktoz 20 ve resveratrol ile birlikte fruktoz alan gruplarda resveratrol içiminin hayvanların kilo artışına meylettirdiği, fakat bu artışın anlamlı olmadığı görülmüştür.

Deney gruplarında postprandial serum glikoz düzeyi karşılaştırıldığında fruktoz 20 grubundaki hayvanların kan glikoz düzeyi kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Resveratrol ile birlikte fruktoz alan grupta kan şekerinde anlamlı düşüş olduğu görülmüştür. Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Hayvanların günlük su tüketimi karşılaştırıldığında, resveratrolün kontrol gruplarındaki hayvanlarda su içimini arttırdığı görülmüştür. Fruktoz 20 grubundaki hayvanların su içiminin belirgin olarak azaldığı görülmüştür. Deney gruplarının hayvan ağırlıkları, kan glikoz düzeyleri ve günlük su tüketim miktarları Tablo 2’de gösterilmiştir.

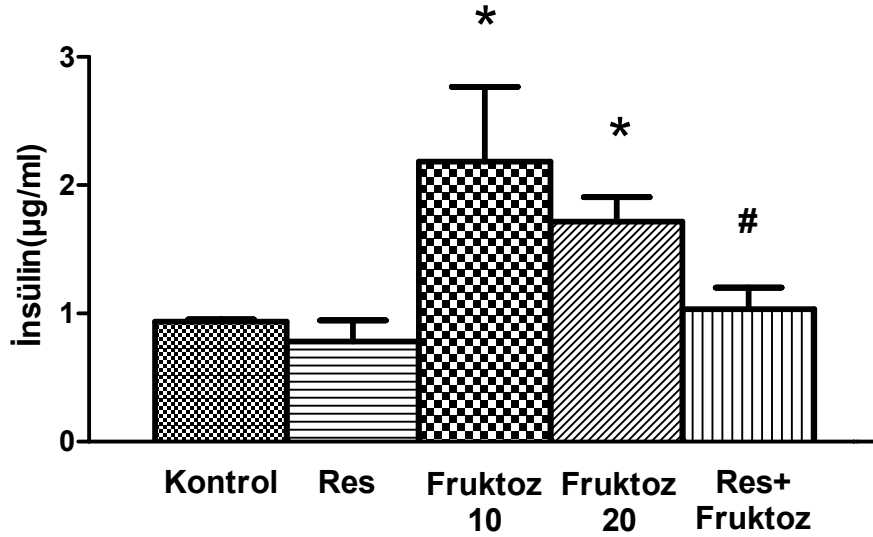
Tablo 2. Deney gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıkları, kan şekeri ve günlük tüketilen su miktarları.

GRUPLAR	AĞIRLIK (g ± std hata)	KAN GLİKOZ DÜZEYLERİ (mg/dl ± std hata)	GÜNLÜK TÜKETİLEN SU MİKTARI (ml) (Hayvanın her 100 g'na düşen su miktarı)
Kontrol (Genç)	190±5.7	178±11	19.35±1.4
Kontrol (Yaşlı)	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 İnsülin Düzeyleri

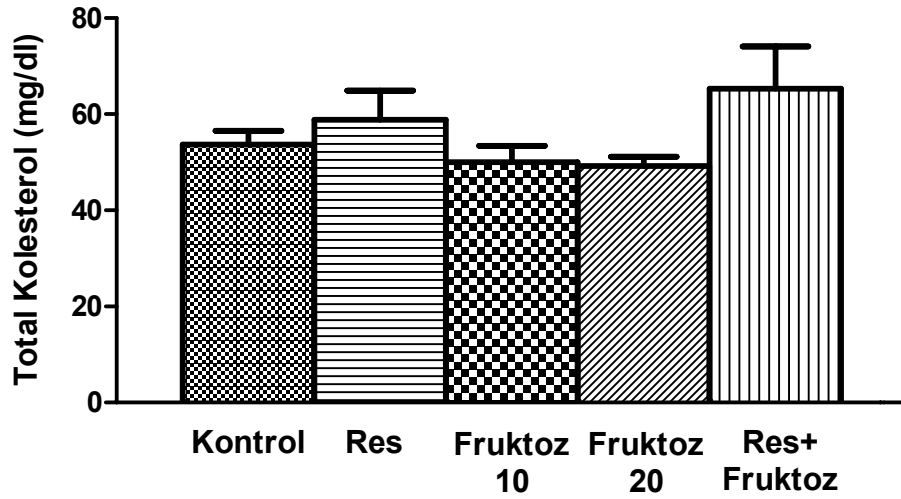
Kontrol ile Fruktoz (%10 ve %20) gruplarından alınan serum örneklerinin insülin seviyeleri karşılaştırıldığında, fruktoz 10 ve fruktoz 20 gruplarında insülin düzeyinde anlamlı artış olduğu saptanmıştır. Resveratrol + Fruktoz 20 grubunun insülin seviyesi ise, fruktoz 20 grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Diğer gruplar arası anlamlı fark bulunamamıştır (Şekil 6).



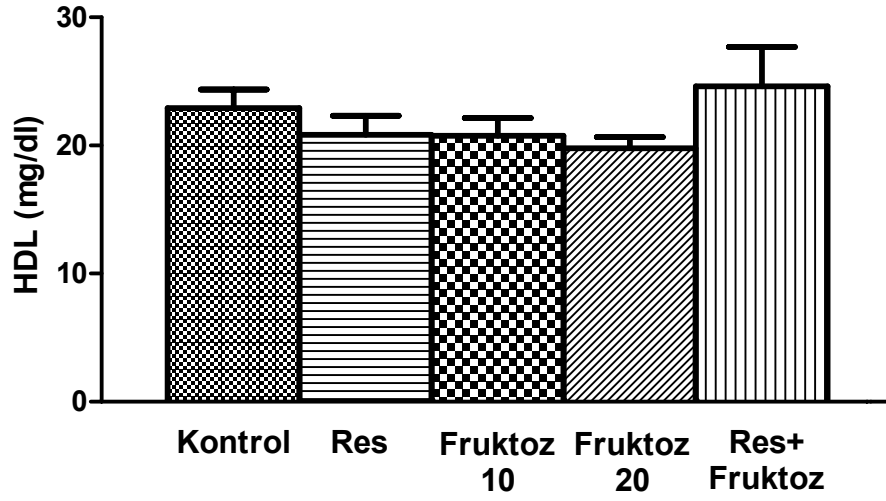
Şekil 6. Kontrol, resveratrol (res), Fruktoz (%10 ve %20) ve Resveratrol + Fruktoz %20 gruplarından serum örneklerinin insülin (µg/ml) seviyesi. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-10. * $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p < 0.05$ Fruktoz 20 grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3. Serum Lipit Profili

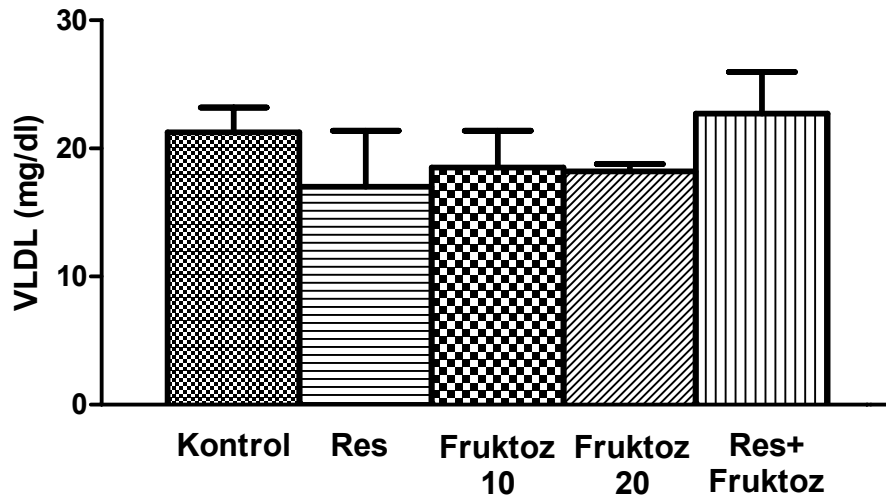
Kontrol ve deney gruplarının serum lipit düzeyleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Grupların total kolesterol, HDL ve VLDL düzeyleri şekil 7, 8 ve 9'da gösterilmiştir.



Şekil 7. Kontrol, resveratrol (res), Fruktoz (%10 ve %20) ve Resveratrol + Fruktoz %20 (res+fruktoz) gruplarından serum örneklerinin total kolesterol (mg/dl) seviyesi. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-10.



Şekil 8. Kontrol, resveratrol (res), Fruktoz (%10 ve %20) ve Resveratrol + Fruktoz %20 (res+fruktoz) gruplarından serum örneklerinin HDL (mg/dl) seviyesi. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-10.



Şekil 9. Kontrol, resveratrol (res), Fruktoz (%10 ve %20) ve Resveratrol + Fruktoz %20 (res+fruktoz) gruplarından serum örneklerinin VLDL (mg/dl) seviyesi. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-10.

4.4. Sistolik Kan Basıncı

Kontrol ve deney grubu sıçanlarda yapılan 10-12. hafta sistolik kan basıncı ölçümlerinde fruktoz 20 grubu hayvanların kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde kan basınçlarının yüksek olduğu bulunmuştur. Fruktoz ile beraber resveratrol alan grupta ise, resveratrol tedavisinin, fruktozun neden olduğu yüksek kan basıncını anlamlı bir şekilde düşürdüğü görülmüştür (Tablo 3).

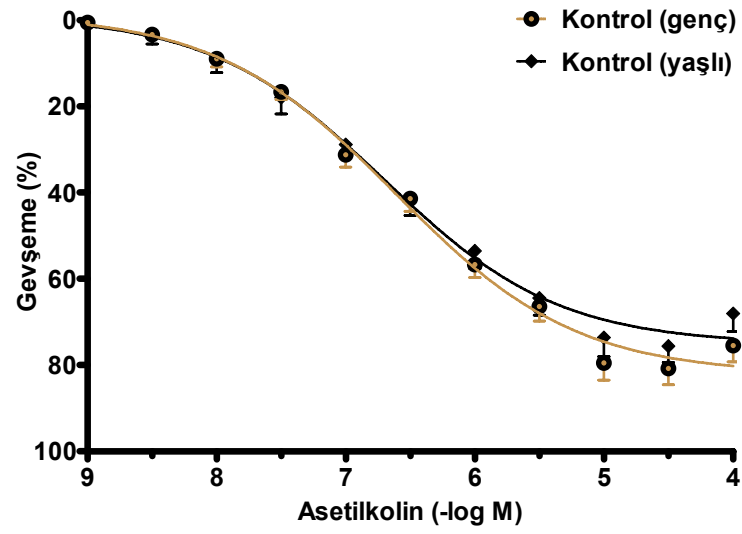
Tablo 3. Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların 0. hafta ve 10-12. haftada ölçülen sistolik kan basıncı değerleri.

GRUPLAR	0. Hafta (mmHg)	10.-12. Hafta (mmHg)
Kontrol (Yaşlı)	118.1±3.7	120.3±4.2
Resveratrol	116.3±3.9	117.4±2.6
Fruktoz %10	106.7±2.6	118.6±2.3
Fruktoz %20	111.2±2.8	163.6±3.9*
Resveratrol + Fruktoz %20	120.8±10.9	140.5±7.5#

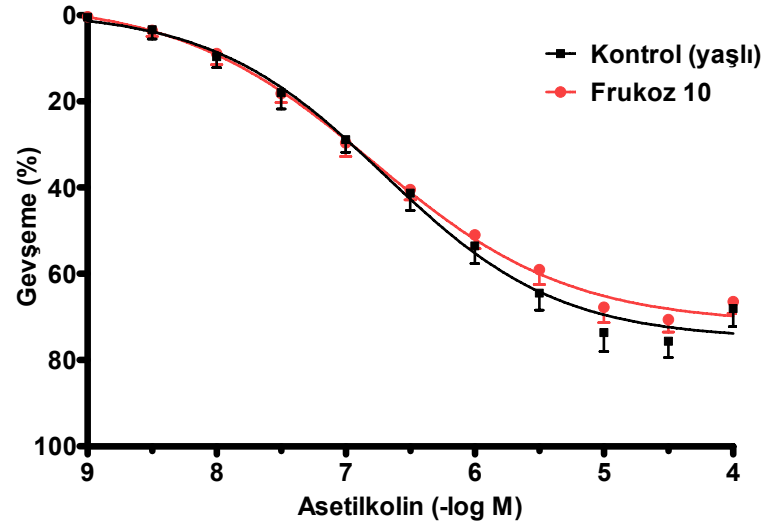
Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-10. * p<0.05 kontrole (yaşlı) göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # p<0.05 Fruktoz 20 grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.5. Sıçan Aorta Halkalarında Asetilkolinin Gevşetici Etkisi

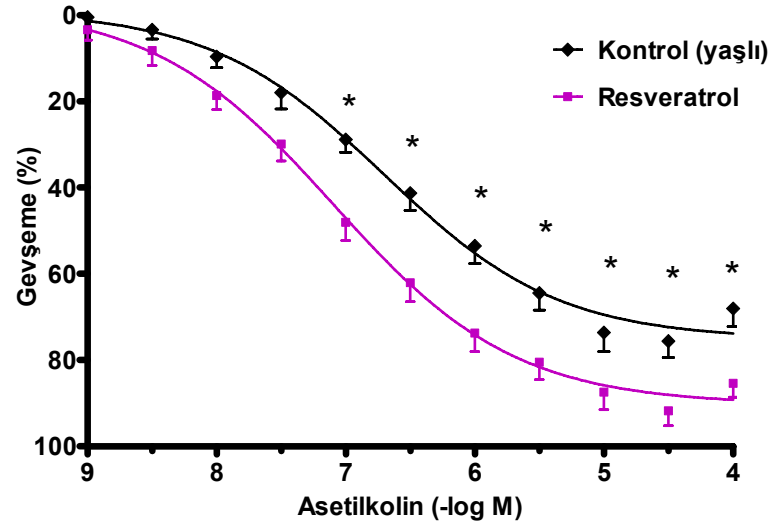
Asetilkolinin (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanması, endoteli sağlam sıçanların aorta halkalarında konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur. Kontrol grupları (yaşlı ve genç) sıçanların asetilkolin doz cevap eğrileri karşılaştırıldığında, istatistik olarak anlamlı farklılık görülmemiştir (Şekil 10). Fruktoz 10 grubundaki sıçanların asetilkoline endotel bağımlı gevşeme cevaplarının kontrol grubundan farklı olmadığı görülmüştür (Şekil 11). Resveratrol içen kontrol hayvanların aortasında asetilkolinin endotel bağımlı gevşeme cevaplarının resveratrol içmeyenlere göre belirgin olarak arttığı gözlenmiştir. (Şekil 12, Tablo 4) Fruktoz 20 grubunda ise, aortanın asetilkoline duyarlılığında azalma olduğundan E_{maks} değerlerinin anlamlı ölçüde düştüğü saptanmıştır. (Şekil 13, Tablo 4) resveratrol ile birlikte fruktoz alan hayvanlarda asetilkolin cevaplarındaki değişikliklerin önemli ölçüde düzeldiği bulunmuştur. Resveratrol içiminin fruktoz alan hayvanlarda asetilkolin in EC_{50} ve E_{maks} değerlerini kontrol hayvanlarının değerlerinin de üstüne çıkarttığı saptanmıştır. Kontrol grubu sıçanlar ile fruktoz 20 grubu sıçanların asetilkoline doz cevap eğrisi kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar göstermektedir (Şekil 13 ve Tablo 4). Kontrol (yaşlı) grubu sıçanlar ile resveratrol grubu sıçanlar arasında asetilkolin cevap eğrileri karşılaştırıldığında resveratrol grubunun gevşeme cevaplarında artış gözlenmiştir (Şekil 12). Fruktoz grupları (Fruktoz 10 ve fruktoz 20) asetilkolin cevapları karşılaştırıldığında fruktoz 20 grubunda anlamlı düşük cevap gözlenmiştir (Şekil 14). Fruktoz 20 grubu ile Resveratrol + Fruktoz 20 grubu sıçanların asetilkolin cevapları karşılaştırıldığında resveratrol alınının fruktoz 20 grubundaki asetilkoline düşük cevaplılığı büyük ölçüde düzelttiği gözlenmiştir (Şekil 15).



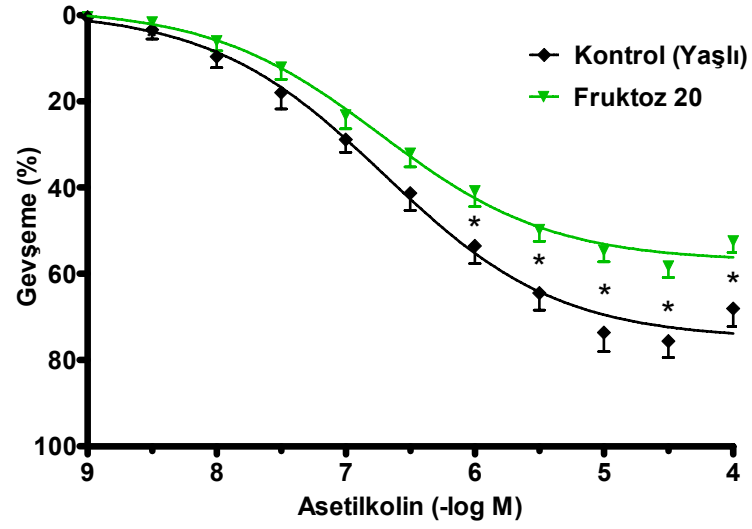
Şekil 10. Kontrol grupları (yaşlı ve genç) sıçanların endoteli sağlam aorta halkalarının 10^{-6} M fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra, asetilkolinin (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına oluşturduğu konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları. Sonuçlar, fenilefrin kasılmalarındaki yüzde inhibisyon olarak verilmiştir. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-9.



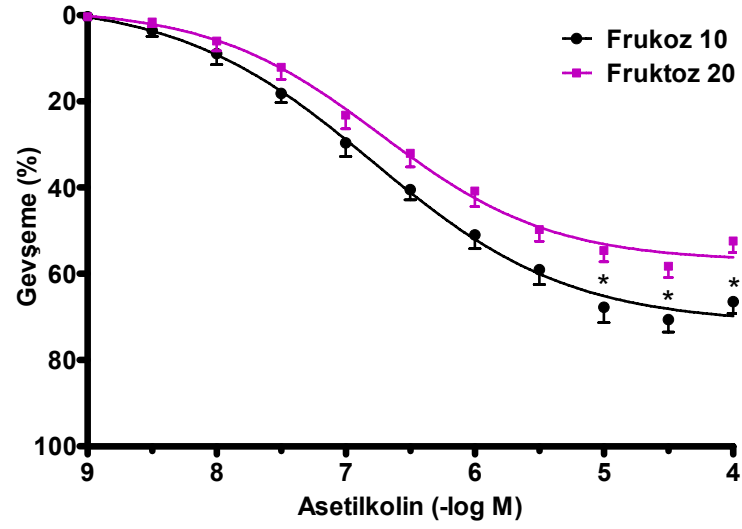
Şekil 11. Kontrol grubu (yaşlı) ve Fruktöz 10 grubu sıçanların endoteli sağlam aorta halkalarının 10^{-6} M fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra, asetilkolinin (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına oluşturduğu konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları. Sonuçlar, fenilefrin kasılmalarındaki yüzde inhibisyon olarak verilmiştir. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-7.



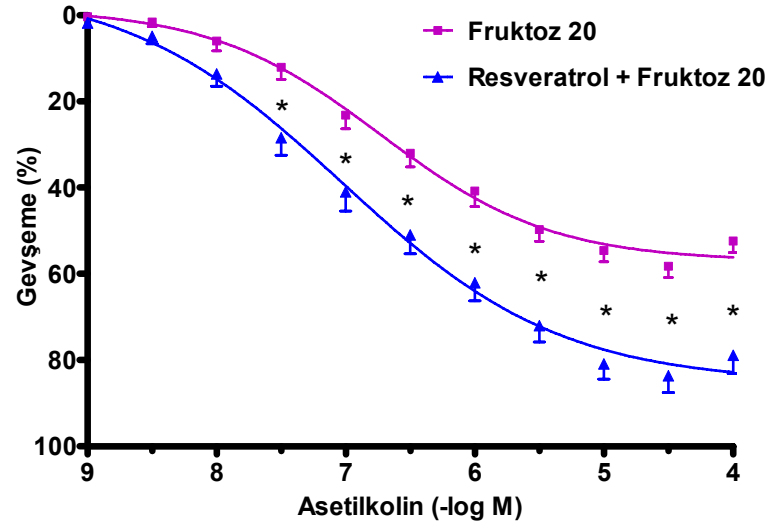
Şekil 12. Kontrol grubu (yaşlı) ve Resveratrol grubu sıçanların endoteli sağlam aorta halkalarının 10^{-6} M fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra, asetilkolinin (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına oluşturduğu konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları. Sonuçlar, fenilefrin kasılmalarındaki yüzde inhibisyon olarak verilmiştir. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6. * $p < 0.05$ kontrole (yaşlı) göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



Şekil 13. Kontrol grubu (yaşlı) ve Fruktoz 20 grubu sıçanların endoteli sağlam aorta halkalarının 10^{-6} M fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra, asetilkolinin (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına oluşturduğu konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları. Sonuçlar, fenilefrin kasılmalarındaki yüzde inhibisyon olarak verilmiştir. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-7. * $p < 0.05$ kontrole (yaşlı) göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



Şekil 14. Fruktoz 10 ve Fruktoz 20 grubu sıçanların endoteli sağlam aorta halkalarının 10^{-6} M fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra, asetilkolinin (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına oluşturduğu konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları. Sonuçlar, fenilefrin kasılmalarındaki yüzde inhibisyon olarak verilmiştir. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6. * $p<0.05$ Fruktoz 20'ye göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



Şekil 15. Fruktoz 20 ve Resveratrol + Fruktoz 20 grubu sıçanların endoteli sağlam aorta halkalarının 10^{-6} M fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra, asetilkolinin (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif biçimde uygulanmasına oluşturduğu konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları. Sonuçlar fenilefrin kasılmalarındaki yüzde inhibisyon olarak verilmiştir. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=8-10. *p<0.05 Fruktoz 20'ye göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

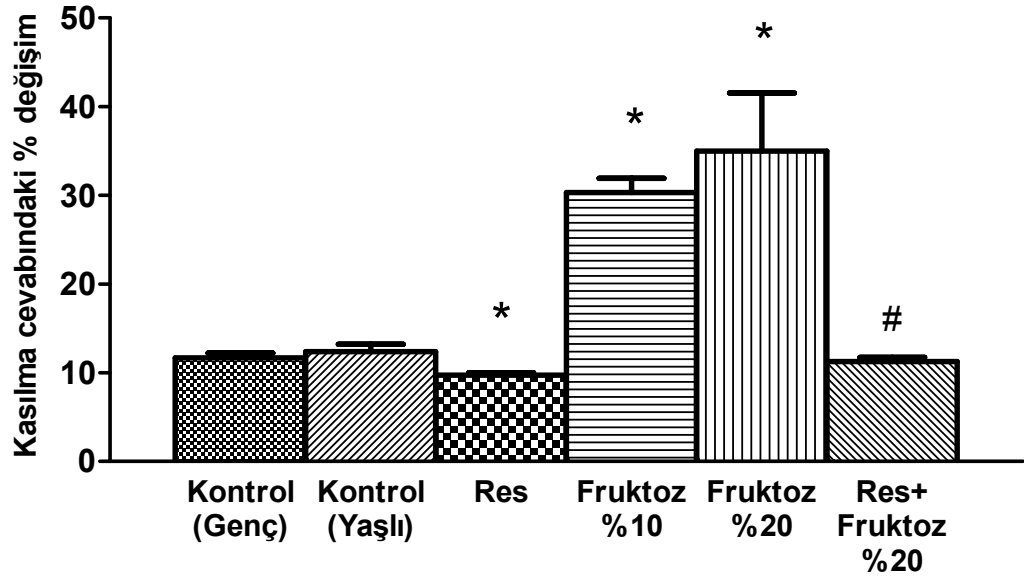
Tablo 4. Deney gruplarındaki sıçanların endotelli aortalarında asetilkolinin EC₅₀ (- log M) ve maksimum gevşeme (E_{maks}) değerleri.

GRUPLAR	EC₅₀	E_{maks}	n
Kontrol (Genç)	6.61±0.09	82.11±2.97	9
Kontrol (Yaşlı)	6.70±0.12	75.13±3.26	6
Resveratrol	7.09±0.13*	90.3±3.06*	6
Fruktoz %10	6.79±0.11	71.61±2.83	7
Fruktoz %20	6.73±0.11	57.06±2.35*	8
Resveratrol + Fruktoz %20	7.02±0.17#	85.36±4.12#	10

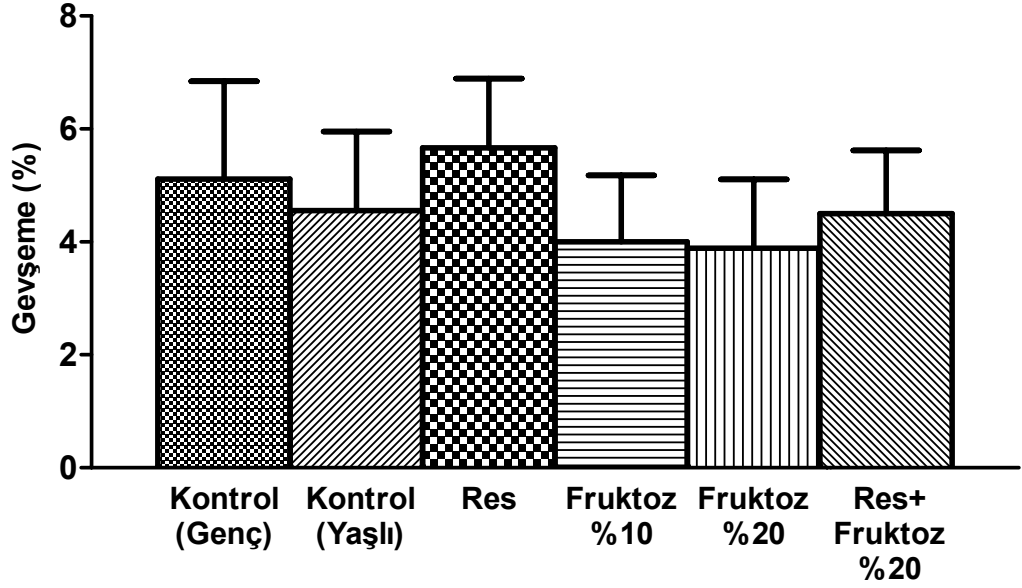
Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. * p<0.05 kontrole (yaşlı) göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # p<0.05 Fruktoz 20 grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.6. Sıçan Aorta Halkalarında L-NOARG Preinkübasyonunun Etkisi

L-NOARG ile preinkübasyon sıçan aortalarındaki kontraktıl tonusü artırmıştır. L-NOARG (10^{-4} M) uygulamasından sonraki kontraksiyon değerleri bütün deney grupları için Şekil 16'da gösterilmiştir. Sonuçlar % kasılma (relative tension) olarak verilmiştir. Resveratrol grubu hayvanların aortasında L-NOARG uygulaması sonucu kaydedilen kasılmalar kontrol (yaşlı) grubu sıçan aortasına göre daha düşüktür. Fruktoz gruplarındaki kasılmalar kontrol (yaşlı) grubuna göre daha yüksektir. Resveratrol + Fruktoz 20 grubundaki kasılma Fruktoz 20 grubuna göre daha düşüktür (Şekil 16). NOS inhibitörü L-NOARG preinkübasyonu asetilkolinin gevşeme cevaplarını büyük ölçüde ortadan kaldırmıştır. Alınan gevşeme cevaplarında gruplar arası anlamlı fark görülmemiştir (Şekil 17).



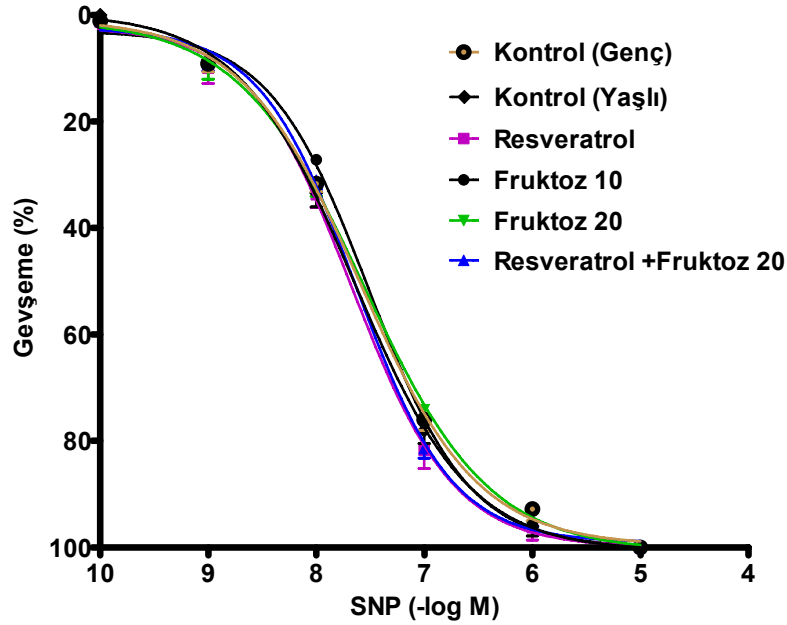
Şekil 16. Kontrol (genç ve yaşlı), resveratrol (res), Fruktöz (%10 ve %20) ve Resveratrol + Fruktöz %20 gruplarından alınan aorta halkalarında L-NOARG uygulaması sonrasında oluşan maksimum kasılma yanıtları. Sonuçlar % kasılma (relative tension) olarak verilmiştir. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-10. *p<0.05 Kontrol (yaşlı) grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # p<0.05 Fruktöz 20 grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



Şekil 17. Kontrol (genç ve yaşlı), resveratrol (res), Fruktoz (%10 ve %20) ve Resveratrol + Fruktoz %20 gruplarından alınan aorta halkalarında L-NOARG (100 μ M, banyo ortamına 30 dakika önce eklenen) uygulaması sonrasında asetilkoline verilen gevşeme yanıtları. Sonuçlar % gevşeme olarak verilmiştir. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-10.

4.7. Sıçan Aorta Halkalarında Sodyum Nitroprusiyatın Gevşetici Etkisi

Kontrol ve deney grubu tüm sıçanların endoteli sağlam aortalarının fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra, 10^{-10} - 10^{-5} M SNP'nin kümülatif uygulanması sonucu elde edilen gevşeme cevaplarında bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 18).



Şekil 18. Kontrol ve deney grubu sıçanların endoteli sağlam aorta halkalarının 10^{-6} M fenilefrin ile prekontraksiyonundan sonra, SNP (10^{-10} - 10^{-5} M) kümülatif biçimde uygulanmasına oluşturduğu konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları. Sonuçlar, fenilefrin kasılmalarındaki yüzde inhibisyon olarak verilmiştir. Değerler ortalama $\pm$ Standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir, n=6-10.

5. TARTIŞMA

Sofra şekerı olarak bildiğimiz sükröz, eşit molekül glikoz ve fruktoz bileşiminden oluşmaktadır. Rafinerize edilmiş fruktoz bir monosakkarit olarak karbonatlı içecekler, tatlılar, pastalar, bisküviler ve şekerlemeler gibi pek çok hazır gıdada kullanılmaktadır. Fruktoz, mısır şurubu (high fructose corn syrup) olarak satılmaktadır. Son yıllarda bu şurubun çokça kullanılma nedeni, sükröze göre daha ucuz olması ve gıdaların raf ömrünü uzatması olarak gösterilmiştir. Fruktoz tüketiminin artışına paralel olarak, gelişmiş toplumlarda metabolik sendrom ve şişmanlık oranının yükseldiği ileri sürülmektedir. Fruktoz aslında doğal olarak meyveler ve sebzeler içinde tükettiğimiz bir enerji kaynağıdır. Fakat doğal besinler içinde aldığımız fruktoz çok yüksek konsantrasyonlara ulaşmamakta ve ayrıca beraberinde bulunan polifenolik bileşikler gibi pek çok biyolojik olarak aktif faktör onun sağlık üzerindeki olumsuz etkilerini zararsızlaştırmaktadır. Fruktoz metabolizmasının son ürünü düşük dansiteli lipoproteinler ve trigliserittir, halbuki glikoz kısmen CO₂ ve ATP'ye de dönüşmektedir. Bu yüzden yüksek fruktoz tüketimi sağlığı tehdit eden bir durum olmaktadır⁸⁰.

Araştırmaların çoğunda sükrözün diyabet, iskemik kalp hastalıkları, insülin rezistansı ve reaktif hipogliseminin nedeni olduğu ileri sürülmüştür. Fruktozun hücrelere alımı için insülin salınımı gerekmediğinden bazı araştırmacılar, sükröz ve glikozun tersine fruktoza daha güvenli şeker olarak bakılmaktadır. Glisemik kontrolde fruktoz tüketiminin olumsuz etkileri az olmak ile birlikte, uzun sürede metabolizma açısından fruktoz ciddi yan etkilere sahiptir. Fruktoz protein molekülleri ile birleşerek ileri glikasyon son ürünlerine dönüşmektedir, bu ürünlerin yaşlanma sürecini hızlandırdığı ve diyabet komplikasyonları ve

kardiyovasküler hastalık patogenizinde önemli rol oynadığı saptanmıştır. Fruktöz tüketiminin hipertrigliseridemi, hipertansiyon ve insülin rezistansına neden olduğu bildirilmektedir^{65,71,74}.

Diyet içinde yüksek fruktoz verilmesi ile sıçanlarda insülin rezistansı, hiperinsülinemi ve hipertansiyon olduğu ilk kez Hwang ve ark. tarafından gösterilmiştir¹⁶. Rodentlerde, yüksek fruktozlu diyet ile 6-8 haftalık beslenmenin metabolik sendroma yol açtığı daha sonraki çalışmalarda da bildirilmiştir^{26,34,92}. Yüksek fruktoz ile beslenmenin etkileri fruktoz konsantrasyonu ve beslenme süresine bağlı olarak değişmektedir²⁴. Bu çalışmalarda yüksek fruktoz ile beslenme süresi sonunda hayvanlarda ağırlık artışı olmadığı görülmüştür. Bizim bulgularımız da bu sonuçları doğrulamaktadır. Fruktöz 20 grubundaki hayvanlarda, vücut ağırlığının kontrol yaşı gruba göre anlamlı ölçüde azaldığı bulunmuştur. Bu azalma bahsedilen çalışmalarda da izlenmiştir. 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 başlayarak metabolik sendrom oluştuğunu gösteren bir çok çalışma bulunmaktadır^{16,24,41,134-136}.

Hayvanların su içme miktarlarına bakıldığında, fruktoz 20 grubundaki hayvanların kontrolden daha az su tükettiği, fakat fruktoz 10 grubunda anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Resveratrol içen kontrol grubunda ise, içilen su miktarının arttığı görülmektedir. Resveratrol tadını hayvanların beğendiği daha önceki çalışmalarımızda da fark edilmişti⁵⁰.

Yüksek fruktoz (%23) ile 8 haftalık Sprague-Dawley dişi sıçanlarda metabolik sendrom oluşturulan bir çalışmada, fruktoz

grubundaki sıçanların su içme miktarının ve vücut ağırlığının kontrolden farklı olmadığı bulunmuştur¹³⁵. İçme suyu içinde %25 fruktoz çözeltisinin 16 hafta süresince genç erkek sıçanlara uygulandığı araştırmada ise, hayvanların su içme miktarının kontrole göre yaklaşık % 40 artırdığı bulunmuştur. Bu çalışmada hayvanların vücut ağırlığının az da olsa arttığı, fakat kan glikoz düzeyinin değişmediği tespit edilmiştir¹³⁴. İçme suyu içinde %30 sükrözün 20 hafta boyunca Wistar erkek sıçanlara verildiği bir çalışmada, su içme miktarının ve vücut ağırlığının kontrollere göre kısmen azaldığı saptanmıştır¹³⁷. Bu bulgular bizim çalışmamız ile birlikte değerlendirildiğinde yüksek (%20-30) fruktoz içiminin sıçanlarda ağırlık artışına neden olmadığı ve su alımının, yoğun şeker konsantrasyonuna rağmen değişmediği, fakat kısmen de bu araştırma sonuçlarını desteklediği, görülmektedir.

Yem ve su içinde yüksek fruktoz verilerek oluşturulan metabolik sendromda, kan glikoz düzeyinin genel olarak değişmediği, fakat insülin salınımında artış olduğu, insülin rezistansı geliştiği kan basıncının ve trigliserit düzeyinin belirgin olarak arttığı saptanmıştır. Bu sonuçlar yüksek fruktoz içeren beslenme rejiminin metabolik sendromu, ağırlık artışı olmaksızın, çok iyi taklit ettiğini göstermektedir^{16,30,34,41,136,138}. Bu çalışmada, fruktoz 20 grubunun kan glikoz düzeyi kontrole göre yüksek bulunmuştur. Benzeri sonuçlar daha önce de rapor edilmiştir^{37,139}.

Bizim çalışmamızda, fruktoz 20 grubunda hem kan basıncı hem de insülin düzeyinde artışı olduğu saptanmıştır. Kan lipid profilinde yukarıdaki çalışmalarda olduğu gibi bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Fakat trigliserit düzey sonuçları, deneyde ortaya çıkan bir hata yüzünden çalışmaya dahil edilemedi. Fruktoz 10 grubunda kan basıncı belirgin olarak değişmeksizin insülin düzeyindeki yükselme izlenmiştir. Bunun

nedeni iyi şekilde anlaşılamamıştır, zira önceki bazı çalışmalarda %10 fruktoz içimiyle kan basıncı artışı kaydedilmiştir^{16,41,136,138}. Bununla birlikte, son yapılan çalışmalarda yüksek fruktoz alınınının tail-cuff metodu ile ölçümde kan basıncını artırdığı telemetri sistemi ile sürekli kayıta ise, bir değişiklik oluşturmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, fruktoz alınınının trigliserit ve insülin düzeyini yükselttiği de gösterilmiştir³⁷. Ayrıca, insülin infüzyonu ile oluşturulan hiperinsülinemide kan basıncı artışı olmadığı saptanmıştır³⁸.

Yüksek fruktoz diyeti ile beslenme, yukarıdaki çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, genel olarak sıçanlarda kilo artışı ve kan glikoz düzeyinde çok belirgin bir değişiklik oluşturmaksızın, hipertansiyon, hiperinsülinemi ve hipertiriglisemi ile karakterize metabolik sendroma neden olmaktadır, bizim sonuçlarımızda bu bulgular ile büyük ölçüde uyumluluk göstermektedir.

Fruktozun neden olduğu metabolik sendromun sıçanlarda aorta, renal ve mezenterik arterde, endotel bağımlı gevşemelerde azalmaya yol açtığı saptanmıştır^{32,34,96,140-142}. Fruktozun içme suyu içinde 12 hafta boyunca verilmesinin renal arterde asetilkolin gevşemeleri ve bazal nitrik oksit oluşumunu azalttığı ve bunun kan basıncı artışı ile birlikte seyrettiği rapor edilmiştir⁹⁶. Yüksek fruktoz içerikli diyet (% 60) ile beslenen sıçanlarda ortaya çıkan metabolik sendromun aortada asetilkolinin endotel bağımlı gevşeme cevaplarını azalttığı, fakat sodyum nitroprusiyat etkisini değiştirmedeği bildirilmiştir. Bu çalışmalarda, eNOS aktivitesinin ve mRNA ekspresyonunun azaldığı ve eNOS kofaktörü tetrahidrobiopterin tedavisinden sonra asetilkolinin cevaplarının ve nitrik oksit etkinliğinin arttığı belirtilmiştir^{140,141}. Biz bu çalışmada, Fruktoz 20 grubunda aortada asetilkolinin endotel bağımlı gevşeme cevaplarının azaldığını ve sodyum

nitropurisiyat etkisinin değişmediğini saptadık. Bu bulgumuz yukarıdaki çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Fakat, fruktoz 10 grubunda asetilkoline gevşeme cevaplarının korunduğunu saptadık benzer etkiyi kan basıncı ölçümlerinde de görmüştük. Bu sonuç, % 10 fruktoz ile beslemenin sıçanlarda kardiyovasküler parametrelerin bazısını değiştiremediği şeklinde değerlendirilebilir. L-NOARG ile nitrik oksit sentezinin inhibe edilmesinden sonra, asetilkolin etkisi nerdeyse tümüyle ortadan kalkmıştır. Bu bulgu asetilkolinin oluşturduğu endotel bağımlı gevşeme cevaplarının nitrik oksit aracılığı ile ortaya çıktığını göstermektedir. Mezenterik arterde yapılan çalışmalarda ise, asetilkolinin endotel bağımlı etkisinin, kısmen nitrik oksit üzerinden, kısmen de potasyum kanallarının açılması sonucu olduğu saptanmıştır. Bu ince çaplı rezistans damarlarının genel bir zellięidir³³⁻³⁴. İlginç olarak biz bu çalışmada, fruktoz 10 ve 20 gruplarında bazal nitrik oksit oluşumunun arttığını saptadık. şekil 16’da görüldüğü üzere L-NOARG uygulamasından sonra kasılma cevapları artmaktadır. Bunun kompensatuvar bir mekanizma sonucu ortaya çıkabileceğini dşnmekteyiz. Daha önce bazı hipertansiyon modellerinde bazal nitrik oksit oluşumunun arttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda, uyarılmış nitrik oksit oluşumunun yüksek süperoksit miktarından dolayı düştüğü, fakat bazal nitrik oksitin damar tonusunu dengelemek üzere sürekli uyarıldığı ileri srlmüřtr¹⁴³⁻¹⁴⁷. Ayrıca, diyabet ve metabolik sendrom da dahil, birçok patolojik durumda, nitrik oksit kaynağı olan eNOS enziminin kofaktör tetrahidrobiopterinin indirgenmesinden dolayı süperoksit sentez kaynağı haline geldiği hipotez edilmektedir¹⁴⁸. Bizim alışmamızda patolojik durum olan fruktoz ile beslemeden sonra, L-NOARG uygulaması ile izlenen kontraksiyon artışları eNOS enziminin yüksek randımanlı çalışan nitrik oksit kaynağı olduğunu göstermektedir. Bunu doğrulayan sonuçları, NAD(P)H oksidaz aktivitesinin, damarlardaki en büyük süperoksit kaynağı, arttığını gösteren ve bu tez çalışması kapsamına girmeyen kısımda göstermiş bulunmaktayız.

Bu tez çalışmasında, yüksek fruktoz ile beslenen sıçanlarda resveratrol tedavisi ile endotel bağımlı ve bağımsız cevapların nasıl değiştiğini inceledik. Daha önceki çalışmalarda, resveratrolün bahsedilen cevaplar üzerindeki etkisi metabolik sendromda araştırılmış olmasına karşın, söz konusu çalışmalarda yüksek yağlı diyet uygulaması ile metabolik sendrom oluşturulmuştur⁵⁴⁻⁵⁵. Yüksek yağlı diyet (enerjinin % 60'ının yağdan sağlandığı diyet şekli) ile beslenmede, hayvanlarda önemli ölçüde kilo artışı izlenmekte, insülin rezistansı gelişmekte fakat trigliserit düzeyi değişmemektedir. Yağdan zengin diyet uygulaması daha çok obeziteyi taklit eden bir yöntem olarak kullanılmaktadır^{54-56,149}.

Fruktoz ile oluşturulan metabolik sendromda kilo artışı olmadığı, fakat trigliserit düzeyinin belirgin olarak arttığı bilimektedir. Bu açıdan bakıldığında, bizim çalışmamız bazı farklılıklar göstermektedir. Daha önceki çalışmalarda, resveratrol tedavisinin patolojik durumdan önce başlatılmasının koruyucu etki açısından daha başarılı olduğu gösterilmiştir, bu yüzden biz resveratrol verilmesini 15 gün önce başlattık^{50,55}. Resveratrol dozu daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalardan seçilmiştir. Yukarıda bahsedilen çalışmalarda resveratrol dozu 20-200 mg/kg ile bizden (5-7 mg/kg) çok daha yüksektir^{112,150}. Kontrol hayvanlara resveratrol verilmesinden sonra asetilkolinin endotel bağımlı gevşeme cevabının arttığını saptadık ki bu, daha önceki çalışmalar ile paralellik göstermektedir^{54,150}.

Fruktoz ile beslenen sıçanlarda asetilkolin gevşemelerinin fruktoz 20 grubunda azaldığını tespit etmiştik. Bu yüzden, resveratrol tedavisini yalnızca bu grupta uyguladık. Resveratrol uygulamasının fruktoz ile oluşan gevşeme cevaplarını artırdığını ve L-NOARG inkübasyonu sonrası ortaya çıkan kontraksiyon artışlarını düzelttiğini izledik.

Resveratrol tedavisi gören gruplarda da L-NOARG varlığında alınan asetilkolin gevşemelerinin, diğer gruplardan farklı olmadığını gösterdik. Bu bulgumuz resveratrol etkisinin nitrik oksit üzerinden olabileceğini göstermektedir. Resveratrol tedavisi ayrıca, fruktoz grubunda izlenen hipertansiyonu anlamlı ölçüde düzetti ve fazla insülin salınımını kontrol altına almıştır.

Bu tez kapsamı içindeki bulgular birlikte değerlendirildiğinde, fruktoz ile oluşturulan metabolik sendromda ortaya çıkan hiperinsülinemi ve hipertansiyonun resveratrol tedavisi ile önemli ölçüde düzeldiği ve asetilkolinin azalan endotel bağımlı gevşetici etkisinin normal değerlere döndüğü görülmektedir. Resveratrolün bu olumlu etkisinin, hiperinsülinemiyi düzelterek mi, yoksa endotel fonksiyonunu geliştirerek mi ortaya çıktığını söylememiz mümkün değildir. Fakat daha önceki birçok çalışmada resveratrolün süperoksit oluşumunu NADPH oksidaz enzimini baskılayarak ve eNOS etkinliğini artırdığı gösterilmişti^{41,58,110-112,151}.

Sonuçta, resveratrolün metabolik sendrom üzerindeki bu olumlu etkilerinin, insanlarda onun besin destekleyicisi ürün olarak alınımının bir başka gerekçesi olması beklenebilir. Zira resveratrolün deney hayvanları ve insanlar üzerindeki toksik dozu kullanılan deneysel dozlardan en az 100 kat fazla olduğu bilinmektedir.

6. SONUÇ

Gelişmiş toplumlarda, giderek artan metabolik sendromun ana nedenlerinden birisinin de diyet içinde alınan yüksek fruktoz olduğu bilinmektedir. Fruktozun birçok hazır yiyeceğin bileşimi içine girdiği ve tüketiminin de giderek arttığı belirlenmiştir. Deneysel çalışmalarda fruktozdan zengin diyetle beslenen hayvanlarda metabolik sendrom olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada içme suyu içinde yüksek fruktoz verilen sıçanlarda metabolik sendromun iki parametresinden hipertansiyonun ve hiperinsülineminin ortaya çıktığını saptadık. Araştırmalar, metabolik sendromda ortaya çıkan endotel fonksiyon bozukluğu ve vazokonstriktör ajanlara duyarlılık artışının olduğunu ileri sürmektedir. Çalışmamızda yüksek fruktoz alan hayvanların aortasında asetilkolinin endotel bağımlı cevapların kontrole göre azaldığını, fakat endotel bağımsız vazodilatör ajan SNP cevaplarının değişmediğini tespit ettik. Ayrıca, fruktoz içen hayvanların aortasında NOS inhibitörü L-NOARG uygulamasından sonra kontraksiyonun arttığını gözlemledik. Resveratrol tedavisinin fruktoz ile beslenen hayvanlarda izlediğimiz hiperinsülinemi, hipertansiyon ve endotel fonksiyon bozukluğunu düzelttiğini göstermiş bulunmaktayız. Bu bulgular besinler içinde resveratrol destek tedavisi uygulamasının metabolik sendrom ile ortaya çıkan bazı bozuklukları düzeltebileceğini göstermektedir. Resveratrolün metabolik sendromdaki bu yararlı etkilerinin altında yatan mekanizmaları tam olarak anlamamız mümkün olmamış olsa bile insülin salınımını baskılayarak ve NO oluşumunu arttırarak onun kardiyovasküler fonksiyonlardaki bozuklukları düzeltebildiğini söylememiz mümkün olabilecektir.

7. ÖZET

UZUN SÜRE FRUKTOZ İÇEN SIÇANLARDA RESVERATROL VERİLMESİNİN VAZODİLATÖR CEVAP ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Besinler içinde yüksek miktarda fruktoz alınımı, gelişmiş toplumlarda giderek artan metabolik sendromun en önemli nedenlerinden birisidir. Resveratrol birçok meyvede bulunan ve yararlı kardiyovasküler etkilere sahip polifenolik bir bileşiktir. Fruktoz ile oluşturulan metabolik sendromda ortaya çıkan endotel hücre fonksiyon bozukluğu üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Sunulan çalışmada, fruktoz ile beslenme sonucu ortaya çıkan endotel ve vasküler fonksiyon bozukluğu, hipertansiyon ve hiperinsülinemi üzerine resveratrolün etkileri araştırılmıştır. Fruktoz % 10 ve %20'lik derişimde içme suyu içinde 10 hafta süre ile verilmiştir. Resveratrol uygulaması (50 mg/L) fruktoz içiminden 2 hafta önce başlatılmıştır. Deney gruplarından alınan kan örneklerinde biyokimyasal ölçümler, aortada ise endotel ve damar düz kas fonksiyonu ölçülmüştür. Endotel fonksiyonu asetilkolin (10^{-9} - 10^{-4} M) ve sodyum nitroprusiyat (10^{-10} - 10^{-5} M) doz-cevap eğrisi çalışılarak incelenmiştir. Ayrıca, L-NOARG (10^{-4} M) varlığında asetilkolin gevşemeleri ve bazal nitrik oksit oluşumu ölçülmüştür. Fruktoz tüketimi sonucu ortaya çıkan, asetilkolinin endotel-bağımlı gevşemelerindeki azalma ve bazal nitrik oksit oluşumundaki artış, resveratrol tedavisi alan hayvanlarda büyük ölçüde düzelmiştir. Resveratrol ve fruktoz tedavisi, sodyum nitroprusiyat (10^{-10} - 10^{-5} M) cevaplarını değiştirmemiştir. Fruktoz ile beslenme sonucu gelişen kan basıncı ve serum insülin düzeyindeki yükselmeler, resveratrol tedavisinden sonra anlamlı olarak düşmüştür. Resveratrol ve fruktoz ile beslenme kan glikoz düzeyini belirgin olarak değiştirmemiştir.

Elde ettiğimiz bulgular resveratrolün, fruktoz ile ortaya çıkan endotel fonksiyon bozukluğunu ve bazı kardiyovasküler parametreleri düzeltebileceğini göstermektedir. Böylece, meyvelerde olduğu gibi diyetle fruktoz ve resveratrolün birlikte tüketiminin, fruktozlu yiyecek ve içeceklerin oluşturduğu vasküler tahribata yol açmayacağını söylemek mümkün olacaktır.

Anahtar sözcükler: Resveratrol, endotel reaktivitesi, bazal nitrik oksit, fruktoz ile beslenme.

8. SUMMARY

THE INVESTIGATION OF THE EFFECT OF RESVERATROL SUPPLEMENTATION ON VASORELAXATION IN LONG-TERM FRUCTOSE-TREATED RATS.

High fructose intake is one of the main causes of metabolic syndrome in industrialized populations. Resveratrol, a polyphenolic compound mainly abundant in fruits, has beneficial cardiovascular effects. However, it is not known about the effect of resveratrol on fructose-induced endothelial dysfunction. Therefore, In this study, we investigated whether long-term resveratrol supplementation changes endothelial reactivity, in association with biochemical parameters, in fructose-treated rats. We studied the effect of long-term resveratrol treatment (50 mg/L in drinking water for 12 weeks) on endothelial relaxation to acetylcholine (10^{-9} - 10^{-4} M) and sodium nitroprusside (SNP, 10^{-10} - 10^{-5} M) in endothelium-intact 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 levels were also measured. Fructose consumption caused a modest increase in blood pressure, serum insulin without a change in body weight, serum lipid profile and glucose concentration. Fructose administration caused reduced relaxation to acetylcholine without changing the response to SNP. These changes were associated with increased basal nitric oxide production. The relaxations in response to acetylcholine disappeared after pretreatment with L-NOARG (10^{-4} M). Chronic resveratrol treatment prevented endothelial dysfunction, normalized basal nitric oxide production. Resveratrol also restored insulin resistance and hypertension in fructose fed rats. Resveratrol and fructose did not significantly change blood glucose level. The presented data

indicated that high fructose-induced disturbance in cardiovascular function could be prevented by resveratrol treatment. This implicates that consumption of fruits with fructose and resveratrol, like grape may not be deleterious as fructose containing beverages.

Keywords: Resveratrol, endothelial functions, basal nitric oxide, fructose fed rats

9. KAYNAKLAR

1. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595–1607.
2. Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, Knowler WC. Components of the "metabolic syndrome" and incidence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 3120-3127.
3. Laaksonen 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.
4. Lorenzo C, Okoloise M, Williams K, Stern MP, Haffner SM. The metabolic syndrome as a predictor of type 2 diabetes: the San Antonio heart study. *Diabetes Care* 2003; 26: 3153-3159.
5. Isomaa 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.
6. Tran TX. Mechanisms of fructose-induced hypertension. Doktora Tezi. Vancouver: The University Of British Columbia; 2009.
7. Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2000; 106: 453-458.

8. DeFronzo RA. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and coronary artery disease: a complex metabolic web. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20 Suppl 11: S1-16.
9. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; 14: 173-194.
10. Verma S. Insulin resistance and hypertension: pharmacological and mechanistic studies. *Can J Diabetes Care* 2000; 23: 23-42.
11. Lakka HM, Laaksonen 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.
12. 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-cause causes in United States adults. *Circulation* 2004; 110: 1245-1250.
13. 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.
14. Bhanot S, McNeill JH. Insulin and hypertension: a causal relationship? *Cardiovasc Res* 1996; 31: 212-221.

15. Reaven GM. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and hypertriglyceridemia in the etiology and clinical course of hypertension. *Am J Med* 1991; 90: 7S-12S.
16. Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987; 10: 512-516.
17. Verma S, Yao L, Dumont AS, McNeill JH. Metformin treatment corrects vascular insulin resistance in hypertension. *J Hypertens* 2000; 18: 1445-1450.
18. Bhanot S, Michoulas A, McNeill JH. Antihypertensive effects of vanadium compounds in hyperinsulinemic, hypertensive rats. *Mol Cell Biochem* 1995; 153: 205-209.
19. Chen S, Noguchi Y, Izumida T, Tatebe J, Katayama S. A comparison of the hypotensive and hypoglycaemic actions of an angiotensin converting enzyme inhibitor, an AT1a antagonist and troglitazone. *J Hypertens* 1996; 14: 1325-1330.
20. Kotchen TA, Reddy S, Zhang HY. Increasing insulin sensitivity lowers blood pressure in the fructose-fed rat. *Am J Hypertens* 1997; 10: 1020-1026.
21. Reaven GM, Ho H, Hoffmann BB. Somatostatin inhibition of fructose-induced hypertension. *Hypertension* 1989; 14: 117-120.
22. 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.

23. Verma S, Bhanot S, McNeill JH. Antihypertensive effects of metformin in fructose-fed hyperinsulinemic, hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271: 1334-1337.
24. Dai S, McNeill JH. Fructose-induced hypertension in rats is concentration- and duration-dependent. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1995; 33: 101-107.
25. Bhanot S, McNeill JH. Sympathectomy prevents fructose-induced hyperinsulinemia and hypertension. *Eur J Pharmacol* 1999; 373: R1-4.
26. Juan CC, Fang VS, Hsu YP, Huang YJ, Hsia DB, Yu PC, et al. Overexpression of vascular endothelin-1 and endothelin-A receptors in a fructose-induced hypertensive rat model. *J Hypertens* 1998; 16: 1775-1782.
27. 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.
28. Kobayashi R, Nagano M, Nakamura F, Higaki J, Fujioka Y, Ikegami H et al. Role of angiotensin II in high fructose-induced left ventricular hypertrophy in rats. *Hypertension* 1993; 21: 1051-1055.
29. Galipeau D, Arikawa E, Sekirov I, McNeill JH. Chronic thromboxane synthase inhibition prevents fructose-induced hypertension. *Hypertension* 2001; 38: 872-876.

30. Katakam PV, Ujhelyi MR, Hoenig ME, Miller AW. Endothelial dysfunction precedes hypertension in diet-induced insulin resistance. *Am J Physiol* 1998; 275: R788-792.
31. Miller AW, Hoenig ME, Ujhelyi MR. Mechanisms of Impaired Endothelial Function Associated With Insulin Resistance. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 1998; 3: 125-134.
32. Miller AW, Katakam PV, Ujhelyi MR. Impaired endothelium-mediated relaxation in coronary arteries from insulin-resistant rats. *J Vasc Res* 1999; 36: 385-392.
33. Takagawa Y, Berger ME, Hori MT, Tuck ML, Golub MS. Long-term fructose feeding impairs vascular relaxation in rat mesenteric arteries. *Am J Hypertens* 2001; 14: 811-817.
34. Verma S, Bhanot S, Yao L, McNeill JH. Defective endothelium-dependent relaxation in fructose-hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1996; 9: 370-376.
35. Kizhner TA, Shilovizki O, Werman MJ. Long-term fructose intake reduces oxidative defense and alters mitochondrial performance in mice. *Nutrition Research* 2007; 27: 423–431.
36. Vasudevan H, Nagareddy PR, McNeill JH. Gonadectomy prevents endothelial dysfunction in fructose-fed male rats, a factor contributing to the development of hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H3058-H3064.

37. D'Angelo G, Ahmed A, Elmarakby AA, David M, Pollock DM, Stepp DW. Fructose Feeding Increases Insulin Resistance but Not Blood Pressure in Sprague-Dawley Rats. *Hypertension* 2005; 46: 1-6
38. Johansson ME, Andersson IJ, Alexanderson C, Skøtt O, Holmäng A, Bergström G. Hyperinsulinemic rats are normotensive but sensitized to angiotensin II. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294: 1240-1247.
39. Brown CM, Dulloo AG, Yepuri G, Montani J-P. Fructose ingestion acutely elevates blood pressure in healthy young humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008; 294: R730–R737.
40. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL, et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest*. 2009; 119: 1089-92.
41. 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.
42. 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. *Exp. Biol. Med*. 2007; 232: 814–822.

43. Hung LM, Chen JK, Huang SS, Lee RS, Su MJ. Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovasc Res*. 2000; 47: 549-555.
44. Kiziltepe U, Turan NND, Han U, Ulus AT, Akar F. Resveratrol, a red wine polyphenol, protects spinal cord from ischemia-reperfusion injury. *Journal Of Vascular Surgery* 2004; 40: 138-145.
45. Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5(6): 493-506.
46. Zou JG, Wang ZR, Huang YZ, Cao KJ, Wu JM. Effect of red wine and wine polyphenol resveratrol on endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Mol Med* 2003;11: 317–320.
47. 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 *Diab Obes Metab* 2008; 10: 347–9.
48. 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: 356–2.
49. Szkudelski T. Resveratrol inhibits insulin secretion from rat pancreatic islets. *Eur J Pharmacol* 2006; 552: 176–81.
50. Akar F, Ulus AT, Sepici A, Söylemez S, Tufan C, Pektaş MB, Sürücü S. Alloksan ile diyabet oluşturulmuş tavşanlarda resveratrolün endotel

fonksiyonu, nitrik oksit ve antioksidan kapasite üzerine etkisinin incelenmesi. TÜBİTAK Projesi, 2008; Proje No: 105S431.

51. Sharma S, Anjaneyulu M, Kulkarni K, Chopra K. Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin, attenuates diabetic nephropathy in rats. *Pharmacology* 2006; 76: 69–75.
52. 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.
53. 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.
54. Aubin M-C, 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: 961–8.
55. 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): 157–68.
56. 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: 1109–22.

57. Markus MA, Morris BJ. Resveratrol in prevention and treatment of common clinical conditions of aging. *Clin Interv Aging* 2008; 3(2): 331–9.
58. Ungvari Z, Orosz Z, Rivera A, Labinskyy N, Xiangmin Z, Olson S, et al. Resveratrol increases vascular oxidative stress resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292: H2417–H2424.
59. Csiszar A, Labinskyy N, Podlutzky A, Kaminski PM, Wolin MS, Zhang C, et al. Vasoprotective effects of resveratrol and SIRT1: attenuation of cigarette smoke-induced oxidative stress and proinflammatory phenotypic alterations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H2721–H2735.
60. Choi YK, Johlin FC Jr, Summers RW, Jackson M, Rao SS. Fructose intolerance: an under-recognized problem. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1348-1353.
61. Cook GC. Absorption products of D(-) fructose in man. *Clin Sci* 1969; 37: 675-687.
62. Macdonald I, Keyser A, Pacy D. Some effects, in man, of varying the load of glucose, sucrose, fructose, or sorbitol on various metabolites in blood. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: 1305-1311.
63. Alan R, Gaby MD. Adverse effects of dietary fructose. *Altern Med Rev* 2005; 10(4): 294-306.

64. Tran LT, Yuen VG, McNeill JH. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Mol Cell Biochem* 2009; Jun 18.
65. Elliott SS, Keim NL, Stern JS, Teff K, Havel PJ. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 911-922.
66. Brownlee M. Glycosylation products as toxic mediators of diabetic complications. *Annu Rev Med* 1991; 42: 159-166.
67. Devamanoharan PS, Ali AH, Varma SD. Prevention of lens protein glycation by taurine. *Mol Cell Biochem* 1997; 177: 245-250.
68. McPherson JD, Shilton BH, Walton DJ. Role of fructose in glycation and cross-linking of proteins. *Biochemistry* 1988; 27: 1901-1907.
69. Vlassara H, Cai W, Crandall J, Goldberg T, Oberstein R, Dardaine V, et al. Inflammatory mediators are induced by dietary glycotoxins, a major risk factor for diabetic angiopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 15596-15601.
70. Zheng F, He C, Cai W, Hattori M, Steffes M, Vlassara H. Prevention of diabetic nephropathy in mice by a diet low in glycoxidation products. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18: 224-237.
71. Goldberg T, Cai W, Peppas M, Dardaine V, Baliga BS, Uribarri J, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J Am Diet Assoc* 2004; 104: 1287-1291.

72. Crapo PA, Kolterman OG, Olefsky JM. Effects of oral fructose in normal, diabetic, and impaired glucose tolerance subjects. *Diabetes Care* 1980; 3: 575-582.
73. Hassinger W, Gaberle E, Schultz G. Blood glucose levels and insulin requirement after fructose as sweetener in diabetic diet. *Diabetologia* 1980; 19: 281.
74. Swanson JE, Laine DC, Thomas W, Bantle JP. Metabolic effects of dietary fructose in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 851-856.
75. Faeh D, Minehira K, Schwarz JM, Periasamy R, Park S, Tappy L. Effect of fructose overfeeding and fish oil administration on hepatic de novo lipogenesis and insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes* 2005; 54: 1907–1913.
76. Boot-Handford R, Heath H. Identification of fructose as the retinopathic agent associated with the ingestion of sucrose-rich diets in the rat. *Metabolism* 1980; 29: 1247-1252.
77. Fields M, Lewis CG, Beal T. Accumulation of sorbitol in copper deficiency: dependency on gender and type of dietary carbohydrate. *Metabolism* 1989; 38: 371-375.
78. Kawasaki T, Ogata N, Akanuma H, Sakai T, Watanabe H, Ichiyanagi K, et al. Postprandial plasma fructose level is associated with retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2004; 53: 583-588.

79. Born P, Zech J, Lehn H, Classen M, Lorenz R. Colonic bacterial activity determines the symptoms in people with fructose malabsorption. *Hepatogastroenterology* 1995; 42: 778-785.
80. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, et al. Sugarsweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA* 2004; 292: 927-934.
81. Ludwig DS, Peterson KE, Gortmaker SL. Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. *Lancet* 2001; 357: 505-508.
82. Allen RJ, Brook M, Lister RE, Sim AK, Warwick MH. Metabolic differences between dietary liquid glucose and sucrose. *Nature* 1966; 211: 1104.
83. Nagata R, Nishio Y, Sekine O, Nagai Y, Maeno Y, Ugi S, et al. Single nucleotide polymorphism (-468 Gly to A) at the promoter region of SREBP-1c associates with genetic defect of fructose-induced hepatic lipogenesis. *J Biol Chem* 2004; 279: 29031-29042.
84. Bantle JP, Raatz SK, Thomas W, Georgopoulos A. Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1128-1134.
85. Reiser S, Powell AS, Scholfield DJ, Panda P, Fields M, Canary JJ. Blood lipids, lipoproteins, apoproteins, and uric acid in men fed diets containing fructose or high-amylose cornstarch. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 832-839.

86. Curry DL. Effects of mannose and fructose on the synthesis and secretion of insulin. *Pancreas* 1989; 4: 2-9.
87. 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.
88. 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.
89. 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.
90. 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.
91. Iyer SN, Katovich MJ. Effect of chronic losartan potassium treatment on fructose-induced hypertension. *Life Sci* 1994; 55: PL139-144.
92. 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.

93. Catena C, Giacchetti G, Novello M, Colussi G, Cavarape A, Sechi LA. Cellular mechanisms of insulin resistance in rats with fructose-induced hypertension. *Am J Hypertens* 2003; 16: 973–978
94. Bezerra RM, Ueno M, Silva MS, Tavares DQ, Carvalho CR, Saad MJ. A high fructose diet affects the early steps of insulin action in muscle and liver of rats. *J Nutr* 2000; 130: 1531–1535.
95. Reaven GM, Ho H, Hoffman BB. Attenuation of fructose-induced hypertension in rats by exercise training. *Hypertension* 1988; 12: 129-132.
96. Kamata K, Yamashita K. Insulin resistance and impaired endothelium-dependent renal vasodilatation in fructose-fed hypertensive rats. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1999; 103: 195-210.
97. Verma S, Skarsgard P, Bhanot S, Yao L, Laher I, McNeill JH. Reactivity of mesenteric arteries from fructose hypertensive rats to endothelin-1. *Am J Hypertens* 1997; 10: 1010-1019.
98. Scherrer U, Randin D, Vollenweider P, Vollenweider L, Nicod P. Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. *J Clin Invest* 1994; 94: 2511-2515.
99. Zeng G, Quon MJ. Insulin-stimulated production of nitric oxide is inhibited by wortmannin. Direct measurement in vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1996; 98: 894-898.
100. Pinkney JH, Stehouwer CD, Coppack SW, Yudkin JS. Endothelial dysfunction: cause of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 1997; 46 Suppl 2: 9-13.

101. Panza JA, Quyyumi AA, Callahan TS, Epstein SE. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 1145-1151.
102. 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.
103. 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.
104. King RE, Bomser JA, Min DB. Bioactivity of resveratrol. *Comp Rev Food Sci and Food Safety* 2006; 5: 65-70.
105. 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(9): 769-77.
106. Bertelli A, Bertelli AA, Gozzini A, Giovannini L. Plasma and tissue resveratrol concentrations and pharmacological activity. *Drugs Exp Clin Res.* 1998; 24(3): 133-8.
107. Chen CK, Pace-Asciak CR. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen Pharmacol.* 1996; 27(2): 363-6.
108. Orallo F, Alvarez E, Na MC, 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.

109. Rakici O, Kiziltepe U, Coskun B, Aslamaci S, Akar F. Effects of resveratrol on vascular tone and endothelial function of human saphenous vein and internal mammary artery. *Int J Cardio* 2005; 105: 209– 215.
110. Wallerath T, Deckert G, Ternes T, Anderson H, Li H, Witte K, Förstermann U. Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2002; 106: 1652-8.
111. Chow S-E, Hshu Y-C, Wang J-S, Chen J-K. Resveratrol attenuates oxLDL-stimulated NADPH oxidase activity and protects endothelial cells from oxidative functional damages. *J Appl Physiol* 2007; 102: 1520–7.
112. Söylemez 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 Pharmac* 2008; 49: 97-105.
113. Wallerath T, Li H, Gödtel-Ambrust U, Schwarz MP, Förstermann U. A blend of polyphenolic compounds explains the stimulatory effect of red wine on human endothelial NO synthase. *Nitric Oxide* 2005;12: 97-104.
114. Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, et al. Cancer chemoprotective activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* 1997;275: 218–220.

115. Naderali EK, Doyle PJ, Williams G. Resveratrol induces vasorelaxation of mesenteric and uterine arteries from female guinea-pigs. *Clin Sci* 2000; 98: 537-43.
116. Chander V, Chopra K. Role of nitric oxide in resveratrol-induced renal protective effects of ischemic preconditioning. *J Vasc Surg* 2005; 42(6): 1198-1205.
117. Frankel EN, Waterhouse AL, Kinsella JE. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet*. 1993;341(8852): 1103-1104.
118. Belguendouz L, Fremont L, Linard A. Resveratrol inhibits metal ion-dependent and independent peroxidation of porcine low-density lipoproteins. *Biochem Pharmacol* 1997;53: 1347-1355.
119. Lu R, Serrero G. Resveratrol, a natural product derived from grape, exhibits antiestrogenic activity and inhibits the growth of human breast cancer cells. *J Cell Physiol*. 1999;179(3):297-304.
120. Gehm BD, McAndrews JM, Chien PY, Jameson JL. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14138-3.
121. Simopoulos AP. The Mediterranean diets: What is so special about the diet of Greece? The scientific evidence. *J Nutr*. 2001;131: 3065S–3073S.
122. Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP, Shishodia S, Takada Y. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res*. 2004; 24(5A): 2783-2840.

123. Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G, Goldberg DM. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta*. 1995; 235(2): 207-219.
124. Pace-Asciak CR, Rounova O, Hahn SE, Diamandis EP, Goldberg DM. Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subjects. *Clin Chim Acta*. 1996; 246(1-2): 163-82.
125. Fremont L, Belguendouz L, Delpal S. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to ldl oxidation and polyunsaturated fatty acids. *Life Sci* 1999; 64(26): 2511-2521.
126. 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–E1346.
127. Miura D, Miura Y, Yagasaki K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatomabearing rats. *Life Sci*. 2003; 73(11): 1393-400.
128. Vessal M, Hemmati M, Vasei M. Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. *Comp Biochem Physiol Toxicol Pharmacol* 2003; 135C(3): 357-64.
129. Chen WP, Chi TC, Chuang LM, Su MJ. Resveratrol enhances insulin secretion by blocking KATP and KV channels of beta cells. *Eur J Pharmacol* 2007; 568: 269–277.

130. 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 Sciences* 2007; 80: 1713–1720
131. Akar F. Endotel ve Epitel Kaynaklı Otakoidler. İçinde: Bökesoy TA, editörler. *Farmakoloji Ders Kitabı*. Ankara: Gazi Kitabevi; 2000. s.221-227.
132. Thomas G, Nitric Oxide, Donors & Inhibitors, içinde; Katzung BG. *Basic & Clinical Pharmacology*. 9th International Edition. Singapur: Mc Graw Hill Companies; 2004 s. 313-318.
133. Sessa WC. Regulation of endothelial derived nitric oxide in health and disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100(Suppl. I): 15-18.
134. Kizhner TA, Werman MJ. Long-term fructose intake: biochemical consequences and altered renal histology in the male rat. *Metabolism* 2002; 51: 1538-154.
135. Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson C. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regul Pept* 2008; 150: 26–32.
136. Zhao CX, Xu X, Cui Y, Wang P, Wei X, Yang S, et al. Increased endothelial nitric oxide synthase expression reduces hypertension and hyperinsulinemia in fructose-treated rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009; 328(2): 610–620.
137. 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. *J Nutr Biochem* 2001;12: 396–403.

138. Rault-Nania MH, Demougeot C, Gueux E, Berthelot A, Dzimira S, Rayssiguier Y, Rock E, Mazur A. Inulin supplementation prevents high fructose diet-induced hypertension in rats. *Clin Nutr* 2008; 27(2): 276-82.
139. 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.
140. Shinozaki K, Kashiwagi A, Nishio Y, Okamura T, Yoshida Y, Masada M, et al. Abnormal biopterin metabolism is a major cause of impaired endothelium-dependent relaxation through nitric oxide/O₂-imbalance in insulin-resistant rat aorta. *Diabetes* 1999; 48: 2437–2445.
141. Shinozaki K, Nishio Y, Okamura T, Yoshida Y, Maegawa H, Kojima H, et al. Oral administration of tetrahydrobiopterin prevents endothelial dysfunction and vascular oxidative stress in the aortas of insulin-resistant rats. *Circ Res* 2000; 87: 566–573.
142. Hyndman ME, Verma S, Rosenfeld RJ, Anderson TJ, Parsons HG. Interaction of 5-methyltetrahydrofolate and tetrahydrobiopterin on endothelial function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: H2167–H2172.
143. Akar F, Ark M, Uydes BS, Abacioglu N, Van de Voorde J, Kanzik I. Nitric oxide production by human umbilical vessels in severe pre-eclampsia. *J Hypertens*.1994; 12: 1235-1241.

144. Brillante DG, O'Sullivan AJ, Johnstone MT, Howes LG. Arterial stiffness and haemodynamic response to vasoactive medications in subjects with insulin-resistance syndrome. *Clin Sci* 2008; 114: 139–147.
145. Maejima K, Nakano S, Himeno M, Tsuda S, Makiishi H, Ito T, et al. Increased basal levels of plasma nitric oxide in Type 2 diabetic subjects. Relationship to microvascular complications. *J Diabetes Complications* 2001; 15: 135–143.
146. Woodman RJ, Playford DA, Watts GF. Basal production of nitric oxide (NO) and non-NO vasodilators in the forearm microcirculation in Type 2 diabetes: associations with blood pressure and HDL cholesterol. *Diabetes Res Clin Pract* 2006; 71: 59–67.
147. Maffei A, Poulet R, Vecchione C, Colella S, Fratta L, Frati G, et al. Increased basal nitric oxide release despite enhanced free radical production in hypertension. *J Hypertens* 2002; 20: 1135-1142.
148. Munzel T, Daiber A, Ullrich V, Mulsc A. Vascular consequences of endothelial nitric oxide synthase uncoupling for the activity and expression of the soluble guanylyl cyclase and the cGMP-dependent protein kinase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:1551-1557.
149. 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: 337-42.
150. Söylemez S, Sepici A, Akar F. Resveratrol supplementation gender independently improves endothelial reactivity and suppresses superoxide production in healthy rats. *Cardiovasc Drug Ther* 2009 in press.

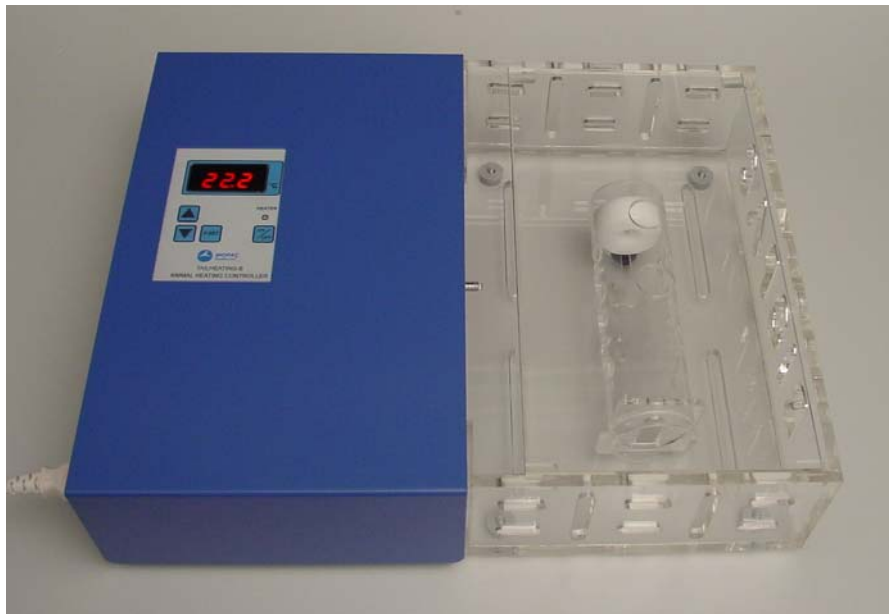
151. Liu JC, Chen JJ, Chan P, Cheng CF, Cheng TH. Inhibition of cyclic strain induced endothelin-1 gene expression by resveratrol. *Hypertension* 2003; 42: 1198-205.

10. EKLER

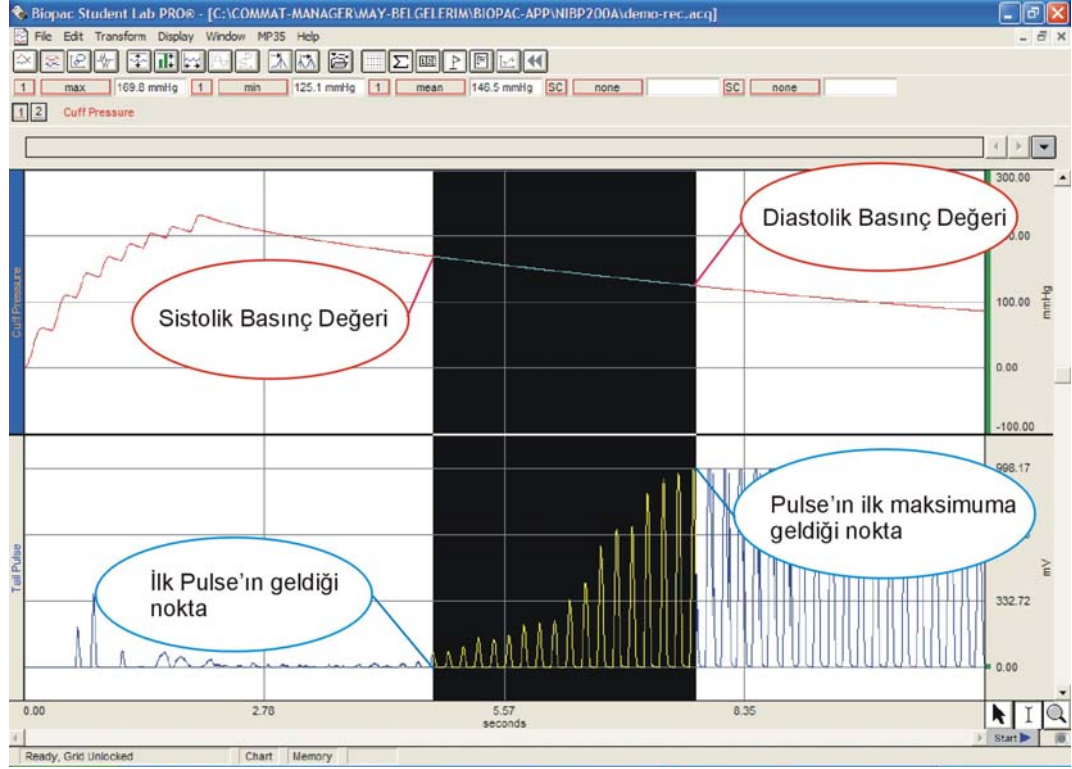
EK-1: Sistolik Kan Basıncı Ölçümünde Kullanılan Aletler ve Trase Örnekleri



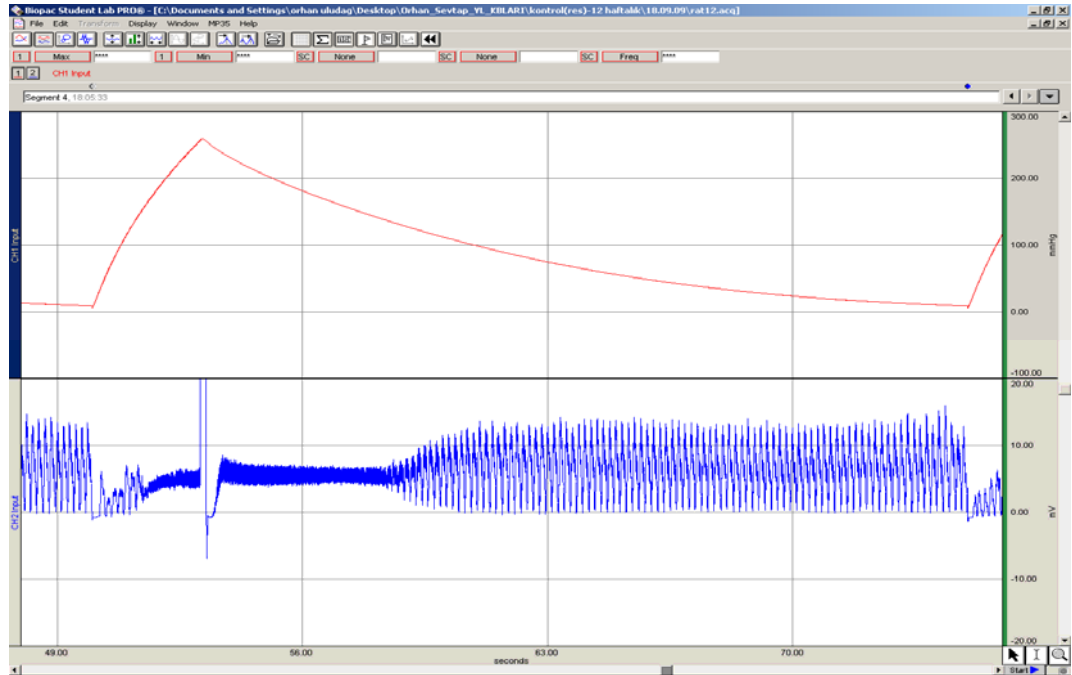
Resim 1. Kuyruktan kan basıncı ölçüm sistemi (NIBP200A/BIOPAC Systems)



Resim 2. Isınma kabini (Animal Heating Chamber)



Resim 3. Data analiz yöntemi



Resim 4. Deneylerde elde edilen traselerden bir örnek

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı :Ali
Soyadı :AYDIN
Doğum Yeri ve Tarihi :Ankara, 10.04.1984

Eğitim:

Lisans : Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara, 2006
Lise : Polatlı Anadolu Lisesi, Ankara, 2002

Yabancı Dili: İngilizce

Bilimsel Etkinlikleri:

“The investigation of vasodilatory effect of iloprost in vessels from type 2 diabetic patients” konulu poster sunumu, “The 7th International Congress on Coronary Artery Disease” Venedik, İtalya, 2007.