



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



KETEN TOHUMU VE DİYABETİK KARDİYOVASKÜLER KOMPLİKASYONLAR

Nilay TARHAN

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Gülgün OZANSOY**

2012- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından,
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/08/2012

Prof. Dr. V. Melih Altan
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Fatma Akar
Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Belma Konuklugil
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Gülgün Ozansoy
Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Arzu Onay Beşikçi
Ankara Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1. 1. Diabetes Mellitus	2
1. 2. Oksidatif Stres	3
1. 2. 1. Enzimatik Antioksidanlar	4
1. 2. 2. Nonenzimatik antioksidanlar	4
1. 3. Diyabetin Oluşumunda Yer Alan Mekanizmalar	7
1. 3. 1. Diyabette oksidatif stresin rolü	7
1. 3. 2. Diyabette Hipergliseminin Rolü	10
1. 3. 3. Diyabette İnsülinin ve İnsülin Direncinin Rolü	11
1. 3. 4. Diyabette AGE'lerin Rolü	12
1. 3. 5. Diyabette Poliol Yolağının Rolü	13
1. 3. 6. Diyabette PKC'nin Rolü	14
1. 3. 7. Diyabette Heksozamin Yolağının Rolü	16
1. 4. Diyabette Vasküler Endotelial Hücre Disfonksiyonu	17
1. 5. Keten Tohumu	20
1. 5. 1. Keten Tohumunun Yapısı ve Genel Özellikleri	20
1. 5. 2. Keten Tohumu ve Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar	21
1. 5. 2. 1. Plazma Lipitleri ve Ateroskleroz Üzerine Etkileri	21
1. 5. 2. 2. Antioksidan Aktivite Üzerine Etkisi	26
1. 5. 2. 3. Hematopoetik Sistem Üzerine Etkileri	27
1. 5. 2. 4. İskemi-Reperfüzyon, Miyokard Hasarı ve Aritmiler Üzerine Etkisi	27
1. 5. 2. 5. Kan Basıncı Üzerine Etkisi	28
1. 5. 2. 6. Vasküler fonksiyonlar üzerine etkisi	29
1. 5. 3. Keten Tohumu ve Klinik Çalışmalar	29

1. 5. 3. 1. Ateroskleroz ve Serum Lipitleri Üzerine Etkileri	29
1. 5. 3. 2. Hemostatik Etkisi	32
1. 5. 3. 3. Antienflamatuar Etkisi	33
1. 5. 3. 4. Kan Basıncı Üzerine Etkisi	34
2. GEREÇ VE YÖNTEM	36
2. 1. Gereçler	36
2. 1. 1. Deneysel Araç ve Gereçler	36
2. 1. 2. Kullanılan kimyasal maddeler	37
2. 2. Yöntemler	38
2. 2. 1. Diyabet Oluşturulması	38
2. 2. 2. Deney Grupları	38
2. 2. 3. Plazma Örneklerinin Alınması	39
2. 2. 4. Kan Basınçlarının Ölçülmesi	39
2. 2. 5. Sıçan Torakik Aortasının İzolasyonu	39
2. 3. Deneysel İşlemler	40
2. 3. 1. Biyokimyasal Deneyler	40
2. 3. 1. 1. Kan Glukoz Düzeyinin Ölçümü	40
2. 3. 1. 2. Plazma TG, HDL-K, AST (GOT), ALT (GPT) ve İnsülin Düzeylerinin Ölçümü	40
2. 3. 2. Farmakolojik Deneyler	40
2. 3. 2. 1. Kasılma Yanıtlarıyla İlgili Deneyler	40
2. 4. Sonuçların Analizi	41
2. 4. 1. Hesaplamalar ve İstatistiksel Analizler	41
2. 4. 2. Yazılım ve Grafikler	42
3. BULGULAR	43
3. 1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri	43
3. 1. 1. Beden Ağırlığı	43
3. 1. 2. Kan Basıncı Değerleri	43
3. 2. Biyokimyasal Bulgular	44

3. 2. 1. Kan Glukoz Düzeyleri	44
3. 2. 2. İnsülin Düzeyleri	44
3. 2. 3. HDL-K Düzeyleri	45
3. 2. 4. TG Düzeyleri	46
3. 2. 5. GPT (ALT) Düzeyleri	46
3. 2. 6. GOT (AST) Düzeyler	47
3. 3. Farmakolojik Bulgular	48
3. 3. 1. Fenilefrin ile Elde Edilen Kümülatif Konsantrasyon-Yanıt Eğrileri	48
3. 3. 2. İndometazin Kasılma Yanıtlarına Etkisi	49
3. 3. 3. L-NAME'in Kasılma Yanıtlarına Etkisi	51
3. 3. 4. SOD'un Kasılma Yanıtlarına Etkisi	54
4. TARTIŞMA	57
4. 1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri	57
4. 2. Biyokimyasal Bulgular	57
4. 3. Farmakolojik Bulgular	59
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	63
ÖZET	64
SUMMARY	65
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ	86

ÖNSÖZ

Günümüzde ölüm nedenlerinde birinci sırayı oluşturan kardiyovasküler hastalıklardan korunma ve tedavi için alternatif çözümler yoğun olarak araştırılmaktadır. Bunlardan bitkilerle tedavi giderek artan ilgi görmektedir. Keten tohumunun kardiyovasküler sistem üzerinde özellikle ateroskleroz gelişimini engelleyerek, antioksidan etkisi v.b özelliklerine bağlı olarak olumlu etkisinin varlığı bulunmuştur. Ancak diyabetiklerde özellikle vasküler kasılma yanıtları üzerindeki etkisini ve mekanizmasını araştıran çalışmalar oldukça azdır. Çalışmamızda uzun süreli keten tohumu tedavisinin diyabetik sıçanların vasküler kasılma yanıtlarında ve bazı biyokimyasal parametrelerinde oluşturduğu değişiklikler incelenmiştir.

Çalışmamda bilgi ve tecrübesinden yararlandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gülgün Ozansoy'a, Sayın Prof. Dr. V. Melih Altan'a ve Sayın Prof. Dr. Nuray Arı'ya

Yüksek lisans burs programından dolayı TÜBİTAK'a

Çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Uzm. Ecz. Can Tufan'a ve İsmail Başer'e, bana her konuda yardımcı olan, desteğini hep yanımda hissettiğim canım arkadaşım Uzm. Ecz. Serap Yılmaz'a teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AGE	İlerlemiş glikasyon son ürünü
ALA	Alfa linolenik asit
BH ₄	Tetrahidro biopterin
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
CAT	Katalaz
CL	Kemolüminesans
CMC	Karboksimetil selüloz
COX	Siklooksijenaz
CO ₂	Karbondioksit
CRP	C reaktif protein
D	Diyabet
DT	Diyabet tedavi
DAG	Diaçilgliserol
DHA	Dokozaheksaenoik asit
DMSO	Dimetil sülfoksit
ED	Enterediol
EKHF	Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör
EKKF	Endotel kaynaklı kasılma faktörü
EL	Enterolakton
E _{max}	Maksimum kasılma
EPA	Eikozapentaenoik asit
ETC	Elektron transport zinciri
eNOS	Endotel nitrik oksit sentaz
ecNOS	Endotelyal konstütif nitrik oksit sentaz
FE	L-Fenilefrin hidroklorür
GFAT	Glutamin fruktoz-6-fosfat amidotransferaz
GOT	Glutamik oksalasetik transaminaz
GPT	Glutamik püvik transaminaz
GPx	Glutasyon peroksidaz

GSH	Glutatyon
HDL-K	Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
H ₂ O	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IL	İnterlökin
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
K	Kontrol
KCl	Potasyum klorür
KLK	Keten lignan kompleksi
KT	Kontrol tedavi
LDL-K	Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
L-NAME	L-Nitro arjinin metil ester
MDA	Malondialdehit
MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnezyum sülfat, yedi su
NaCl	Sodyum klorür
NADPH	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NaH ₂ PO ₄	Sodyum dihidrojen fosfat
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NaHCO ₃	Sodyum bikarbonat
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
O ₂	Oksijen
O ₂ ⁻	Süperoksit
·OH	Hidroksil radikali
ONOO ⁻	Peroksinitrit
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitör-1
PAF	Trombosit aktive edici faktör
pD ₂	Maksimum yanıtın % 50'sini oluşturan dozun -log değeri
PGI ₂	Prostasiklin
PKC	Protein kinaz C
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
RAGE	AGE reseptörü

RCT	Reaktif klorin türleri
RNT	Reaktif nitrojen türleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
SAA	Serum amyloid A
sICAM	Soluble intrasellüler adezyon molekülü
sVCAM	Soluble vasküler hücre adezyon molekülü
SDG	Sekoisolarisiresinol diglukozid
SECO	Sekoisolarisiresinol
SOD	Süperoksit dismutaz
Sp-1	Spesifik protein-1
STZ	Streptozotosin
TGF- β 1	Transforming büyüme faktörü- β 1
TG	Trigliserit
TK	Total kolesterol
TNF α	Tümör nekrozis faktör α
UDPGlcNAc	Üridin difosfat-N-asetil glukozamine
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VLDL-K	Çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterol

ŞEKİLLER

Şekil 1. 1. Antioksidanların sınıflandırılması	5
Şekil 1. 2. İnsülin bağımlı olmayan diyabette hiperoksidatif stresin patogenezi	11
Şekil 1. 3. AGE oluşumu	13
Şekil 1. 4. Polioll yolağının rolü	14
Şekil 1. 5. PKC aktivasyonu	16
Şekil 1. 6. Heksozamin yolağı	17
Şekil 1. 7. Vasküler endotelin bütünlüğünün kurtarıcı faktörler tarafından dengelenmesi	19
Şekil 3. 1. Deney gruplarının kan basıncı düzeyleri	43
Şekil 3. 2. Deney gruplarının kan glukoz düzeyleri	44
Şekil 3. 3. Deney gruplarının serum insülin düzeyleri	45
Şekil 3. 4. Deney gruplarının serum HDL-K düzeyleri	45
Şekil 3. 5. Deney gruplarının serum trigliserit (TG) düzeyleri	46
Şekil 3. 6. Deney gruplarının plazma GPT değerleri	47
Şekil 3. 7. Deney gruplarının plazma GOT değerleri	47
Şekil 3. 8. FE'nin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisi	48
Şekil 3. 9. İndometazin (IND) inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif FE konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları	49
Şekil 3. 10. İndometazin (IND) inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif FE konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları	50
Şekil 3. 11. L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif FE konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları	51
Şekil 3. 12. L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif FE konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları	52
Şekil 3. 13. SOD inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif FE konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları	54
Şekil 3. 14. SOD inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif FE konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları	55

ÇİZELGELER

Çizelge 1. 1. Oksidan moleküller ve antioksidan enzimler	6
Çizelge 3. 1. Grupların ortalama ağırlıkları	43
Çizelge 3. 2. Fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve E_{max} değerleri	48
Çizelge 3. 3. İndometazin inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve E_{max} değerleri	50
Çizelge 3. 4. İndometazin inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve E_{max} değerleri	51
Çizelge 3. 5. L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve E_{max} değerleri	52
Çizelge 3. 6. L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve E_{max} değerleri	53
Çizelge 3. 7. SOD inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve E_{max} değerleri	54
Çizelge 3. 8. SOD inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve E_{max} değerleri	55

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus kardiyovasküler hastalık riskini oldukça arttırmaktadır (Deedwania, 2004; Crawford ve ark., 2009). Diyabetin mikro- ve makrovasküler komplikasyonlarının başlamasında ve ilerlemesinde oksidatif stresin önemli bir rolünün olduğu giderek netleşmektedir (Channon ve Guzik, 2002; Crawford ve ark., 2009). Serbest radikallerin anormal bir şekilde artması ve eşzamanlı olarak antioksidan savunma mekanizmalarının azalması hücrel organellerin ve enzimlerin hasarına, lipit peroksidasyonunun artmasına ve insülin rezistansının gelişmesine neden olmaktadır (El Naggat ve ark., 2005). Vazokonstriktör ve vazodilatörlere verilen vasküler yanıtlardaki değişikliklerin diyabette bazı vasküler komplikasyonların gelişmesinde rol aldığı gösterilmiştir (Senses ve ark., 2001). Bu komplikasyonların gelişimini önlemek için gerek sentetik gerekse doğal kaynaklı ajanlar kullanılmaktadır. Diyabet tedavisinde kullanılan mevcut ilaçlar çeşitli yan etkilere neden olmaktadır. Bu nedenle daha az yan etkiye sahip, güvenli ve etkili maddelere gereksinim duyulmaktadır. Günümüzde bitkisel ürünlerle tedavi giderek ilgi uyandırmaktadır. Diyetle alınan keten tohumunun (*Linum usitatissimum*, Linacea familyası) içindeki farklı bileşenlere bağlı olarak kardiyovasküler hastalıklarda olumlu etkiler gösterdiği bazı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (Prasad, 2009; Bhatena ve ark., 2003; Dupasquier ve ark. 2009). Ancak bu çalışmalar genellikle deneysel olarak oluşturulan hiperkolesteroleminin neden olduğu ateroskleroz üzerinde yapılmıştır. Diyabette hem metabolik parametreler hem de vasküler kasılma yanıtlarına keten tohumunun etkisini araştıran çalışmalara pek rastlanmamıştır. Bu yüzden araştırmamızda diyabetik dişi sıçanlarda 12 hafta uygulanan keten tohumu tedavisinin kan glukoz, serum yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol, insülin, karaciğer enzim düzeyleri, kan basıncı ve vasküler kasılma yanıtları üzerine etkisi incelenerek uzun süreli keten tohumu tedavisinin diyabette gözlenen kardiyovasküler bozukluklar üzerindeki etkisi genel olarak araştırılmıştır.

1. 1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus, vasküler hasara ve multiorgan disfonksiyonuna neden olan, kronik hiperglisemi ve hücre sel homeostazda değişikliklerle karakterize birçok bozukluğu kapsamaktadır (Mokini ve Chiarelli, 2006). Wild ve arkadaşlarının (2004) yaptığı araştırmaya göre, dünyadaki diyabetli sayısı 170 milyon civarındadır ve 2030 itibariyle 366 milyon olması beklenmektedir. Gerçek şu ki diyabet kalıcı bir hastalıktır ve görülme sıklığı hem gelişmekte olan hem de endüstrileşmiş ülkelerde artmaktadır. Özellikle diyabetik hastalarda miyokard infarktüsü, serebrovasküler hastalık ve periferal vasküler hastalık gibi vasküler komplikasyonlarla ilişkili ölümlere neden olması bu hastalığın önemini ortaya koymaktadır (DCCTRG, 1993). Morbidite ve mortaliteyi arttırdığı da göz önünde bulundurulduğunda bu hastalığı erken müdahale ve terapötik stratejilerle önlemenin ne derece önemli olduğu ortaya çıkmaktadır (Zimmet ve ark., 2001).

Diyabet, insülin sekresyonunda, aktivitesinde veya her ikisinin birden hasarı sonucu meydana gelen hiperglisemi ile karakterize metabolik bozukluklar grubudur. Diyabetin gelişiminde çeşitli patojenik olaylar rol almaktadır. Diyabette, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerin temeli hedef organlardaki insülin aktivitesindeki yetersizliktir. Pankreastaki β hücrelerinin otoimmün hasarı insülin yetersizliğine veya insülin rezistansına yol açmaktadır. İnsülin aktivitesindeki eksiklik, yetersiz insülin sekresyonu ve/veya hormon aktivitesinde yer alan kompleks yolakların bir veya birçok noktasındaki dokuların insüline yanıtının azalması sonucu oluşmaktadır. İnsülin aktivitesindeki ve insülin sekresyonundaki hasarlar sıklıkla bir arada bulunmaktadır (American Diabetes Association, 2010).

Poliüri, polidipsi, kilo kaybı, polifaji ve bulanık görme hipergliseminin belirgin semptomlarıdır. Büyümenin zarar görmesi ve bazı enfeksiyonlara hassasiyet, kronik hiperglisemiye eşlik edebilmektedir. Kontrol altına alınmayan diyabetin, akut, hayatı tehdit edici sonuçları hiperglisemi, ketoasidoz veya nonketotik hiperosmolar sendromdur. Diyabetin uzun dönem komplikasyonları görme kaybı riski içeren

retinopati, böbrek yetmezliğine yol açan nefropati, ayak ülserleri, amputasyonlar ve Charcot eklemi (nöropatik osteoartropati) riski ile periferik nöropati, seksüel disfonksiyon, gastrointestinal, genitoüriner ve kardiyovasküler sendromlara neden olan otonomik nöropatiyi içermektedir. Diyabetli hastalarda, hipertansiyon ve lipoprotein metabolizmasındaki anormallikler sonucu gelişen aterosklerotik kardiyovasküler, periferik arteriyel ve serebrovasküler hastalıkların görülme sıklığı artmaktadır (American Diabetes Association, 2010).

Diabetes mellitus genel olarak tip 1 ve tip 2 olarak ayrılmaktadır. Tip 1 diabetes mellitusun nedeni insülin sekresyonundaki tam eksikliklerdir. Pankreastaki β hücrelerinin otoimmün yıkımı sonucu oluşur. Tip 2 diabetes mellitus ise yetersiz insülin sekresyonu ve insülin aktivitesindeki direncin kombinasyonu sonucu meydana gelir (American Diabetes Association, 2010).

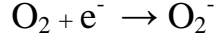
Hipergliseminin neden olduğu poliol yolağının aktivasyonu, ilerlemiş glikasyon son ürünlerinin (AGEs) artması, protein kinaz C (PKC) ve heksozamin biyosentez yollarının aktivasyonu, oksidatif stresin artmasına yol açarak diyabetik komplikasyonların gelişmesinde rol oynamaktadır (Brownlee, 2001). Bu durum sırayla yaygın endotel disfonksiyonuna, mikro ve makrovasküler komplikasyonların gelişmesine, ilerlemesine ve çoklu organ hasarına neden olabilmektedir (Giugliano ve ark., 1996).

1. 2. Oksidatif Stres

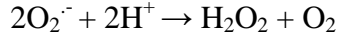
Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif klorin türleri (RCT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) gibi fazla aktif moleküllerin uzaklaştırılmasındaki yetersizlik ve/veya aşırı üretilmesi nedeniyle meydana gelmektedir (Taniyama ve Griendling, 2003).

ROT'leri çoğunlukla, normal koşullarda oksijenin en az % 0.2'sinin radikallere çevrildiği mitokondride üretilmektedir ancak kanıtlar diğer yolların

toplam hücrel ROT üretiminin % 25'e kadar çıkmasına neden olduğunu göstermektedir (Vincent ve ark., 2004). En önemli reaktif oksidan türleri süperoksit (O_2^-), nitrik oksit (NO), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve peroksinitrit ($ONOO^-$)'tir (Vincent ve ark., 2004). Süperoksit, oksijenin oksidazlar tarafından indirgenmesi ile oluşmaktadır.



O_2^- in dismutasyonu H_2O_2 'yi oluşturmaktadır.



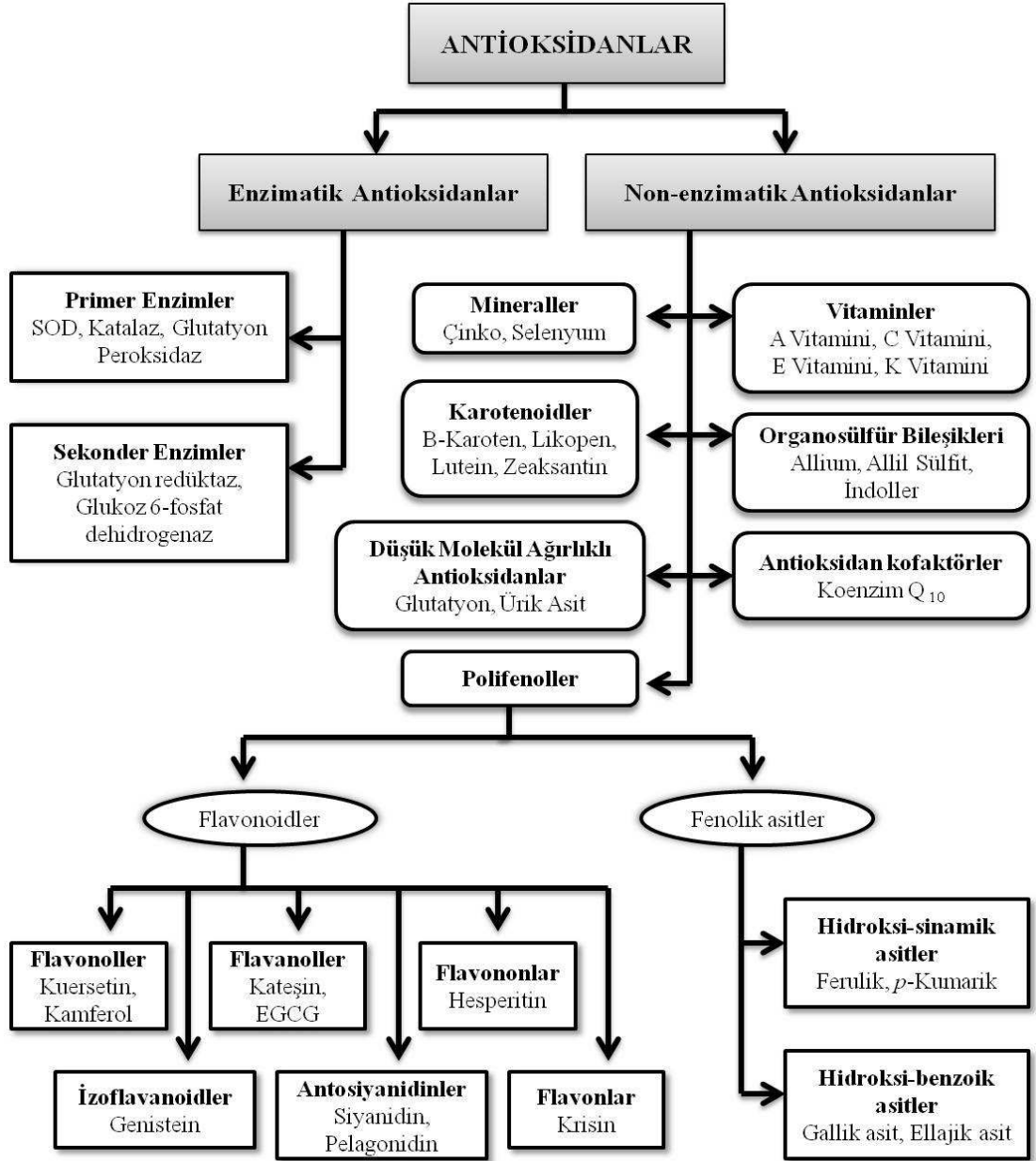
NO, normalde endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) tarafından veya özel durumlarda indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) tarafından üretilmektedir (Vincent ve ark., 2004).

1. 2. 1. Enzimatik Antioksidanlar

Çeşitli hücrel ve mitokondriyal enzimler reaktif moleküllerin detoksifikasyonunda yer almaktadır (Chiarelli ve ark., 2002). Süperoksit dismutaz (SOD, sitozolde CuSOD ve mitokondride MnSOD olarak), sitozoldeki glutatyon peroksidaz (GPX) ve peroksizomlardaki katalaz (CAT) ile birlikte enzimatik antioksidan savunma sistemini oluşturmaktadır (Evans ve ark., 2003). Diğer antioksidan enzimler süperoksit redüktaz, peroksiredoksin, glutatyon redüktaz, tioredoksin/tioredoksin redüktazdır (Ceriello, 2000).

1. 2. 2. Nonenzimatik antioksidanlar

Non-enzimatik antioksidan grubu glutatyonu (GSH), vitamin C (askorbik asit), vitamin E (α -tokoferol), karotenoidleri, ürik asit ve diğerlerini kapsamaktadır.



Şekil 1. 1. Antioksidanların sınıflandırılması. Ürik asit, vitamin E, glutasyon ve CoQ10 gibi bazı non-enzimatik antioksidanlar insan vücudunda sentezlenmekle birlikte diyetle de alınabilmektedir. Polifenoller diyetle alınan antioksidanların en önemli kısmını oluşturur (Ratnam ve ark., 2006).

Çizelge 1. 1. Oksidan moleküller ve antioksidan enzimler (Mokini ve ark., 2010).

Oksidatif stres molekülleri

Reaktif oksijen türleri

Serbest radikaller

Hidroksil (OH)

Süperoksit (O_2^-)

Peroksil (RO_2)

Hidroperoksil (HRO_2^-)

Radikal olmayanlar

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hipokloröz asit (HOCl)

Reaktif nitrojen türleri

Serbest radikaller

Nitrik oksit (NO)

Nitrojen dioksit (NO_2)

Radikal olmayanlar

Peroksinitrit (ONOO)

Alkil peroksinitrat (RONOO)

Reaktif klorin türleri

Antioksidan savunma sistemi

Süperoksit dismutaz (SOD)

CuZnSOD –sitozol

MnSOD – mitokondri

Glutatyon peroksidaz (GSH)

Katalaz (CAT)

Süperoksit redüktaz (SOR)

Peroksiredoksin (PRX)

Glutatyon redüktaz (GR)

Tioredoksin redüktaz (TRX/TRXR)

1. 3. Diyabetin Oluşumunda Yer Alan Mekanizmalar

1. 3. 1. Diyabette oksidatif stresin rolü

Oksidatif stres, diabetes mellitusta artmakta ve diyabetik mikro ve makrovasküler komplikasyonların patogeneğinde rol almaktadır (Mezzetti ve ark., 2000; Monnier ve ark., 2006; Papaharalambus ve Griendling, 2007; Son, 2007). Oksidatif stres moleküler düzeyde önemli sinyal yollarının aktivasyonunda, apoptoziste, gen ekspresyonunda, transkripsiyonel faktörlerde ve redoks duyarlı kinazlarda olduğu kadar DNA, protein ve lipitlerde moleküler hasar oluşmasında, ilerlemiş glikasyon son ürünlerinin (AGEs) oluşumunun hızlanmasında, homeostatik yolların ve hücrel savunma fonksiyonlarının aktivasyonunda da rol almaktadır (Brownlee, 2001).

Endotel tabakasının vaskulariteye zarar veren ajanlara maruz kalması sonucu reaktif oksijen türleri üreten çeşitli enzimler uyarılmaktadır (Stump ve ark., 2005). Enzimatik, non-enzimatik ve mitokondrial olarak ayrılan çeşitli yollar diyabette, oksidatif stres oluşumunda yer almaktadır (Brownlee, 2001). Nikotinamid adenozin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz, ksantin oksidaz, siklooksijenaz, lipoksijenaz, myeloperoksidaz, hem oksijenaz, peroksidaz, sitokrom P₄₅₀-bağımlı oksijenaz, çiftleşmemiş endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS), mitokondriyal elektron transport zinciri (ETC), ilerlemiş glikasyon son ürünlerinin (AGEs), protein kinaz C (PKC) ile polioll ve heksozamin yollarının aktivasyonu ROT'ların aşırı üretimine neden olmaktadır (Brownlee, 2001; Delbosc ve ark., 2005). Diyabetik komplikasyonların patogeneğinde özellikle mitokondriyal ROT üretimi anahtar rol oynamaktadır (Brownlee, 2001).

Diyabetiklerde reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu özellikle glisemik kontrolün yetersiz olduğu ve antioksidan savunma sisteminin zayıfladığı durumlarda artmaktadır (Giugliano ve ark., 1996). Diyabetin, nitrik oksit/süperoksit reaksiyonu

sonucu oluşan peroksinitritin oluşumunu arttırdığı da bulunmuştur (Kossenjans ve ark., 2000).

Diyabette endotel hücreler, hücrel antioksidan etkiyi yenen ve hücrel savunmayı zayıflatan ROT'ların başlıca hedefidir (De Vriese ve ark., 2000). ROT'lar endotel ve düz kas hücrelerinde belirgin değişikliklere neden olmakta, LDL'nin oksidasyonunu arttırmaktadır. Bütün bu mekanizmalar diyabetik mikrovasküler komplikasyonların gelişmesine ve aterogenezin hızlanmasına neden olmaktadır (Jay ve ark., 2006; Son, 2007). ROT'ların endotel hücreler üzerindeki başlıca etkilerinden biri NO'in inaktivasyonuna neden olarak endotel bağımlı gevşeme yanıtının bozulmasıdır. ROT'lar yol açtığı apoptoza bağılı olarak endotel hücrelerde kayıp oluşturur. Buna ek olarak ROT'lar endotel hücreler üzerindeki çeşitli adhezyon moleküllerinin ekspresyonunun artmasına yol açmaktadır (Taniyama ve Griendling, 2003; Jay ve ark., 2006). Bu olay sırayla vasküler duvardaki monosit/makrofajların toplanmasını uyarmakta ve aterosklerotik plak oluşumuna neden olmaktadır (Taniyama ve Griendling, 2003). Dahası diyabetik bireylerde yeni vasküler yapı oluşturmak için gerekli olan tübülizasyon, proliferasyon ve endotele adhezyon gibi tüm işlemlerin zarar görmesiyle endotel kaynaklı progenitör hücrelerin oluşturduğu neoangiogenez oldukça etkilenmektedir (Balestrieri ve ark., 2008).

Diyabetteki antioksidan durum konusunda uyumsuzluk olmasına rağmen, diyabetik hayvanlarda ve insanlardaki çeşitli çalışmalarda askorbik asit, glutatyon, katalaz ve süperoksit dismutazın plazma veya doku konsantrasyonlarında azalma bildirilmiştir (Brownlee, 2001; Evans ve ark., 2002). Diyabetin deneysel modellerinde, hem akut hiperglisemide (Tsfamariam ve Cohen, 1992) hem de hipergliseminin kronik evresinde (Hattori ve ark., 1991; Diedrich ve ark., 1994) zarar görmüş endotel bağımlı vazodilatasyon süperoksit dismutaz ilavesiyle ve serbest radikal süpürücüler ile tersine çevrilebilir. Hayvanlarda yapılan son çalışmalarda diyabetik damarlarda süperoksit anyonlarının aşırı üretildiği ve buna bağılı olarak endotel fonksiyonlarının azaldığı (Shinozaki ve ark., 1999; Lund ve ark., 2000) buna karşın süperoksit üretiminin azalmasının endotel fonksiyonların iyileşmesi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. SOD, CAT veya yağda çözünebilen bir antioksidan olan

probukol alımının lipit peroksiyonunu inhibe ederek endotel-bağımlı vazodilatasyonu arttırdığı belirlenmiştir (Tsfamariam ve Cohen, 1992). Başka bir çalışmada bir SOD mimetik olan tempolün, diyabetik tavşanların renal afferent arteriollerinde asetilkoline verilen endotelyal yanıtı artırdığı bulunmuştur (Schnackenberg, 2002). Transjenik hayvan modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada ise, güçlü antioksidan enzim olarak bilinen Cu/Zn süperoksit dismutaz seviyelerindeki yükselmenin oksidatif stresin neden olduğu diabetogenezise pankreatik beta hücrelerinin toleransını arttırdığı belirlenmiştir (Kubisch ve ark., 1994).

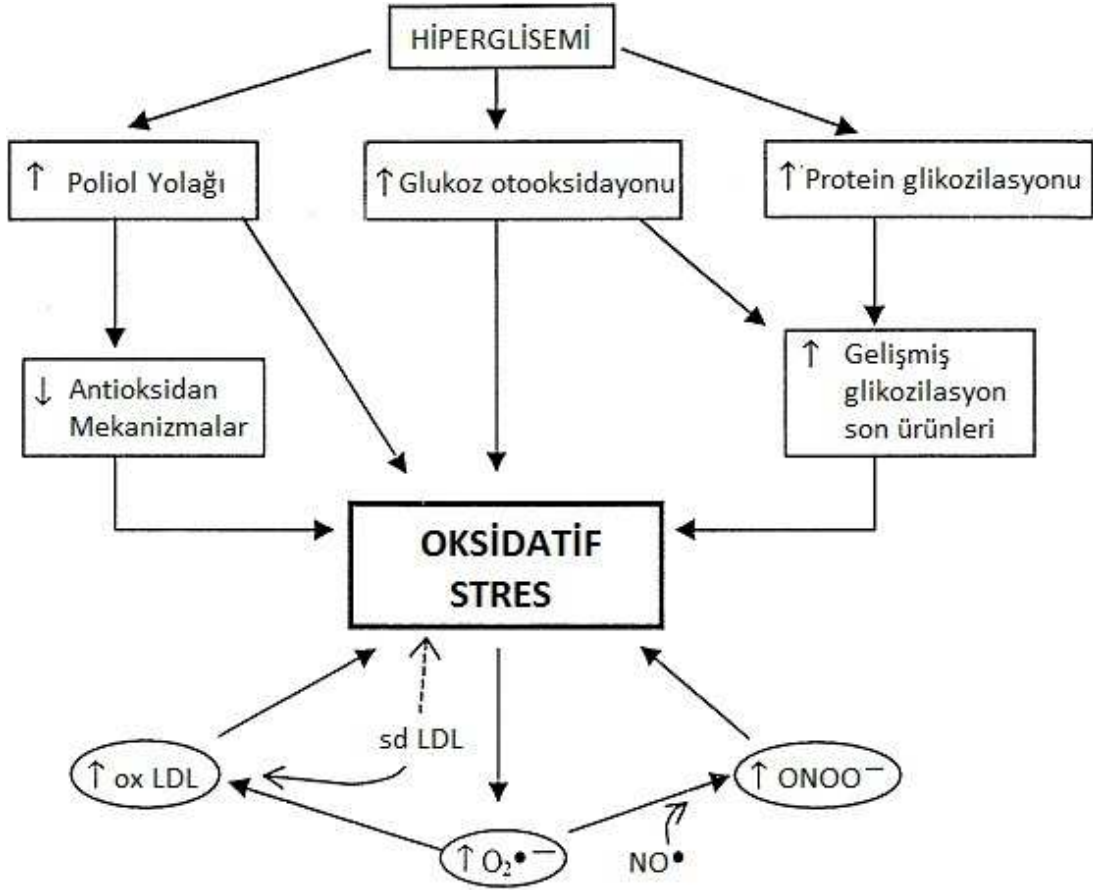
α -Lipoik asit, diyabetik komplikasyonların varlığında ve glisemik kontrolün yeterince yapılmadığı diabetes mellituslu hastalardaki oksidatif stresi önleyen bir antioksidan olarak bilinmektedir (Borcea ve ark., 1999a; Borcea ve ark.,1999b). Ayrıca, diyabetik hayvan modellerinde lipoik asitin vasküler (Stevens ve ark., 2000) ve endotelyal fonksiyonlar üzerinde (Keegan ve ark., 1999) yararlı etkileri olduğu belirtilmiştir. α -Lipoik asit, oksitlenen C ve E vitaminini ve glutasyonu yeniden oluşturmak için gereklidir. Hayvan çalışmalarında C, E vitaminleri ve α -lipoik asitin periferel sinirlere kan akışını ve sinir iletim hızını arttırdığı, retinal lökosit adhezyonunu azalttığı ve diyabetik komplikasyonların tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (Cameron ve ark., 1994; Cameron ve Cotter, 1999). Ayrıca başka bir çalışmada da diyabetiklerde zarar görmüş sinir iletiminin bir antioksidan olan E vitamini alımı ile düzeldiği gösterilmiştir (Tutuncu ve ark., 1998). Tip I ve tip II diyabetli hastalarda vitamin C gibi antioksidanların kullanımının ön kol arteriollerinde endotel bağımlı gevşemeyi belirgin olarak arttırdığı bulunmuştur (Ting ve ark., 1996; Timimi ve ark., 1998). Çalışmalar yağ zinciri peroksidasyonunun göstergesi olan ve ateroskleroza neden olan serum malondialdehit (MDA) seviyelerinin diyabetik hastalarda belirgin olarak arttığını göstermektedir (Gillery ve ark., 1989; Soska ve ark., 1993). Dahası diyabetik hayvanlarda vitamin C ve E, tek başına veya kombine halde, oksidatif stresin lipit peroksidasyonu, izoprostan üretimi, MDA ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) aktivasyonu gibi birçok parametresini normalleştirmektedir (Cameron ve Cotter, 1999).

1. 3. 2. Diyabette Hipergliseminin Rolü

Hiperglisemi, endotel bağımlı vazodilatasyonu baskılamakta, diyabetiklerde ve sağlıklı insanlarda endotel bağımlı vazodilatasyona zarar vermektedir (Kawano ve ark., 1999; Shige ve ark., 1999; Vehkavaara ve ark., 1999; Title ve ark., 2000). Diabetik komplikasyonların patogenezinin başlıca sorumlusu olan hiperglisemi, intrasellüler mekanizmada tekrarlanan akut değişikliklere (poliol yolağının aktivasyonu, diaçilgliserol (DAG)-protein kinaz C (PKC) aktivasyonu, oksidatif stres artışı, endotel hücre glikokaliks pertübasyonu) (Nieuwdorp ve ark., 2006) neden olduğu kadar AGEs oluşumundaki makromoleküllerin fonksiyonu ve yapısında uzun dönem değişikliklere de yol açmaktadır. Glukozun yüksek konsantrasyonlarının in vivo (Ting ve ark., 1996) ve in vitro (Tsfamariam ve ark., 1991) olarak endotel disfonksiyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

İnsanlarda normalde ROT üretimi süpürücü enzim sistemleri ve diğer antioksidan ajanlarla denge halinde tutulmaktadır. Güçlü birer antioksidan olan SOD, CAT, glutatyon peroksidaz (GPx) veya glutatyon redüktaz enzimlerinin aktivitesi in vivo ve in vitro olarak hem akut hem de kronik hiperglisemik durumlarda çalışılmıştır. Hiperglisemi antioksidan enzimlerin gen ekspresyonunu arttırmıştır (Ceriello ve ark., 1996; Sharpe ve ark., 1998).

Yüksek glukozun diğer bir etkisi de geniş damar endotel hücrelerinin replikasyonlarını geciktirmesidir. SOD, CAT ve indirgenmiş glutatyon insan endotel hücrelerini glukozun neden olduğu replikasyon gecikmesinden korumaktadır (Kim ve ark., 2002)



Şekil 1. 2. İnsülin bağımlı olmayan diyabette hiperoksidatif stresin patogenezi. Kutularda hiperglisemi ile doğrudan ilişkili mekanizmalar gösterilmiştir. Dairelerde ise serbest radikaller ile (ör. süperoxide $O_2^{\bullet-}$) lipoproteinlerin (ör. small, dense low-density lipoprotein, sd LDL) ve nitrik oksitin (NO^{\bullet}) reaksiyonu sonucu oluşan bazı mekanizmalar gösterilmiştir. ox LDL, oksitlenmiş LDL; $ONOO^-$, peroksinitrit (Watts ve Playford, 1998).

1. 3. 3. Diyabette İnsülinin ve İnsülin Direncinin Rolü

Endotel hücreler insülin reseptörlerini eksprese etmektedir. İnsülinin insan iskelet kaslarında NO-bağımlı vazodilatasyonu oluşturduğu bilinmektedir (Steinberg ve ark., 1994). İn vitro kanıtlar insülinin L-arjinin – NO vazodilatör yolağı aktive ettiğini (Baron, 1994) ve endotel kaynaklı gevşeme faktörlerinin (NO, PGI₂) salınımını uyardığını göstermektedir.

Sağlıklı bireylerde asetilkolinin neden olduğu vazodilatasyon insülin duyarlılığı ile ilişkili bulunmuştur ve endotel disfonksiyonun erken evrelerinde insülinin önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Fossum ve ark., 1998).

İnsülinin vasküler aktivitesi insülin direnci durumlarında, örneğin obezitede (Ferri ve ark., 1995), hipertansiyonda, glukoz tolerans bozukluğunda ve tip 2 diabetes mellitusta (Hogikyan ve ark., 1998) azalmaktadır. Wang ve arkadaşları (2006), endotel hücre kültürlerinde metabolik sendromda artış gösteren serbest yağ asitlerinin insülin rezistansına neden olduğunu, eNOS aktivasyonunu engellediğini ve sonuçta endotel disfonksiyona neden olduğunu göstermiştir.

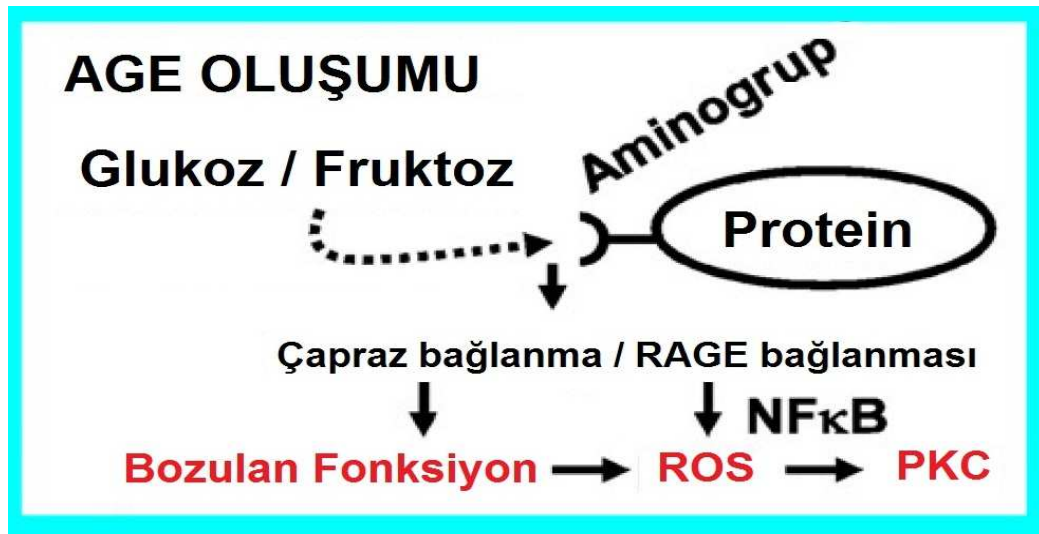
1. 3. 4. Diyabette AGE'lerin Rolü

Oksidatif stres, AGE'lerin oluşumuna (Giugliano ve ark., 1995; Brownlee, 1996; Chappey ve ark., 1997) ve NF-κB aktivasyonuna neden olmaktadır (Schmidt ve ark., 1994). Dahası oksidatif stres üretebilen AGE'lerin (Schmidt ve ark., 1994; Bierhaus ve ark., 1997) komplikasyonlar henüz ortaya çıkmadan diyabetin erken dönemlerinde oluştuğu gösterilmiştir (Beisswenger ve ark., 1995).

AGE'ler hiperglisemiye maruz kalan damar duvarında birikmekte, damar duvarının ve altındaki bazal membranın yapısını değiştirmekte ve NO'ı azaltmaktadır. Bu da endotel fonksiyonun negatif olarak etkilenmesine neden olmaktadır (Sheetz ve King, 2002). Diyabetik ekstrasellüler matrikste AGE'lerin miktarında artma olduğu bulunmuştur (Ahmet ve ark., 1986). Otooksidatif glikozilasyon veya glikooksidasyon yoluyla AGE'lerin oluşumu ROT'lar tarafından hızlandırılmaktadır (Stehouwer ve Schaper, 1996). Diğer taraftan glukoz otooksidasyonu ROT oluşumunu direkt olarak indüklemekte, protein ve lipitlerde hasara yol açmaktadır. AGE'ler makrofajlardaki ve endotel hücrelerdeki süpürücü reseptörler ve RAGE tarafından tanınarak ve hedef hücrelerin aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu da sitokinlerin, sitoadheziv moleküllerin ve büyüme faktörlerinin gen ekspresyonundaki artma ile karakterizedir (Thomas ve ark., 2005). RAGE blokajı,

gelişmiş aterosklerozun stabilizasyonu için faydalı olabilir (Bucciarelli ve ark., 2002).

Çeşitli faktörler diabetes mellituslu hastalarda AGE'lerin oluşumuna neden olan monosakkarit otooksidasyonu ve proteinlerin non-enzimatik glikasyonuna neden olabilir (Ruiz ve ark., 1999; Brownlee, 2001; Purves ve ark., 2001). Metabolizma düzeyinin kontrolünde diabetes mellitusun süresi ve meydana gelen oksidatif stresin şiddeti arasında güçlü pozitif ilişki vardır (Singh ve ark., 1997).

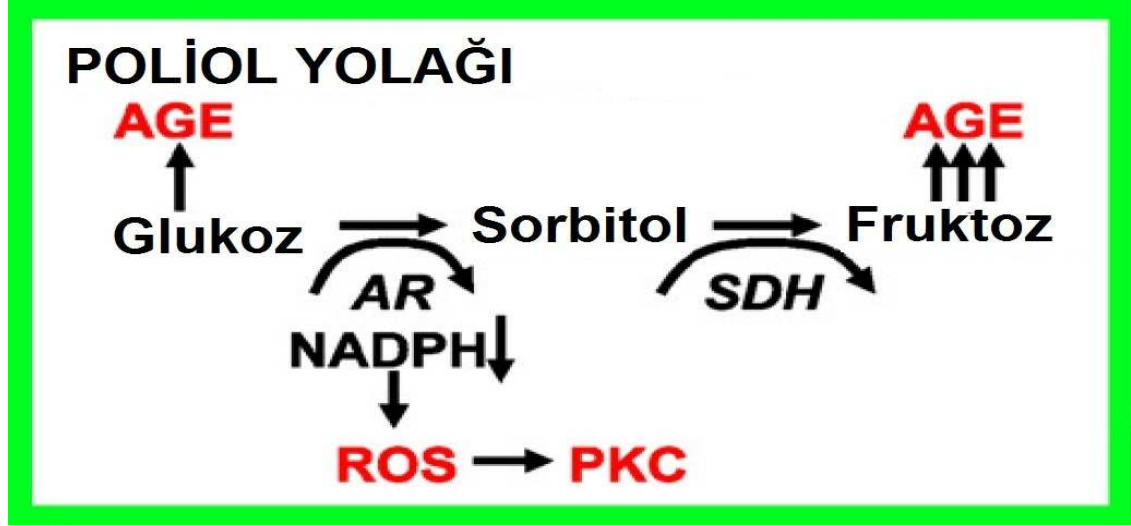


Şekil 1. 3. AGE oluşumu. AGE: ilerlemiş glikasyon son ürünü, RAGE: AGE reseptörü, NFκB: nükleer faktör kappa B, PKC: protein kinaz C (Gleissner ve ark., 2007).

1. 3. 5. Diyabette Polioliol Yolağının Rolü

Yüksek kan glukozu polioliol yolağının aktivitesini artırmaktadır. Polioliol yolağında glukoz, aldoz redüktaz tarafından hücresele NAD(P)H stokları azaltılarak sorbitole indirgenmektedir (Gabbay, 1973). NAD(P)H, NOS ve sitokrom-p450'yi kapsayan birçok endotelial enzimlerin fonksiyonlarında olduğu kadar glutatyon redüktazın antioksidan aktivitesinde de gereklidir. Sorbitol, daha sonra sorbitol dehidrogenaz tarafından fruktoza oksitlenmektedir. Bu reaksiyon NAD⁺'ı kullanmakta, hücrelerin redoks durumlarını değiştiren ve süperoksit anyonu üretimiyle sonuçlanan NADH/NAD⁺ oranını arttırmaktadır. Alternatif olarak, polioliol yolağının yüksek

oranda artışı büyük miktarda ATP tüketmekte ve böylece endotel kaynaklı gevşeme faktörü üretimini için gerekli olan enerjiyi sağlamaktadır (Cameron ve Cotter, 1992).



Şekil 1. 4. Poliöl yolağının rolü. AR: Aldoz redüktaz, SDH: sorbitol dehidrogenaz PKC: Protein kinaz C, ROS: Reaktif oksijen türleri (Gleissner ve ark., 2007).

1.3. 6. Diyabette PKC'nin Rolü

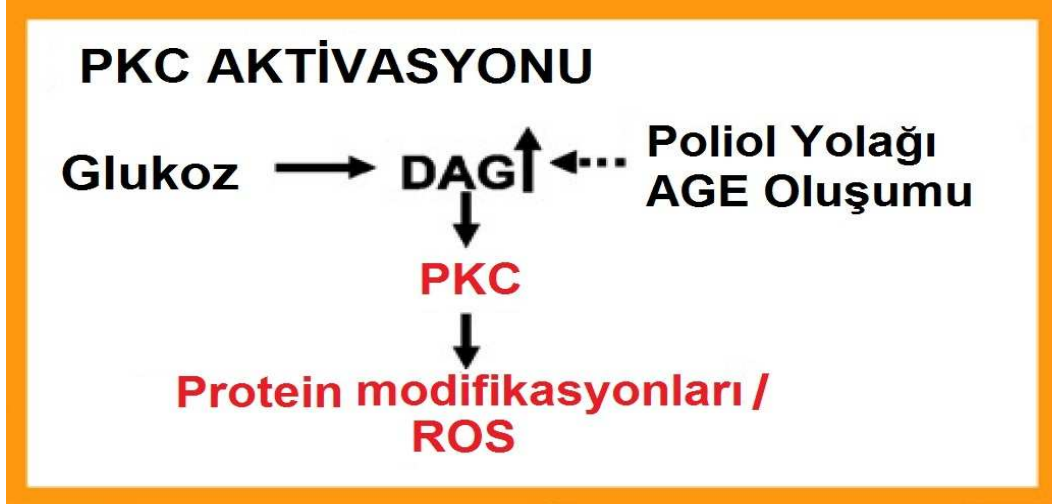
Hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres, morfolojik hasar gözlenmeden endotel hücrelerde erken fonksiyonel değişikliklere yol açmaktadır. Bu endotelial disfonksiyon hücre-matriks, hücre-hücre etkileşimindeki değişiklikler kadar endotel bağımlı ve endotel bağımsız vazodilatasyon zararını da kapsamaktadır (Veves ve ark.,1998). Hiperglisemi protein kinaz C'nin özellikle β -izofromunun gen ekspresyonunu uyarmaktadır (Curtis ve Schofield, 2004). Bu işlem güçlü bir PKC aktivatörü olan DAG ile yapılmaktadır. Artan PKC aktivitesi sitokinlerin ve ekstraselüler matriksin üretimini arttırdığı kadar vasküler duvarın geçirgenliğine ve kontraktilitesine de zarar vermektedir. Bu etkilere NF- κ B aracılık etmekte ve inflamatuvar olaya neden olmaktadır. Hiperglisemide eNOS aktivitesinin azaldığı yerde NF- κ B indüklenebilen NOS'u uyararak vazoaktif NO'ü üretmektedir. PKC, NO ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturan süperoksit anyonunu üreten NAD(P)H oksidazı aktive etmektedir. NO'ün biyoyararlanımı azalmaktadır. Vazodilatasyonun bozulması endotel disfonksiyona yol açmaktadır. Proteinlerle

etkileşen peroksinitrit de nitrotirozini oluşturmakta ve nitrozatif stresi stimule etmektedir. Normal insanlarla karşılaştırıldığında diyabetiklerde NO'in vazodilatör etkisinin azaldığı gözlenmektedir. Bu gözlem endotel disfonkiyonun oluşmasında önemli bir neden olduğu düşünülen endotelyal konstütif nitrik oksit sentaz (ecNOS) ekspresyonundaki azalmanın saptanması ile desteklenmiştir (Veves ve ark., 1998).

Yüksek glukoz konsantrasyonu, eikozanoid yolağını ve sonuç olarak süperoksit anyonu üretimini arttırmaktadır (Beckman ve ark., 1990). Bu, endotel hücreler için önemlidir çünkü süperoksitin artması sonucu L-argininden NOS ile NO sentezlenmesi peroksinitrit radikali üretimini arttırmaktadır. NO aktivitesinin inhibisyonu vazodilatasyonu azaltmakta ve diyabetteki endotel disfonksiyonu arttırmaktadır. Artan vazokonstriksiyon yeteneği daha komplekstir. Vazokonstriktif prostanoid üretimi (tromboksan A₂, PGH₂) veya tromboksan A₂ reseptörünün süperoksit anyonu tarafından direkt stimülasyonu olduğu kadar NO yararlanımının yetersiz olması da etkilidir (Beckman ve ark., 1990). PKC aktivasyonunun neden olduğu tüm bu sonuçlar spesifik PKC inhibitörleri ve α - tokoferol tarafından inhibe edilebilir (Gabriele ve King, 2001).

Endotel hücrelerinin ve düz kas hücrelerinin yüksek konsantrasyonda glukoz ile inkübasyonu intrasellüler DAG düzeylerini arttırdığı sonrasında PKC aktivasyonuna neden olduğu (Ishii ve ark., 1998; Park ve ark., 1999) STZ – diyabetik sıçanlardan alınan damarlarda da gösterilmiştir (Inoguchi ve ark., 1992).

PKC inhibitörlerinin (Ruboksitaurin) de kardiyak ve endotel hücre disfonksiyonunu ve sistemik oksidatif stresi azalttığı diyabetik veya insülin rezistansı olan hayvan modellerinde gösterilmiştir (Sotiropoulos ve ark., 2006). Ayrıca PKC inhibitörleri, hipergliseminin neden olduğu NAD(P)H oksidaz aktivasyonunu inhibe ederek antioksidan olarak etki edebilir. Spesifik bir PKC- β inhibitörü olan ruboksitaurinin (LY 333531) oral alımı diyabetik sıçanlarda glomeruler filtrasyonun artmasına yol açmakta ve anormal retinal hemodinamikleri önlemektedir (Ishii ve ark., 1996).



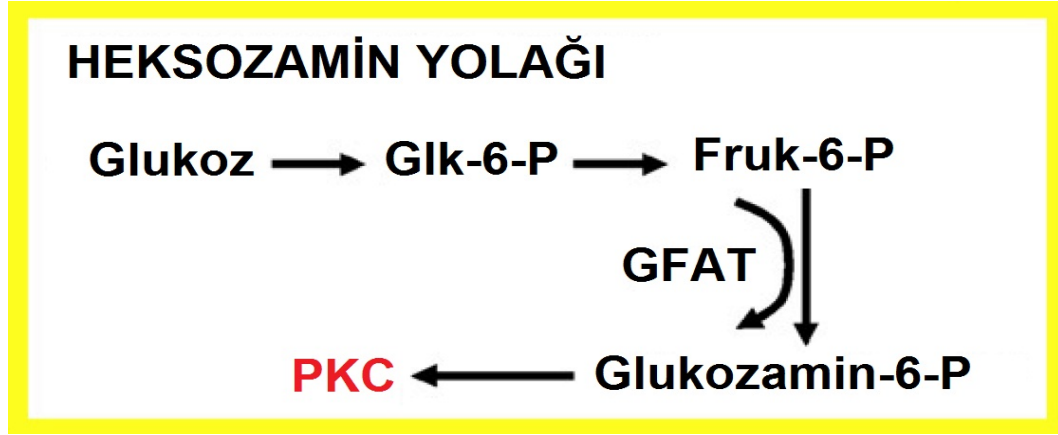
Şekil 1. 5. PKC aktivasyonu. PKC: Protein kinaz C, DAG: Diaçilgliserol, AGE: ilerlemiş glikasyon son ürünü (Gleissner ve ark., 2007).

1. 3. 7. Diyabette Heksozamin Yolağının Rolü

Fruktoz-6-fosfat glikolizin ara basamağında yer almaktadır. Ancak glukoz metabolizması sırasında bir miktar fruktoz-6-fosfat glikolitik yolak yerine heksozamin yolağında kullanılmaktadır. Bu durumda fruktoz-6-fosfat, glutamin fruktoz-6-fosfat amidotransferaz (GFAT) tarafından glukozamin-6-fosfata dönüşmektedir (Thornalley, 2005). Glukozamin-6-fosfat daha sonra transkripsiyon faktörlerinin serin ve treonin rezidülerine etki eden bir molekül olan üridin difosfat-N-asetil glukozamine (UDPGlcNAc) dönüşmektedir (Brownlee, 2001). Hiperglisemi durumu heksozamin yolağının aktivasyonuna yol açarak aşırı GlcNAc üretimine ve gen ekspresyonunun modifikasyonuna neden olmaktadır (Sayeski ve Kudlow, 1996; Kolm-Litty ve ark., 1998; Brownlee, 2001).

Hiperglisemi ve aşırı GlcNAc üretimi diyabetik komplikasyonların oluşmasında rol alan bir transkripsiyon faktörü olan spesifik protein-1 (Sp1)'in aktivasyonunun artmasına yol açmaktadır. Sp1, plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) ve transforming büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1)'in ekspresyonundan sorumludur (Du ve ark., 2000; Brownlee, 2001). PAI-1'in aşırı üretimi ateroskleroz oluşumuna neden olan vasküler düz kas hücrelerindeki mitozu arttırmaktadır (Sayeski ve Kudlow, 1996). GlcNAc, oksidatif strese yol açarak β hücrelerinin

fonksiyonunda bozulmaya, GFAT veya glukozaminin artması H_2O_2 miktarında artışa ve insülin, glukoz transportör 2 ve glukokinaz genlerinin ekspresyonunda azalmaya neden olmaktadır (Kaneto ve ark., 2001).



Şekil 1. 6. Heksozamin yolağı. Glk: glukoz, Fruk: fruktoz, GFAT: glutamine–fruktoz-6-fosfat amidotransferaz (Gleissner ve ark., 2007).

1. 4. Diyabette Vasküler Endotel Hücre Disfonksiyonu

Endotel hücreler vasküler fonksiyonu ve vasküler yapıyı ayarlamaktadır. Endotel hücreler, endotelin-1 ve tromboksan A_2 gibi vazokonstriktör maddeler veya NO, prostasiklin ve endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör (EKHF) gibi vazodilatör maddeler salgılamaktadır. Endotel bağımlı gevşemenin en önemli nedeni arterlerde NO iken daha küçük dayanıklı damarlarda ise EDHF baskındır (Moncada ve Radomski, 1988).

Endotel yapısının, vazoaktif faktörleri salgılayarak damar duvarı tonusunu, hücresel büyüme, homeostazı ve inflamasyonu ayarlamak gibi önemli fizyolojik fonksiyonları bulunmaktadır (Rubanyi, 1993). Endotel kaynaklı moleküllerin en önemlisi NO'dur (Moncada ve ark., 1991). Strese karşı bir yanıt olarak veya yüzeydeki reseptörlerin asetilkolin veya bradikinin gibi bir molekül tarafından stimülasyonu sonucu bir G protein sinyal transdüksiyon yolağı aktive edilmekte, L-arginin ve moleküler oksijenden sitrullin ve NO oluşturmak için eNOS (NOS III)

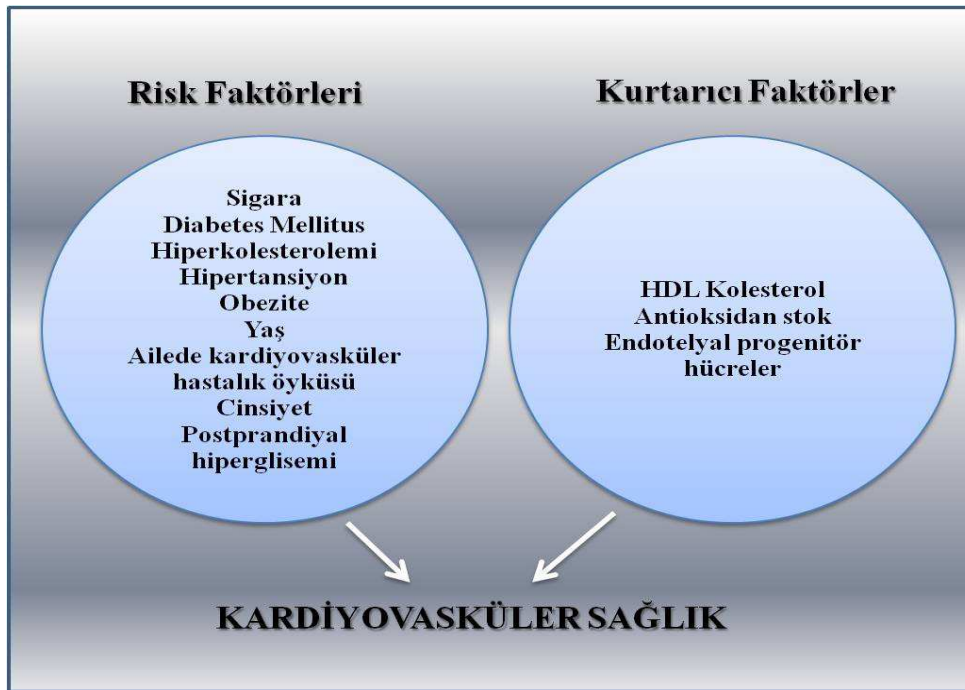
uyarılmaktadır. Daha sonra NO vazodilatör, antimitotik, antiinflamatuvar, antitrombotik ve antioksidan etki gösterdiği subendotel boşluğa ve vasküler lümene salınmaktadır. Bu etkiler fizyolojik koşullarda NO'in endojen bir antiaterojenik molekül olduğu görüşünü desteklemektedir (Cooke ve Tsao, 1994).

Endotel fonksiyon diyabette oldukça değişmiştir ve endotel kaynaklı gevşeme faktörleri (NO, prostasiklin, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör) üretimi zarar görmüştür. Hiperglisemi ve insülin yetersizliği NO'in kısmen azalmasına yol açarak endotel hücre disfonksiyonuna neden olmaktadır. (Rosen ve ark., 2001).

Klinik çalışmalarda diyabetli hastaların endotel bağımlı vazodilatasyonunda anormallik saptanmıştır (Williams ve ark., 1996). Endotelde oksidatif strese yol açan en önemli faktör süperoksit üretimindeki artıştır. Bunun başlıca iki yoldan meydana geldiği gözükmemektedir: NAD(P)H oksidaz ve çiftleşmemiş eNOS. Hiperglisemi, AGE'ler, serbest yağ asitleri ve oksitlenmiş LDL'nin endotel kaynaklı NAD(P)H oksidaz aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir (Chisolm ve Steinberg, 2000). Fazla miktarda olan süperoksitin sadece kendisi değil NO ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturması da oksidatif stresi arttırmakta (Milstien ve Katusic, 1999), tetrahidrobiopterini (BH₄) oksitlemekte böylece eNOS'ın kullanılabilirliğini azaltmaktadır (Milstien ve Katusic, 1999; Guzik ve ark., 2002). Azalmış BH₄ konsantrasyonu varlığında, eNOS çiftleşmemiş duruma gelmekte, elektronlar L-arginin yerine moleküler oksijene transfer edilerek NO yerine süperoksit oluşmaktadır. Çiftleşmemiş eNOS'un diyabetik dolaşım sistemindeki varlığı, diyabetik damarların NOS inhibitörü N^G-nitro-L-arginin metil ester ile inkübasyonunda daha az süperoksit ürettiğinin saptandığı bir çalışma ile desteklenmiştir (Guzik ve ark., 2002).

Klinik çalışmalar diyabetik hastalara verilen BH₄ desteğinin endotel bağımlı gevşeme yanıtını arttırdığını, çiftleşmemiş eNOS'un diyabetik endotel disfonksiyonda önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Vasquez-Vivar ve ark., 1998; Milstien ve Katusic, 1999; Guzik ve ark., 2002).

Yapılan araştırmalarda hiperkolesterolemi (Creager ve ark., 1990; Chowienczyk ve ark., 1992), sigara kullanımı (Celermajer ve ark., 1993), hipertansiyon (Panza ve ark., 1990), diyabet (Johnstone ve ark., 1993; Williams ve ark., 1996), erkek cinsiyet (Celermajer ve ark., 1994a), postmenopozal dönem (Lieberman ve ark., 1994), ilerlemiş yaş (Celermajer ve ark., 1994b), ailede erken koroner hastalık öyküsü (Clarkson ve ark., 1997), böbrek yetmezliği (Kari ve ark., 1997) ve hiperhomosisteinemi (Woo ve ark., 1997) gibi konvansiyonel risk faktörü taşıyan asemptomatik bireylerde görülen endotel disfonksiyonuna NO'in aktivitesinde ve/veya salgılanmasında bir bozukluğun eşlik ettiği gösterilmiştir.



Şekil 1. 7. Vasküler endotel bütünlüğünü sağlayan faktörler arasındaki denge (Avogaro ve ark., 2008)

1. 5. Keten Tohumu

1. 5. 1. Keten Tohumunun Yapısı ve Genel Özellikleri

Keten tohumu gıda için olduğu kadar endüstri için de yaygın olarak kullanılan önemli tohum yağı kaynağıdır. Keten tohumunun latince adı 'çok faydalı' anlamına gelen *Linum usitatissimum*'dur. Bu bitki 5000 yıldan fazla bir zamandır tekstil ve gıda amaçlı kullanılmaktadır (Singh ve ark., 2011).

Tüm keten tohumu, sivri ucu olan yassı ve oval şekilli, rengi sarıdan kahverengiye doğru değişen ve boyutları yaklaşık 2.5x5.0x1.5 mm olan bir bitkidir (Freeman, 1995).

Keten tohumu α -linolenik asit ve lignan açısından zengin kaynaklardan biridir. Ayrıca yüksek kalitede protein, çözünebilen lif içermekte ve oldukça fazla miktarda fenolik bileşikler içermektedir (Oomah, 2001).

Keten tohumu, % 15-18'i linoleik asit ve % 51-55'i α -linolenik asit olmak üzere ağırlığının %32-45'i kadar yağ içerir (Hettiarachchy ve ark., 1990; Oomah ve Mazza, 1993).

Keten tohumu, sekoisolarisiresinol diglukozid (SDG) adı verilen bir lignan içeren en zengin kaynaktır (Westcott ve Muir, 1998). Keten tohumu çeşitlerindeki SDG miktarı 0,6-1,8 g / 100 g arasında değişmektedir (Prasad ve ark., 1998). Keten tohumundan izole edilen keten-lignan kompleksi (KLK) ağırlıkça % 34-38 SDG, % 15-21 sinnamik asit glukosid ve % 9,6-11 hidroksimetilglutarik asit içerir (Westcott ve Paton, 2001). SDG vücutta sekoisolarisiresinol (SECO)'e, enterodiol (ED)'e ve enterolakton (EL)'a metabolize edilir (Rickard ve ark., 1996). SDG (Prasad, 1997; Prasad, 2000), SECO, ED ve EL (Prasad, 2000) ve sinnamik asit (Foti ve ark., 1996) antioksidantlardır. Hidroksimetilglutarik asit hipolipidemik bir ajandır (Lupien ve ark., 1979). Lignanlar, trombosit aktive edici faktör (PAF) antagonistidirler (Cox ve Wood, 1987).

Keten tohumu, ω -3 yağ asiti α -linolenik asit (ALA, C18:3) içeriği bakımından zengin bitki kaynaklarından biridir (Gebauer ve ark., 2006). ALA kalp hastalığına karşı önemli yararlı etkiler göstermektedir (Djousse ve ark., 2005). ALA vücutta kardiyoprotektif etkili çoklu doymamış yağ asitlerinden eikozapentaenoik asite (EPA) ve dokozaheksaenoik asite (DHA) dönüştürülür (Harper ve ark., 2006b; Barceló-Coblijn ve ark., 2008).

1. 5. 2. Keten Tohumu ve Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar

1. 5. 2. 1. Plazma Lipitleri ve Ateroskleroz Üzerine Etkileri

Diyetle alınan keten tohumunun belirli koşullar altında ateroskerozu önemli derecede önleyebildiği çeşitli hayvan modellerinde gösterilmiştir (Prasad 1997,1999, 2005; Prasad ve ark., 1998; Sano ve ark., 2003; Lucas ve ark., 2004; Dupasquier ve ark., 2006, 2007). Ancak yine de etkisi sınırlıdır (Dupasquier ve ark., 2006). Uzun süre (16 hafta) yüksek kolesterol diyet modellerinde keten tohumunun koruyucu etkisini göstermesi daha zor olmakta ve düşük dozlarda (1,25-6,25 g/gün) koruyucu etki göstermemekte veya sınırlı olmaktadır (Dupasquier ve ark., 2006; 2007).

Tüm keten tohumu (0,4 g/kg/gün), kısmen yağı çıkarılmış düşük doz ALA içeren keten tohumu (7,5g/kg/gün) veya lignan SDG (40mg/kg/gün) kullanılarak yapılan 4 ile 24 haftalık diyet tedavilerinin hepsinde total kolesterol düzeylerinde bir düşme ve aterosklerozda azalma gözlenmiştir (Prasad ve ark., 1998; Prasad, 2005; Dupasquier ve ark., 2007). Başka bir çalışmada 8 hafta %5 keten tohumu yağı içeren diyet tedavisinin plazma lipitleri ve ateroskleroz üzerinde herhangi bir etki göstermediği bulunmuştur (Lee ve Prasad, 2003).

Keten tohumunun hücresel etkilerinin antiaterojenik etkisine neden olabileceği ileri sürülmektedir. Bu etki üç mekanizmayla açıklanmaya çalışılmıştır. Birincisi keten tohumunda bulunan güçlü antioksidan etkili lignanların antiaterojenik

etkiye neden olma ihtimalidir (Prasad, 2005). İkincisi, keten tohumunun ω -3 yağ asiti içeriğinin antienflamatuar etkisi nedeniyle aterosklerozu engelleme ihtimalidir. 24 hafta süreyle günlük 0,4 g keten tohumu verilen LDLr-/- farelerin aortlarından alınan aterosklerotik dokuda vasküler hücre adhezyon molekülü-1 (VCAM-1) , mac-3, ve interlökin-6 (IL-6) gibi enflamasyon belirteçlerinin ekspresyonunun azaldığı bulunmuştur (Dupasquier ve ark., 2007). Üçüncüsü de önemli bir aterojenik oluşum olan hücre proliferasyonunu önlemesidir (Dupasquier ve ark., 2007).

Oksijen radikalleri hiperkolesteroleminin neden olduğu aterosklerozun patogeneğinde rol almaktadır (Steinberg, 1991; Prasad ve Karla, 1993; Prasad, 1999). Diyetle alınan ω -3 yağ asitleri enflamasyon belirteçlerinin ve lökotrien B₄'ün (Lee ve ark., 1985) üretimini azaltmakta, polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) parçalanmasını baskılamakta (Fisher ve ark., 1990) ve süperoksit anyonunun (O₂⁻) üretimini ve monositlerdeki kemoluminesansı (CL) (oksijen radikali salımı) azaltmaktadır (Fisher ve ark., 1986).

Tavşanlarda, yüksek kolesterol diyetinin (%1) neden olduğu aterosklerozda keten tohumunun (7,5 g/kg/gün) serum lipitleri ve PMNL'lerin oksijen radikali (OR) üretme aktivitesi üzerine etkisi Prasad (1997) tarafından araştırılmıştır. Yüksek kolesterol diyetinin serum total kolesterolü (TK) ve PMNL'lerin OR'i üretme aktivitesini (PMNL-CL) serum trigliserit (TG) değeri üzerine etki yapmadan arttırdığı ve ateroskleroz oluşturduğu bulunmuştur. Hiperkolesterollü tavşanlarda, keten tohumu ateroskleroz gelişimini % 46 oranında baskılamıştır ve bu etki PMNL'lerin baskılanması ile ilişkili bulunmuştur. Keten tohumu, serum TG'i etkilemeden serum TK'ü arttırmıştır. Normal kolesterollü tavşanlarda keten tohumu serum TK seviyelerinin artmasına ve PMNL-CL'in azalmasına neden olmuştur.

Ratnayeke ve ark. (1992) sıçanlarda % 10 keten tohumu diyetinin serum lipitlerini etkilemediğini ancak % 20 ve % 30 keten tohumu içeren diyetin plazma TK, LDL-K ve TG seviyelerini sırasıyla % 21 ve % 33; % 33,7 ve % 67; % 23 ve % 23 oranında azalttığını bulmuştur. Kritchevsky ve ark. (1991) da sıçanlarda keten

tohumu diyetinin serum TK ve LDL-K değerlerini serum TG değerlerinde değişiklik yapmadan azalttığını açıklamıştır.

Tavşanlarda hiperkolesterolemik aterosklerozun % 10 keten tohumu ile baskılanması serum TK üzerinde bir etki olmadığından serum TG seviyelerindeki azalma ile ilişkilendirilmiştir. Buna rağmen keten tohumu normal kolesterollü tavşanlarda serum TG ve TK seviyelerini değiştirmemiştir (Dupasquier ve ark., 2006).

Overektomi yapılan Golden Syrian hamsterlarında keten tohumu tüketimi (diyette % 7,5; % 15 veya % 22) doza bağımlı olarak ateroskerozu ve serum kolesterol seviyelerini azaltmaktadır (Lucas ve ark., 2004). Bu çalışmada keten tohumu diyeti yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) veya esterleşmiş kolesterol düzeylerinde bir etki göstermemiş ancak serum TG seviyesini arttırmıştır. Başka bir çalışmada streptozotosin ile diyabet yapılan Golden Syrian hamsterlarında düzenli % 15 keten tohumu desteği serum TK (% 24,9) ve TK/HDL-K oranında (% 60) belirgin bir azalma ve serum HDL-K'de (% 91) belirgin bir artma meydana getirmiştir (Haliga ve ark., 2007).

Balık yağındaki ALA'nın hiperkolesterolemik ateroskerozu baskıladığı bildirilmiştir (Davis ve ark., 1987). Keten tohumunun antiaterojenik etkisinden içeriğindeki ALA sorumluya, ALA içermeyen keten tohumunun antiaterojenik etkisinin olmaması gerekmektedir. Bunu araştırmak için Prasad ve ark. (1998) keten tohumu ile benzer yağ içeriği (toplam kütesinin % 35'i) ve SDG içeriği olan fakat sadece % 2 ile % 3 ALA içeren CDC-keten tohumu kullanmıştır. Hiperkolesterollü sıçanlarda 7,5 g/kg/gün dozunda 8 hafta boyunca verilen CDC-keten tohumu serum TK seviyelerini % 14, LDL-K'ü % 17 ve TK/HDL-K oranını % 28 azaltmış; serum TG ve çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (VLDL-K) seviyelerini arttırmış ve HDL-K üzerinde bir etki göstermemiştir. Bu bileşimdeki keten tohumu ateroskleroz gelişimini % 69 oranında baskılamıştır. Normal kolesterollü tavşanlarda serum lipit seviyeleri üzerinde bir etkisi bulunmamıştır. Bu sonuçlar keten tohumunun antiaterojenik etkisinin ALA içeriğinden olmadığını göstermektedir. Yine bir başka

çalışmada keten tohumu yağı, keten tohumunun antiaterojenik etkisinde ALA'nın rolünü belirlemek için kullanılmıştır (Lee ve Prasad, 2003). Araştırmacılar diyetle % 5 keten tohumu yağının (günlük 7,5 g/kg keten tohumuna eşit) hiperkolesterolemik aterosklerozun gelişmesini önlemediğini ve serum TK, LDL-K, HDL-K, TG ve TK/HDL-K oranını etkilemediğini bulmuşlardır. Normal kolesterollü tavşanlarda da keten tohumu yağı serum lipitlerini etkilememektedir. Hiperkolesterollü sıçanlarla yapılan bir çalışmada ise keten tohumu yağı serum TG seviyelerini azaltmamıştır (Ranhotra ve ark., 1993). Ancak başka bir çalışmada ise keten tohumundan izole edilen ALA (20g/kg) ile 6 hafta boyunca Golden Syrian hamsterların beslenmesi sonucu serum kolesterol seviyelerinin % 17 ile % 21 oranında azaldığı gösterilmiştir (Yang ve ark., 2005).

40 mg/kg/gün dozda 8 hafta boyunca keten lignan kompleksi (KLK) verilen tavşanlar hiperkolesterolemik ateroskleroz gelişimi % 34,37 oranında baskılanmaktadır ve bu etkisi serum TK'ü % 20, LDL-K'ü % 14; TK/HDL-K oranını % 34, serum MDA seviyesini % 35 ve aort MDA'i % 58 oranında azaltması ve HDL-K'i % 30 arttırması ile ilişkilendirilmiştir (Prasad, 2005). Normal kolesterollü tavşanlarda, KLK'inin serum TG, TK, LDL-K ve MDA seviyeleri üzerine etkisinin olmadığı ancak aort MDA düzeyini % 133 ve HDL-K'ü % 25 oranında arttırdığı bulunmuştur.

Prasad (2009), KLK'nin önceden gelişmiş olan hiperkolesterolemik aterosklerozun ilerlemesini yavaşlatma etkisini araştırmıştır. KLK'inin ateroskleroz ilerlemesini % 31 oranında yavaşlattığı bulunmuştur. Bu etki aortik CL'daki % 43 ve aort MDA düzeyindeki % 42 oranındaki düşüş ile ilişkilendirilmiştir (Aortik CL'daki artış antioksidan rezervin azalmasına neden olmaktadır). Aterosklerozun yavaşlaması lökositlerin oksijen radikali üretme aktivitesindeki değişiklik veya serum lipitlerindeki değişiklik ile ilişkili bulunmamıştır.

Prasad (2007) tarafından yapılan bir başka çalışmada KLK'nin önceden hiperkolesterolemik ateroskleroz gelişmiş tavşanlarda aterosklerozun gerilemesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. KLK'i aterosklerozun hızlanmasını önlemede % 32

oranında etkili olmasına rağmen normal diyet yerine yüksek kolesterolü diyet eklendiğinde zaten oluşmuş olan aterosklerozun gerilemesinde etkili olmadığını bulmuştur. KKK'nin aterosklerozun gerilemesindeki etkisizliği aortik-CL, aortik MDA, WBC-CL veya serum MDA seviyeleri üzerinde bir değişiklik oluşturmamasına bağlanmıştır. Buna rağmen aterosklerozun hızlanmasının önlenmesi KKK'nin aortik MDA seviyelerini azaltması ile ilişkilendirilmiştir. Bu sonuçlar KKK'nin zaten gelişmiş olan aterosklerozu geriletmediğini göstermektedir.

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, SDG'nin iç organlarda ve karaciğerde yüksek yağ diyetinin neden olduğu yağlanmayı, hiperlipidemi, hiperkolesterolemi, hiperinsülinemi ve hiperleptinemi belirgin olarak azalttığı bulunmuştur (Fukumitsu ve ark., 2008).

Prasad (1999), normal ve hiperkolesterolü tavşanlarda SDG'nin serum lipitleri, oksidatif stres ve ateroskleroz gelişimi üzerine etkilerini araştırmıştır. 8 hafta boyunca 15 mg/kg/gün verilen SDG, hiperkolesterolü tavşanlarda (% 1 kolesterol diyeti) TK'ü % 33, LDL-K'ü % 35, TK/LDL-K oranını % 64 azaltmıştır. Hiperkolesterolü tavşanlarda SDG başlangıçta (ilk 4 hafta) serum HDL-K düzeylerini % 140'tan fazla arttırmıştır ama 8 haftada değişiklik olmamıştır. Hiperkolesterolü tavşanlara verilen SDG sonucu TG'in serum düzeyi değişmemiş ancak VLDL-K düzeyleri azalmıştır. SDG verilen hiperkolesterolü tavşanlar, SDG verilmeyenlerle karşılaştırıldığında aort MDA düzeylerinin daha düşük ve antioksidan stoklarının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Normal kolesterolü tavşanlarda TK, LDL-K, HDL-K, aort MDA üzerine SDG'nin etkisinin olmadığı ancak TG ve VLDL-K'ün serum düzeylerini azalttığı görülmüştür. Bu çalışmada SDG, hiperkolesterolemik aterosklerozun gelişmesini % 73 oranında baskılamıştır. Bu sonuçlar bize SDG'nin antiaterojenik etkisinin serum lipitlerini azaltması ve antioksidan aktivitesi sonucu olabileceğini göstermektedir. Başka bir çalışmada fazla yağlı diyetle beslenen farelere % 1 SDG diyeti serum TG ve TK düzeylerini sırasıyla % 38 ve % 15 oranında azaltmıştır (Fukumitsu ve ark., 2008). Hiperkolesterolü sıçanlarda 8 hafta boyunca verilen 20 mg/kg/gün SDG, serum TK, TG ve LDL-K

seviyelerini sırasıyla % 33, % 39 ve % 45 azaltmıştır ve HDL-K'ü de % 22 yükseltmiştir (Penumathsa ve ark.,2008).

Prasad (2008) tarafından tavşanlarda, 20 mg/kg/gün olarak verilen SDG'nin hiperkolesterolemiyle oluşan ateroskleroza geriletme etkisi araştırılmıştır. 2 aylık normal diyetten sonra 2 ay uygulanan yüksek kolesterolü diyet ateroskleroza % 49 oranında hızlandırmış ve bu ilerleme 2 veya 4 aylık SDG tedavisi ile önlenmiştir. Aterosklerozun ilerlemesinin önlenmesi aorttaki oksidatif stresin azalması ile ilişkilendirilmiştir. 2 aylık SDG tedavisi ateroskleroza geriletmemiş ancak 4 aylık tedavi % 17,5 oranında bir gerileme meydana getirmiştir.

1. 5. 2. 2. Antioksidan Aktivite Üzerine Etkisi

Keten tohumu ile tedavi edilen sıçanların kalp, karaciğer ve aort dokularında lipit peroksidasyonu artmıştır ve bu etki azalan SOD ile ilişkilendirilmiştir (L'Abbé ve ark., 1991). Başka bir çalışmada ise in vivo ve in vitro olarak verilen keten tohumu yağının, maymunların karaciğerindeki CAT ve SOD aktivitesini etkilemediği bulunmuştur (Kaasgaard ve ark., 1992).

Prasad (1999), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanarak ultraviyole ışığı ile salisilik asit varlığında hidrojen peroksitin (H_2O_2) fotolizi sonucu oluşan hidroksil radikalini ($\cdot OH$) SDG'nin yakaladığını ve bu etkinin konsantrasyona bağlı olduğunu göstermiştir. Yine konsantrasyona bağlı olarak SDG'nin karaciğer homojenatında hidroksil radikalinin neden olduğu lipit peroksidasyonunu önlediğini açıklamıştır (Prasad, 1997). Prasad (2000), PMNL-CL'ı azaltabilecek özellikte olan SDG ve metabolitleri SECO, EL ve ED'un antioksidan aktivitesini ölçmüştür. Aktive edilmiş PMNL'ler O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$ ve singlet oksijeni (O_2) üretmektedir. SDG ve metabolitleri PMNL'lerdeki oksijen radikali üretiminde konsantrasyon bağımlı azalmalara neden olmaktadır. SDG, SECO, EL ve ED'nin antioksidan potansiyelleri vitamin E ile karşılaştırıldığında sırasıyla 1,27 ; 4,86 ; 4,45 ve 5,02 olduğu bulunmuştur. SECO, EL ve ED'nin antioksidan etkisi SDG'den sırasıyla 3,82 ; 3,95 ;

3,43 kez daha etkilidir. Hiperkolesterollü tavşanlarda 2 ay diyetle verilen % 5 keten tohumu yağı serum veya aort MDA düzeyi ve aortanın antioksidan kapasitesi üzerinde bir etki göstermemiş, ancak lökositlerin oksijen radikali (OR) üretimini azaltmıştır (Lee ve Prasad 2003). Buna rağmen normal diyetle beslenen tavşanlarda keten tohumu yağı ile yapılan tedavi aort MDA miktarını yükseltmiş ve aorttaki antioksidan kapasite azalmıştır (Lee ve Prasad, 2003). Ancak Ramaprasad ve ark. (2005) keten tohumu yağındaki ω -3 yağ asitlerinin, antioksidan enzim olan CAT ve GPx aktivitesini sıçanlarda arttırdığını göstermiştir.

1. 5. 2. 3. Hematopoetik Sistem Üzerine Etkileri

Tavşanlardaki bir çalışma keten tohumu yağının trombin ve fibrinojenin neden olduğu trombosit agregasyonunu önlediğini göstermiştir (Vas Dias ve ark., 1982). Prasad (2005) normal ve hiperkolesterolemili tavşanlarda 40mg/kg/gün olarak 2 ay boyunca oral olarak verilen keten lignan kompleksinin hemopoetik sistem üzerine etkilerini araştırmıştır. KLK'nin kırmızı kan hücrelerinin, beyaz kan hücrelerinin, granülositler, lenfositler, monositlerin miktarı üzerinde normal ve hiperkolesterollü tavşanlarda bir etkisi bulunmamıştır. KLK tedavisi ile ortalama korpüsküler hacim, kırmızı hücre dağılımının genişliği, hematokrit, hemoglobün ve trombosit miktarı normal ve hiperkolesterollü tavşanlarda değişmeden kalmıştır. Bu sonuçlar kısa süre KLK kullanımının hematopoetik sistem üzerinde ters bir etkisinin bulunmadığını göstermektedir.

1. 5. 2. 4. İskemi-Reperfüzyon, Miyokard Hasarı ve Aritmiler Üzerine Etkisi

Kolesterolle beslenen ve 16 hafta boyunca % 10 keten tohumu desteği alan tavşanlardan alınan kalplerde iskemi sırasında normalde gözlenen ventriküler fibrilasyon (VF) insidensi tamamen baskılanmakta ve reperfüzyon sırasındaki VF insidensi de belirgin olarak azalmaktadır (Ander ve ark., 2004). Keten tohumu bu

koruyucu etkisini QT aralığını ve kalp atışlarının aksiyon potansiyeli süresini azaltarak sağlamaktadır (Ander ve ark., 2004).

Penumathsa ve ark. (2007) ex vivo iskemi/reperfüzyon modelinde SDG (20 mg/kg/gün, 2 hafta) verilen sıçanların kalplerinde miyokard infarkt büyüklüğü % 32 oranında azalmıştır ve kardiyomiyositlerin apoptozunda da azalma meydana gelmiştir. SDG, vasküler entodelyal büyüme faktörü (VEGF), angiopoietin-1 ve fosforillenmiş eNOS'un protein ekspresyonunu arttırmıştır. Bu modelde kapiler yoğunluk ve miyokardiyal fonksiyon da artmıştır. Ayrıca SDG'nin insan koroner arteriyal endotel hücrelerinde tübüler morfogenezisi artırdığı rapor edilmiştir. Sonuçlar SDG'nin etkili bir anjiyogenik ve antiapoptik ajan olduğunu ve iskemik kalp hastalığında kardiyoprotektif bir rolü olabileceğini göstermiştir.

Hiperkolesterollü sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada Penumathsa ve ark. (2008) SDG tedavisinin (20 mg/kg/gün, 2 hafta) iskemi-reperfüzyon sırasında miyokard infarkt büyüklüğünü % 20 oranında azalttığını ve sol ventrikül fonksiyonunu ilerlettiğini bulmuştur. SDG ile tedavi edilen sıçanlar kapiler (1901'e karşı 2531) ve arteriyal yoğunlukta (1,8'e karşı 2,6) artış göstermiştir. SDG ile olan değişikliklerin artmış VEGF, p-eNOS ve hem oksijenaz-1 ekspresyonu ile ilişkili olduğu açıklanmıştır.

1. 5. 2. 5. Kan Basıncı Üzerine Etkisi

Prasad (2004), anestezi edilmiş sıçanlarda SDG'nin değişik dozlarının (3, 5, 10, 15 ve 20 mg/kg IV) kan basınçları üzerine etkisini araştırmıştır. 3, 5 ve 10 mg/kg dozlarında verilen SDG; sistolik, diastolik ve ortalama kan basıncında doza bağımlı bir azalma meydana getirmiştir. 15 ve 20 mg/kg SDG, 10 mg/kg doza benzer bir etki oluşturmuştur. En yüksek etki SDG alımından 15 ile 20 dakika sonra meydana gelmiştir. Arteriyal kan basınçları 15 ile 20 dakika sonra iyileşmeye başlamış ama 4 saatin sonunda 3, 5, 10, 15 ve 20 mg SDG verildiğinde ortalama kan basıncındaki azalma yüzdeleri sırasıyla 11, 21, 33, 22 ve 29 olmuştur. N^G-monometil-L-arginin

(nitrik oksit sentaz inhibitörü) varlığı kan basıncındaki SDG bağımlı azalmayı önlememiştir. Guanilat siklazın nonspesifik inhibitörü metilen mavisi ve guanilat siklazın spesifik inhibitörü oksadiazol kinoksalin, SDG'nin neden olduğu kan basıncındaki azalmayı tamamen önlemiştir. Bu sonuçlar SDG'nin uzun etkili bir hipotansif ajan olduğunu ve bu hipotansif etkinin guanilat siklaz enzimi aracılığıyla olduğunu göstermiştir.

1. 5. 2. 6. Vasküler fonksiyonlar üzerine etkisi

% 10 ile 20 keten tohumu içeren bir diyet tedavisinin 10 ile 24 hafta sonra, kolesterolle beslenmenin veya hipertansif koşulların neden olduğu endotel bağımlı gevşeme kaybına karşı koruyucu olduğu bulunmuştur (Talom ve ark., 1999; Dupasquier ve ark., 2006).

1. 5. 3. Keten Tohumu ve Klinik Çalışmalar

1. 5. 3. 1. Ateroskleroz ve Serum Lipitleri Üzerine Etkisi

Hiperlipidemik bireylerde 3 ay boyunca günde 15 g keten tohumu tüketiminin serum TK ve LDL-K seviyelerinde sırasıyla 18 mg/dl ve 19 mg/dl azalma yaptığı bulunmuştur (Bierenbaum ve ark., 1993). Bu çalışmada serum HDL-K'ün seviyesi değişmemiştir. Başka iki çalışmada, sağlıklı bireylerde aynı dozlarda (50 g/gün) ve sürede (4 hafta) keten tohumu tüketimi serum lipitlerinde farklı etkiler göstermiştir (Cunnane ve ark., 1993; Cunnane ve ark., 1995). İlk çalışmada 4 hafta boyunca günde 50 g keten tohumu tüketimi TK'ü ve LDL-K'ü sırasıyla % 9 ve % 18 oranında azaltmıştır (Cunnane ve ark., 1993). İkinci çalışmada 4 hafta boyunca günde 50 g tüketilen keten tohumu plazma TK ve LDL-K seviyesinde sırasıyla % 6 ve % 9 oranında azalma meydana getirmiştir (Cunnane ve ark., 1995). 4 hafta süreyle 30 g/gün tüketilen keten tohumu da serum TK ve LDL-K'ü sırasıyla % 11 ve % 12 oranında azaltmıştır (Clark ve ark., 1995). Keten tohumunun daha yüksek dozlarının

daha düşük dozlarına göre TK ve LDL-K seviyelerinde daha az düşüş meydana getirdiği belirlenmiştir. 2 ay boyunca günde 20g keten tohumu tüketimi yapan hiperlipidemik bireylerde serum TK % 17,2; LDL-K % 3,9; TG % 36,3 ve TK/HDL-K oranında % 33,5'lik bir azalma meydana gelmiştir (Mandaşescu ve ark., 2005). Ancak bir yıl boyunca daha yüksek dozda (40 g/gün) keten tohumu kullanan hafif hiperkolesterollü hastaların plazma lipitleri üzerinde bir etkisi olmamıştır (Dodin ve ark., 2008). 4 hafta boyunca günlük 32,7 g keten tohumu tüketen 22 ile 47 yaşları arasındaki 15 sağlıklı erkeğin serum TK, LDL-K, HDL-K ve VLDL-K seviyeleri değişmemiş ancak serum TG düzeyi artmıştır (Stuglin ve Prasad, 2005). Bu çalışmada serum total bilirubin, aspartat aminotransferaz, alkalın fosfataz, protein, albumin, glukoz ve üre seviyeleri değişmemiş, ancak kreatinin serum düzeyi azalmış, hemoglobin seviyesi ve nötrofillerin, lökositlerin, kırmızı kan hücrelerinin sayısında bir değişiklik meydana gelmemiştir.

Rastgele seçilen postmenopozal kadınlarda ve erkeklerde 10 hafta boyunca günlük 40 g olarak verilen keten tohumu, LDL-K'ü 5 haftada % 13 oranında ve 10 haftada % 7 oranında, HDL-K'ü de 5. ve 10. haftalarda sırasıyla % 16 ve % 9 azaltmıştır (Bloedon ve ark., 2008).

Yükselmiş plazma lipoprotein a konsantrasyonu kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar, ateroskleroz, tromboz oluşumu ve inme için bir risk faktörüdür (Wilde, 2003). Günlük 38-40 g 12 hafta boyunca alınan keten tohumu, aterojenik lipoprotein olan lipoprotein a, apolipoprotein A-1 ve B'yi azaltmaktadır (Arjmandi ve ark., 1998; Lucas ve ark., 2002; Bloedon ve ark., 2008). Ancak sonuçlar her zaman tutarlı olmamaktadır. 12 ay boyunca sağlıklı menopoza girmiş bayanlara verilen günlük 40 g keten tohumu veya plasebo olarak verilen buğday tohumunun ikisi de apolipoprotein A-1'i, B'yi ve lipoprotein a'yı arttırmış, LDL kolesterolün partikül büyüklüğünü azaltmıştır (Dodin ve ark., 2008). Bazı çalışmalarda günlük 30g alınan keten tohumunun hafif hiperkolesterollü Yerli Amerikalı postmenopozal kadınlarda HDL-K'de veya TG konsantrasyonlarında bir değişiklik yapmadan TK'ü % 7 ve LDL-K'ü % 10 oranında azalttığı bulunmuştur (Patade ve ark., 2008). Jenkins ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre (1999),

hiperlipidemisi olan bireylere 3 hafta süreyle günlük 50 g ALA bakımından fakir ancak lif ve lignan bakımından zengin yağı çıkarılmış keten tohumu yemeği verildiğinde TK seviyeleri % 4,6 ve LDL-K % 7,6 oranında azalmaktadır.

4-12 hafta boyunca günlük 2-20 g keten tohumu yağı kullanılarak yapılan çalışmalarda TG, TK, LDL-K veya HDL-K'de herhangi bir olumlu etki bulunmamasına rağmen plazma ω -3 çoklu doymamış yağ asitlerinde yükselme tespit edilmiştir (Nestel ve ark., 1997; Kaul ve ark., 2008). İki çalışmada ise 4-26 haftalık keten tohumu yağı (5,2-20 g/gün) tedavisinin dolaşımdaki TK'ü % 8,3 arttırarak ve HDL-K'ü % 8,3 azaltarak yarardan çok zararlı bir etki meydana getirdiği rapor edilmiştir (Nestel ve ark., 1997; Harper ve ark., 2006a). Aterojenik lipoprotein fenotip ekspresyonu olan erkeklerde keten tohumu yağı plazma TG (% 23), TK (% 12) ve HDL-K (% 10) seviyelerini azaltmıştır (Wilkinson ve ark., 2005). Diğer araştırmacılar hiperlipidemik hastalarda serum TK, TG, LDL-K ve HDL-K seviyelerinde herhangi bir değişiklik saptamamışlardır (Kestin ve ark., 1990; Singer ve ark., 1990).

Sağlıklı bireylerde de keten tohumu yağı ile serum TK, TG, LDL-K ve HDL-K düzeylerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Freese ve Mutanen, 1997; Sanders ve Roshanai, 1983). Paschos ve ark. (2007) keten tohumu yağı ile serum HDL-K seviyesinde küçük bir azalma (% 4,3) gözlemlemiş ancak TG, TK ve LDL-K düzeylerinde herhangi bir değişiklik bulmamıştır. Kelley ve ark. (1993) 56 gün boyunca verilen keten tohumu yağının serum TG, TK, HDL-K veya LDL-K seviyelerini belirgin olarak değiştirmediğini bulmuşlardır. Sağlıklı bireylerde 4 hafta süreyle keten tohumu yağı (ALA bakımından zengin, 30 ml/gün) veya kenevir tohumu yağı (LA bakımından zengin, 30 ml/gün) ile yapılan çalışmada serum TK veya LDL-K seviyeleri değişmemiştir (Kaul ve ark., 2008; Schwab ve ark., 2006). Patenaude ve ark (2009)'larının yaptıkları çalışmalara göre genç bireylerin keten tohumu (6 g ALA/gün) alımı sonrasında kan TG konsantrasyonlarında bir düşüş oluşmakta ancak daha yaşlılarda böyle bir etki meydana gelmemektedir.

4440 kişiyi içeren, NHLBI Family Heart çalışması diyetle alınan ALA'nın düşük plazma TG konsantrasyonlarıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Djoussé ve ark., 2003). Zhao ve ark. (2004) günlük 17,5 g ALA alan hastaların 6 hafta sonra kan TG seviyelerinde % 18 oranında azalma bulmuşlardır. Ancak çalışmaların sonuçları tutarlı değildir. Keten tohumu diyeti sonucu TG seviyelerinde artma (Cunnane ve ark., 1995), azalma (Djoussé ve ark., 2005; Singer ve ark., 1986) veya değişmeme (Rallidis ve ark., 2003; Takeuch ve ark., 2007) bildirilmiştir.

Bir çalışmada 18 erkek ve 20 kadın hiperkolesterollü bireye 8 hafta boyunca 300 mg veya 600 mg KLK'i verilmiştir (Zhang ve ark., 2008). 300 mg dozda verilen KLK'i TK'ü % 15,47 ve LDL-K'ü % 17,04 oranında azaltmış; 600 mg KLK'i ise TK'ü % 24,2 ve LDL-K'ü % 22 azaltmıştır. HDL-K seviyeleri 600 mg KLK'i ile hafifçe azalmıştır. TK/HDL-K oranı 600 mg dozda azalmış ancak 300 mg'lık dozda azalma gözlenmemiştir. Hallund ve ark. (2006) rastgele seçilen, çift körlü, plasebo kontrollü sağlıklı postmenopozal bayanlarla yaptığı çalışmada 6 hafta boyunca günlük 500 mg verilen SDG'nin serum TK, TG, LDL-K ve HDL-K seviyeleri üzerine bir etki göstermediğini belirlemiştir.

Bu sonuçlara göre hipolipidemik etki keten tohumundaki lignan ve/veya lif içeriğinden meydana gelmiş gibi gözükmektedir. İnsanlarda keten tohumu yağındaki ALA'nın hipolipidemik etkisinin olduğu şüphelidir.

1. 5. 3. 2. Hemostatik Etkisi

Clark ve ark. (1995) 12 hafta boyunca günlük 15-45 g keten tohumunun lupus nefriti hastalarında trombosit agregasyonu için gerekli olan PAF miktarını arttırdığını bulmuşlardır. Allman ve arkadaşları (1995) da sağlıklı genç erkeklerde 23 gün boyunca günde 40 g alınan keten tohumu yağının trombositlerdeki EPA/araşidonik asit oranını arttırdığını (tromboksan üretimi ve potansiyel trombosit agregasyonu için bir belirteç olduğu düşünülmekte), kollajenin neden olduğu agregasyon cevabına karşı koruyucu olduğunu göstermiştir. Buna rağmen başka çalışmalarda 12 hafta ile

12 ay gibi farklı tedavi süreleri sonrasında trombosit agregasyonuna karşı koruyuculuk sağladığına ilişkin bir bulgu bulunmamıştır (Austria ve ark., 2008; Dodin ve ark., 2008; Kaul ve ark., 2008).

1. 5. 3. 3. Antienflamatuar Etkisi

C-reaktif proteinin (CRP) artmış bazal seviyeleri hastaların diyabet, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riskini artırmaktadır (Panagiotakos ve ark., 2008). CRP, serum amyloid A (SAA), IL-6 ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) gibi çeşitli enflamasyon belirteçlerinin ve enflamatuar sitokinlerin sistemik veya lokal üretim ile artması ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar ile pozitif ilişki göstermektedir (Young ve ark., 2002; Ross, 1993). Vasküler enflamasyonun önlenmesi kardiyovasküler hastalık riskinde bir azalma meydana getirebilir. Bir çalışmada plazma kolesterol fraksiyonundaki ALA seviyeleri ile CRP konsantrasyonu arasında negatif korelasyon olduğu bulunmuştur (Klein-Platav ve ark., 2005). 0,3 mg/dl veya daha yüksek CRP düzeyleri akut koroner sendromlu hastalarda yüksek ölüm riski ile ilişkili bulunmuştur (Liuzzo ve ark., 1994). Faintuch ve ark. (2007) günde 30 g keten tohumu unu tüketen obez bireylerde sadece 2 haftalık tedavi sonrası CRP'de % 23, serum amyloid A'da (SAA) % 18 ve fibronektinde % 11 düzeyinde bir azalma meydana geldiğini bulmuşlardır.

İnsanlarda günlük 9,5 g ALA alımı nötrofil, monosit ve lenfositlerin fonksiyonel aktivitesini değiştirmemektedir (Kew ve ark., 2003). 12 hafta boyunca günde 2 g ALA kullanımı TNF- α , IL-1 β , IL-6 veya soluble intrasellüler adezyon molekülü-1'in (sICAM-1) üretimini etkilememekte ama sVCAM-1 azaltmaktadır (Thies ve ark., 2001). 12 hafta boyunca günde 3,5 g ALA tüketen bireylerde TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10 veya interferon- γ üretiminde herhangi bir değişiklik meydana gelmemiştir (Wallace ve ark., 2003). İnsanlarda günlük 2 g kullanılan ALA, IL-2 veya interferon- γ 'yı etkilememiştir (Thies ve ark., 2001). Buna rağmen günlük 12 g veya daha yüksek dozlarda alınan ALA sitokinlerin düzeyini baskılamıştır. İnsanlarda 4 hafta boyunca 14 g alınan ALA, mononükleer hücreler

tarafından yapılan TNF- α ve IL-1 β üretimini belirgin olarak azaltmıştır (Caughey ve ark., 1996). ALA bakımından zengin diyetin hiperkolesterollü erkek ve kadınlardan alınan kan örneklerinde CRP seviyelerini % 75 oranında azalttığı bulunmuştur (Zhao ve ark., 2004).

Sağlıklı insanlarda 12 hafta boyunca 15 ml alınan keten tohumu yağı IL-6, CRP, SAA düzeyini azaltmaktadır (Paschos ve ark., 2005). 8 haftalık tedavi sonucu sağlıklı abdominal obez yetişkin erkek ve kadınlarda, keten tohumu yağı CRP, SAA, IL-6 ve TNF- α 'yı değiştirmemiştir (Nelson ve ark., 2007). Buna rağmen Zhao ve ark. (2004), 6 haftalık tedavi sonrası keten tohumu yağının CRP'yi azalttığını bulmuşlardır.

Dislipidemik erkeklerde keten tohumu yağının CRP, SAA ve IL-6'yı azalttığı bildirilmiştir (Bemelmans ve ark., 2004; Rallidis ve ark., 2003). Günlük 8,1 g alınan ALA; SAA, CRP ve IL-6'yı azaltmaktadır (Paschos ve ark., 2004).

Sağlıklı postmenopozal 22 kadına 6 hafta boyunca günde 500 mg verilen SDG içeren KLK'nin CRP, IL-6, TNF- α , sICAM, sVCAM-1 ve monosit kemoatraktan protein-1 üzerindeki etkisi Hallund ve arkadaşları (2008) tarafından araştırılmıştır. KLK'i plazma CRP konsantrasyonunu önemli derecede azaltmış ancak IL-6, TNF- α , sICAM-1, sVCAM-1 veya monosit kemoatraktan protein-1'e herhangi bir etkisi olmamıştır. Bu sonuçların tersine Dodin ve arkadaşları (2008), 12 ay boyunca günlük 40 g keten tohumu tüketiminin benzer popülasyonda CRP seviyelerinde bir değişiklik meydana getirmediğini rapor etmiştir.

1. 5. 3. 4. Kan Basıncı Üzerine Etkisi

Sağlıklı postmenopozal kadınlarda 12 ay süresince günde 40 g alınan keten tohumu sistolik ve diastolik kan basıncının ikisinde de anlamlı bir azalma meydana getirmiştir (Dodin ve ark., 2005). Sağlıklı erkeklerde adipoz doku ALA seviyesindeki % 1'lik bir artış sistolik, diastolik ve ortalama arteriyel basınçta 5 mm

Hg'lık bir azalma meydana getirmektedir (Berry ve Hirsch, 1986). Ancak başka bir çalışmada 6 hafta boyunca günlük 9,2 g ALA içeren keten tohumu yağı arteryal basıncı etkilememesine rağmen, balık yağı (3,4 g/gün eikozapentaenoik asit ve dokozahekzaenoik asit) sistolik arteryal basıncı 5 mm Hg azalttığı bulunmuştur (Kestin ve ark., 1990). Benzer şekilde Nestel ve arkadaşları da (1997) keten tohumu yağının (20 g/gün ALA) arteryal basınç üzerinde etkisi olmadığını göstermiştir.

Diyabette hem metabolik parametreler hem de vasküler kasılma yanıtlarına keten tohumunun etkisini araştıran çalışmalara pek rastlanmamıştır. Bu yüzden araştırmamızda diyabetik dişi sıçanlarda 12 hafta uygulanacak keten tohumu tedavisinin kan glukoz, serum yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol, insülin, karaciğer enzim düzeyleri, kan basınçları ve vasküler kasılma yanıtları üzerine etkisi incelenerek uzun süreli keten tohumu tedavisinin diyabette gözlenen kardiyovasküler bozukluklar üzerindeki etkisinin genel olarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2. 1. Gereçler

2. 1. 1. Deneysel Araç ve Gereçler

- Bilgisayar kontrollü üniversal data kaydedici (Commat Ltd)
- İzometrik “transduser” (Force Displacement; Commat Ltd)
- 10 ml hacimli, çift duvarlı, izole organ banyosu
- % 95 O₂ ve % 5 CO₂ gaz karışımı içeren tüpler
- Duyarlı terazi (Mettler H 10)
- Üstten kefeli terazi
- Vorteks
- Manyetik karıştırıcılar
- Santrifüj aleti (Sorvall, SS-3 Auto)
- Şeker ölçüm cihazı (Accu-check Go)
- Şeker ölçüm stripi (Accu-check Go)
- GPT, GOT ölçüm stripleri (Reflotron-Roche)
- GPT, GOT ölçme aleti (Reflotron-Roche)
- Dynex DSX tam otomatik ELISA analizörü
- DRG kit
- Olympus AU 2700 otoanalizörü
- Beckman Coulter kit
- Cerrahi makaslar ve pensler
- Kurutma kağıtları ve gazlı bez
- Polietilen enjektör (5 ml)
- Tüberkülin enjektörü (1 ml)
- Çeşitli hacimdeki otomatik mikropipetler (P5, P10, P20, P200, P1000)
- Eppendorf tüpleri
- Pipet uçları
- K₃EDTA’lı kan tüpleri
- Kronometre

- Çeşitli cam malzemeler
- Tansiyon aleti (Commat)

2. 1. 2. Kullanılan kimyasal maddeler

- Streptozotosin (SIGMA)
- L- Fenilefrin hidroklorür (FE) (SIGMA)
- İndometazin (SIGMA)
- L-Nitro arjinin metil ester (L-NAME) (SIGMA)
- Süperoksit dismutaz (SOD) (TOCRIS)
- Eter (SIGMA)
- Dimetilsülfoksit (DMSO) (MERCK)
- Karboksi metil selüloz (CMC) (MERCK)
- Keten tohumu (Damiana; Flax-Linumus[®])
- Standart Krebs çözeltisi:

NaCl	118,0 mM/L
KCl	4,7 mM/L
NaH ₂ PO ₄	1,2 mM/L
NaHCO ₃	25,0 mM/L
MgSO ₄ . 7H ₂ O	1,2 mM/L
Glukoz	11,2 mM/L
CaCl ₂	2,5 mM/L

Deney sırasında kullanılan indometazin, dimetilsülfoksitte (DMSO), diğer kimyasal maddeler distile suda çözülerek stok çözeltileri hazırlanmıştır.

2. 2. Yöntemler

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deneş Hayvanları Yetiştirme Ünitesinden alınan dişi sıçanlar (Wistar) kafeslere yerleştirilmiştir. Bunlardan yaklaşık 200 g ağırlığında olanlar deney gruplarını oluşturmak üzere alınmıştır. Bu çalışma Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 27/07/2011 tarihli ve 2011-116-445 nolu kararı ile yapılmıştır.

2. 2. 1. Diyabet Oluşturulması

Sıçanlara sitrat tamponunda (pH= 4,5) çözülmüş 40 mg/kg dozda STZ intraperitoneal olarak verilmiş, STZ enjeksiyonundan 1 hafta sonra sıçanların kuyruk veninden alınan kan örneklerinden kan glukoz düzeyleri glukometre kullanılarak ölçülmüştür. Kan glukoz düzeyleri 250 mg/dl üzerinde olanlar diyabetik kabul edilmiştir.

2. 2. 2. Deneş Grupları

Deneş için hayvanlar dört gruba ayrılmıştır:

- Kontrol grup (K; n=7)
- Keten tohumu tedavili grup (KT; n=7)
- Diyabetik grup (D; n=9)
- Keten tohumu tedavili diyabetik grup (DT; n=9)

Yem yada su kısıtlaması olmaksızın 3 ay boyunca keten tohumu oral yoldan 0,714 g/kg olarak verilmiştir. Tedaviye başlamadan önce ve tedavi süresi boyunca her hafta sıçanların beden ağırlıkları ölçülmüştür. Deneş sonunda sıçanların beden ağırlıkları ve kan glukoz seviyeleri kuyruk veninden ölçülmüş ve eterle sakrifiye edilmiştir.

2. 2. 3. Plazma Örneklerinin Alınması

Anesteziye edilen sıçanların göğüs kafesleri açılarak kalplerinden alınan yaklaşık 5'er ml'lik kan, K₃EDTA'lı tüplerde toplanmış ve tüpler 3000 rpm hızda 10 dakika boyunca santrifuj edilerek plazmaları apendorflara alınmıştır. Apendorflara konan plazmalar analiz yapılincaya dek saklanmak üzere -80°C'lik derin dondurucuya konmuştur.

2. 2. 4. Kan Basınçlarının Ölçülmesi

Kan basınçları non-invaziv tail-cuff metoduyla ölçülmüştür. Hayvanlar, cihazın ölçüm sırasında hareket etmemesini sağlayan özel kafeslere yerleştirildikten sonra kuyrukları sıcaklığı yaklaşık 39°C' ye ayarlanmış kapalı kutu içine konmuş ve 20 dakika bekletildikten sonra aletin manşonu kuyruklarına yerleştirilerek cihaz çalıştırılmış ve kan basıncına ait ses düzenli bir ritme girdiğinde arka arkaya 10 ölçüm yapılmıştır.

2. 2. 5. Sıçan Torakik Aortasının İzolasyonu

Göğüs kafesleri açılan sıçanların kanları alındıktan sonra kalpleri çıkarılmış ve torakik aortaları izole edilmiştir. İzole aortalar oksijenlendirilmiş Krebs Çözeltisi'nin bulunduğu petri içine alınarak yağ ve bağ dokularından temizlenmiştir. 4 mm'lik halkalar halinde kesilen aortaların her deneyde aynı segmentinin kullanılmasına dikkat edilmiştir. Aortanın bir ucu önceden 2 g'lık ağırlık asılarak bu ağırlığın oluşturduğu gerilimin saptandığı "izometrik transduser"a, bir ucu da doku tutucu kancaya tespit edilecek biçimde, içinde Krebs Çözeltisi bulunan organ banyosu içine konmuştur. Deney boyunca organ banyosunun sıcaklığının 37°C olması sağlanmış ve çözelti % 95 O₂ - % 5 CO₂ içeren gaz karışımı ile havalandırılmıştır. Preparat vücut gerimine benzer olarak çalışabilmesi için 2 gramlık ağırlığın oluşturduğu gerilim düzeyine kadar kastırılmış ve 1 saat boyunca her 15 dakikada bir ortam sıvısı yenilenecek biçimde inkübasyona bırakılmıştır.

2. 3. Deneysel İşlemler

2. 3. 1. Biyokimyasal Deneyler

2. 3. 1. 1. Kan Glukoz Düzeyinin Ölçümü

Deney hayvanları eterle sakrifiye edilmeden önce glukometre (Accu-chek Go) kullanılarak kuyruk venlerinden alınan kanla glukoz seviyelerine bakılmıştır.

2. 3. 1. 2. Plazma TG, HDL-K, GOT (AST), GPT (ALT) ve İnsülin Düzeylerinin Ölçümü

Reflotron striplerine özel pipetleriyle plazma damlatılarak Reflotron aleti ile aspartat aminotransferaz (AST, GOT), alanin aminotransferaz (ALT, GPT) düzeyleri ölçülmüştür. ELISA yöntemi kullanılarak Dynex Dsx tam otomatik ELISA analizörü ile DRG marka kitler kullanılarak insülin değerine bakılmıştır. Enzimatik kolorimetri yöntemiyle Olympus AU 2700 otoanalizörü ve Beckman Coulter marka kitler kullanılarak HDL-K ve TG değerlerine bakılmıştır.

2. 3. 2. Farmakolojik Deneyler

2. 3. 2. 1. Kasılma Yanıtlarıyla İlgili Deneyler

Birinci Grup Deneyler

Bu grup deneylerde aortanın FE yanıt verirliliğinin araştırılması amacıyla FE'nin kümülatif doz yanıt eğrisi (10^{-9} – 10^{-4} M) çıkarılmıştır. Deney sonunda dokunun bazal tonusa gelmesi için yarım saat dinlenmeye bırakılmış ve 15 dakika arayla içinde bulunduğu çözelti yenilenmiştir.

İkinci Grup Deneyler

COX yolağının kasılma yanıtlarına olan etkisini incelemek için 10^{-5} M indometazinle 20 dakika inkübe edilen dokuların (10^{-9} – 10^{-4} M) FE ile kümülatif konsanrasyon-yanıt eğrisi elde edilmiştir.

Üçüncü Grup Deneyler

Bu grup deneylerde NOS inhibitörü olan L-nitro arjinin metil ester (L-NAME; 10^{-5} M) ile dokular 20 dakika inkübasyona bırakılmış ve (10^{-9} – 10^{-4} M) FE ile kümülatif konsanrasyon-yanıt eğrisi elde edilmiştir.

Dördüncü Grup Deneyler

Bu grup deneylerde oksidatif strese yol açan süperoksit radikallerini inaktive eden ve NO'in biyoyararlanımını arttıran bir enzim olan SOD'la (1500 U) 20 dakika boyunca inkübe edilen dokuların (10^{-9} - 10^{-4} M) FE ile kümülatif konsanrasyon-yanıt eğrisi elde edilmiştir.

2. 4. Sonuçların Analizi

2. 4. 1. Hesaplamalar ve İstatistiksel Analizler

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular belirli sayıda sonucun ortalaması olarak verilmiştir. Ortalamalar \pm standart hatalarla birlikte gösterilmiştir. Damar yanıtlarının değerlendirilmesinde deney gruplarının birbirinden farklarının istatistiksel analizi, tekrarlanan ölçümler için ANOVA ve sonrasında yapılan gruplar arası farkın önemliliğinin kontrolü için Newman-Keuls testi yapılmıştır. İstatistiksel analizler * $p < 0.05$, ** $P < 0.01$ ve *** $P < 0.001$ anlamlılık düzeylerinde değerlendirilmiştir.

Dokuların duyarlılığının belirlenmesi amacıyla kümülatif doz-yanıt eğrilerine uygulanan nonlinear regresyon analizlerinden pD_2 değerleri hesaplanmıştır. Deney

sonuçları istatistiksel analiz ve grafik gösterimleri için Graphpad Prism 5 programı kullanılmıştır.)

2. 4. 2. Yazılım ve Grafikler

Bu tez Pentium IV bilgisayarda “Microsoft Office Word 2007” yazılım programı kullanılarak yazılmıştır. Basım işlemi için HP 1020 laser jet printer kullanılmıştır. Deney sonuçlarını gösteren grafikler Graphpad Prism 5 kullanılarak çizilmiştir.

3. BULGULAR

3. 1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri

3. 1. 1. Beden Ağırlığı

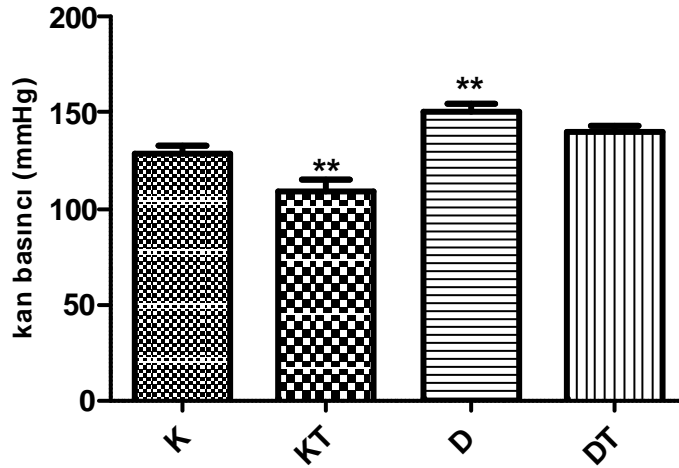
Grupların beden ağırlıkları aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 3. 1. Grupların ortalama ağırlıkları (gram \pm standart hata)

	K	KT	D	DT
0 hafta	179.4 \pm 3.5	187.8 \pm 9.2	182.1 \pm 4	195.1 \pm 2.9
12 hafta	200.6 \pm 10.7	202.4 \pm 9.3	193.9 \pm 5.6	205.5 \pm 4.8

3. 1. 2. Kan Basıncı Değerleri

K (128.3 \pm 4.2 mmHg), KT (109.1 \pm 5.9mmHg), D (150.9 \pm 4 mmHg) ve DT (140.3 \pm 2.5 mmHg) olarak gözlenmiştir.

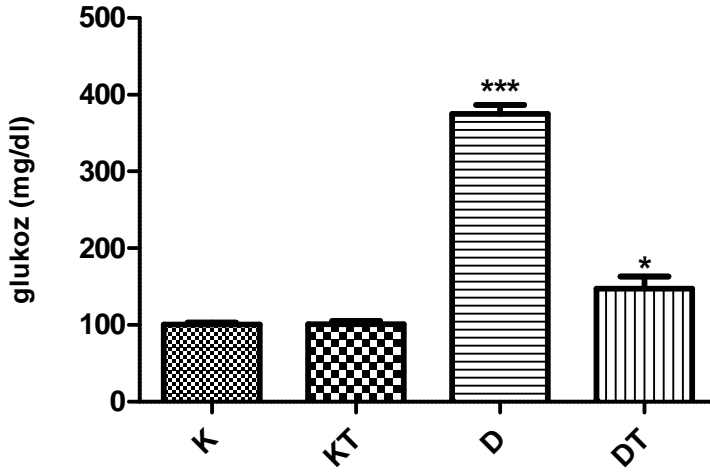


Şekil 3. 1. Deney gruplarının sistolik kan basıncı düzeyleri. Kontrol grubuna göre istatistiksel farklılıklar, ** $p < 0.01$ olarak belirtilmiştir. Kontrol (K) grup (n=7), kontrol tedavili (KT) grup (n=7), diyabetik (D) grup (n=9), diyabet tedavili (DT) grup (n=9).

3. 2. Biyokimyasal Bulgular

3. 2. 1. Kan Glukoz Düzeyleri

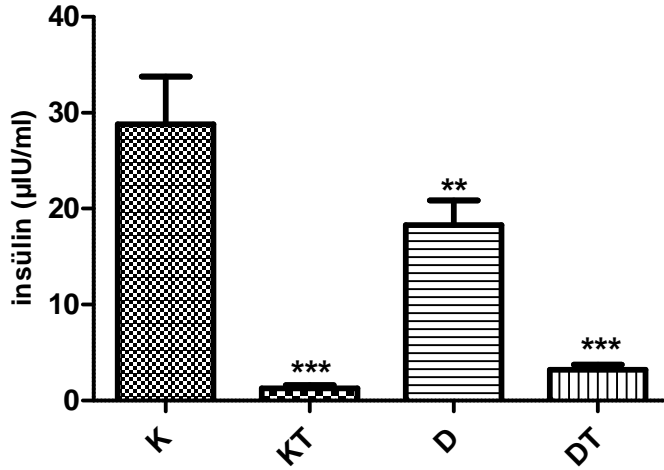
Hayvanlar sakrifiye edilmeden önce Accu-Check Go glukoz ölçüm aleti kullanılarak kuyruk venlerinden alınan kanla glukoz seviyelerine bakılmıştır. K (100.6 ± 2.5 mg/dl) ve KT (100.9 ± 4.2 mg/dl) grupları dışında diğer gruplar arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur. D (375 ± 11.8 mg/dl) ve DT (147.3 ± 13 mg/dl) gruplarının kan glukoz düzeylerinin K gruba oranla yüksek olduğu görülmüştür.



Şekil 3. 2. Deney gruplarının kan glukoz düzeyleri. Kontrol grubuna göre istatistiksel farklılıklar, *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$ olarak belirtilmiştir. Kontrol (K) grup (n=7), kontrol tedavili (KT) grup (n=7), diyabetik (D) grup (n=9), diyabet tedavili (DT) grup (n=9).

3. 2. 2. İnsülin Düzeyleri

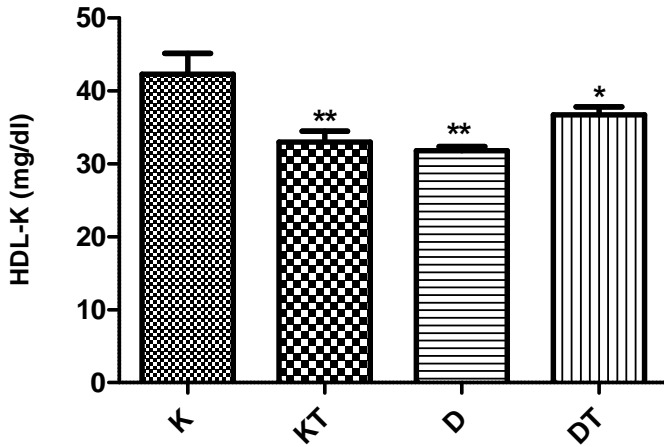
Eliza yöntemi kullanılarak yapılan insülin tayininde K grubuna (28.81 ± 4.97 μ IU/ml) göre KT (1.30 ± 0.33 μ IU/ml), DT (3.2 ± 0.54 μ IU/ml) ve D (18.30 ± 2.54 μ IU/ml) gruplarının serum insülin miktarında azalma meydana gelmiştir.



Şekil 3. 3. Deney gruplarının serum insülin düzeyleri. Kontrol grubuna göre istatistiksel farklılıklar, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ olarak belirtilmiştir. Kontrol (K) grup (n=7), kontrol tedavili (KT) grup (n=7), diyabetik (D) grup (n=9), diyabet tedavili (DT) grup (n=9).

3. 2. 3. HDL-K Düzeyleri

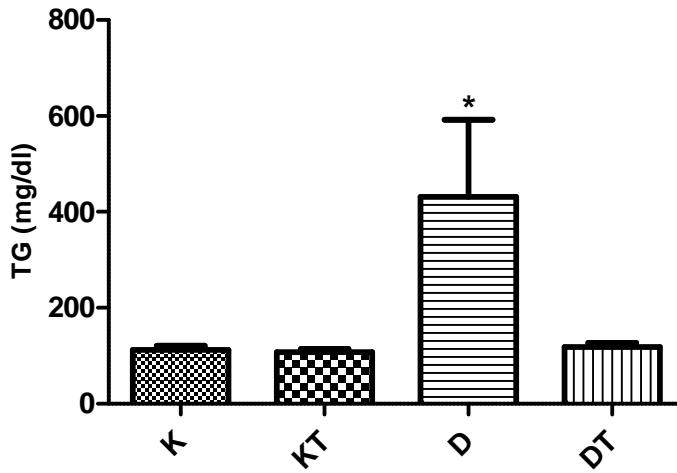
Enzimatik kolorimetri yöntemiyle elde edilen sonuçlarda HDL-K düzeyi K grubuna (42.33 ± 2.85 mg/dl) göre DT grubunda (36.71 ± 1.15 mg/dl) daha az miktarda olmak üzere, D (31.8 ± 0.58 mg/dl) ve KT (33 ± 1.53 mg/dl) grubunda azalma meydana gelmiştir.



Şekil 3. 4. Deney gruplarının serum HDL-K düzeyleri. Kontrol grubuna göre istatistiksel farklılıklar, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ olarak belirtilmiştir. Kontrol (K) grup (n=7), kontrol tedavili (KT) grup (n=7), diyabetik (D) grup (n=9), diyabet tedavili (DT) grup (n=9).

3. 2. 4. TG Düzeyleri

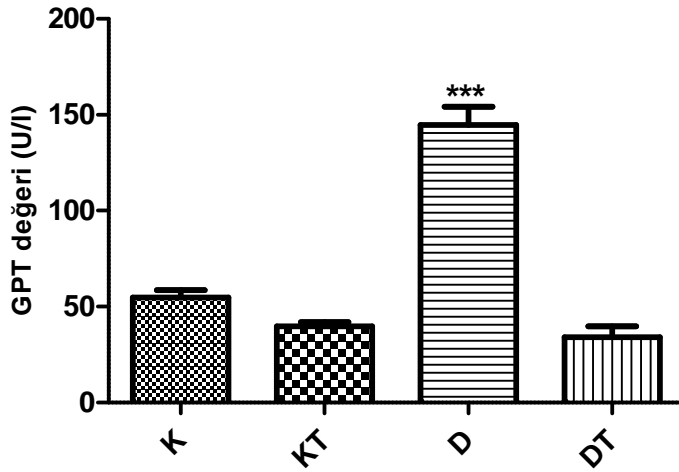
Enzimatik kolorimetri yöntemi kullanılarak bulunan sonuçlarda K grubuna (112 ± 9 mg/dl) göre D grubunun (431 ± 161.3 mg/dl) TG değeri belirgin olarak yüksek bulunmuş, KT (107.3 ± 7 mg/dl) ve DT (118.3 ± 8.56 mg/dl) gruplarında ise bir farklılık gözlenmemiştir.



Şekil 3. 5. Deney gruplarının serum trigliserit (TG) düzeyleri. Kontrol grubuna göre istatistiksel farklılıklar $*p < 0.05$ olarak belirtilmiştir. Kontrol (K) grup ($n=7$), kontrol tedavili (KT) grup ($n=7$), diyabetik (D) grup ($n=9$), diyabet tedavili (DT) grup ($n=9$).

3. 2. 5. GPT (ALT) Düzeyleri

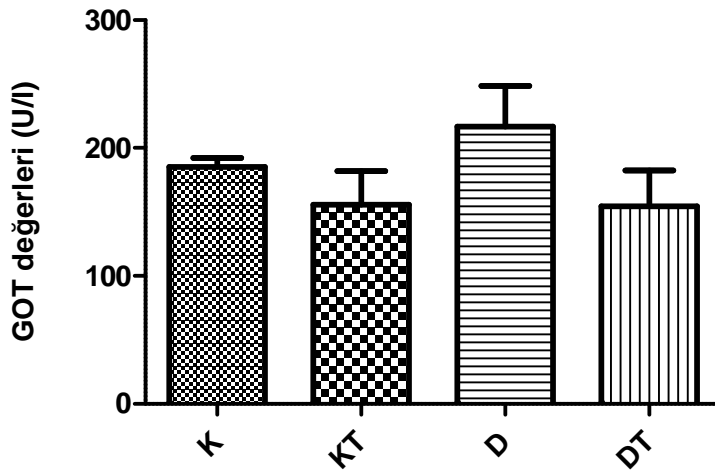
Plazma GPT düzeylerinin D grubunda (144.7 ± 7.5 U/l), K (54.8 ± 3.8 U/l), KT (39.7 ± 2.3 U/l) ve DT gruplarına (34 ± 4.7 U/l) oranla anlamlı olarak yükseldiği gözlenmiştir.



Şekil 3. 6. Deney gruplarının plazma GPT değerleri. Kontrol (K) grup (n=7), kontrol tedavili (KT) grup (n=7), diabetik (D) grup (n=9), diabet tedavili (DT) grup (n=9). Kontrol grubuna göre istatistiksel farklılıklar ***p<0.001 olarak gösterilmiştir.

3. 2. 6. GOT (AST) Düzeyleri

Plazma GOT değerlerinde K (185 ± 5.7 U/l), KT (155.7 ± 26.1 U/l), D (217 ± 28.4 U/l) ve DT (154.3 ± 19.8 U/l) grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

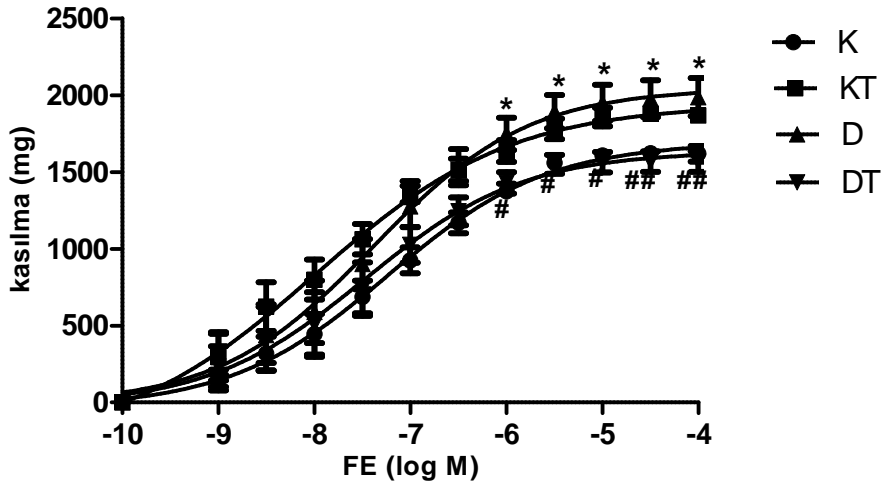


Şekil 3. 7. Deney gruplarının plazma GOT değerleri. Kontrol (K) grup (n=7), kontrol tedavili (KT) grup (n=7), diabetik (D) grup (n=9), diabet tedavili (DT) grup (n=9).

3. 3. Farmakolojik Bulgular

3. 3. 1. Fenilefrin ile Aortada Elde Edilen Kümülatif Konsantrasyon-Yanıt Eğrileri

K grubuna göre D grubunun FE kasılma yanıtları anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$), KT grubunda da artış meydana gelmiştir. D grubuna göre DT grubunun kasılma yanıtlarında belirgin bir azalma gözlenmiştir ($p<0.01$).



Şekil 3. 8. Fenilefrin (FE)'nin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisi. Kontrol (K) grup (n=7), kontrol tedavili (KT) grup (n=7), diyabetik (D) grup (n=9), diyabet tedavili (DT) grup (n=9). * $p<0.05$ (K grubuna göre), # $p<0.05$, ## $p<0.01$ (D grubuna göre).

Deney gruplarında FE'nin reseptöre afinitesini değerlendirmek için kullanılan pD_2 değerleri ve her grubun maksimum kasılma değeri (E_{max} , mg) aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

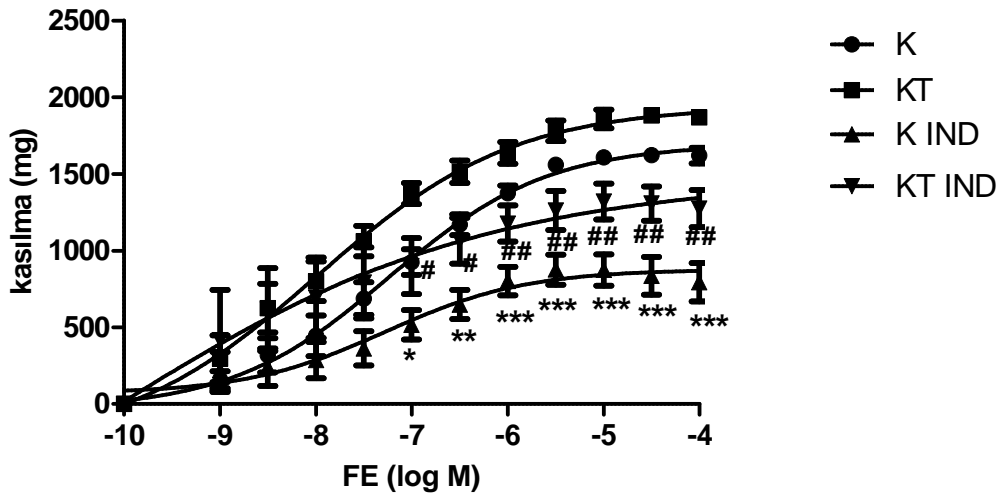
Çizelge 3. 2. Fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve E_{max} değerleri. K: kontrol; KT: kontrol tedavi; D: diyabet; DT: diyabet tedavi

	n	pD_2	E_{max} , mg
K	7	7.15 ± 0.17	1621 ± 170.8
KT	7	8.03 ± 0.67	1880 ± 168.6
D	9	7.20 ± 0.22	1987 ± 198.2
DT	9	7.23 ± 0.25	1568 ± 155.9

3. 3. 2. İndometazinin Kasılma Yanıtlarına Etkisi

COX yolağının kasılma yanıtlarına etkisinin incelenmesi amacıyla 20 dakikalık indometazin inkübasyonu sonrası FE doz-yanıt eğrisi çıkarılmıştır. Grupların inkübasyon öncesi ve sonrası FE doz-yanıt eğrileri karşılaştırılmıştır.

K ve KT gruplarının inkübasyon sonrası FE kasılma yanıtlarında belirgin bir azalma meydana gelmiştir.

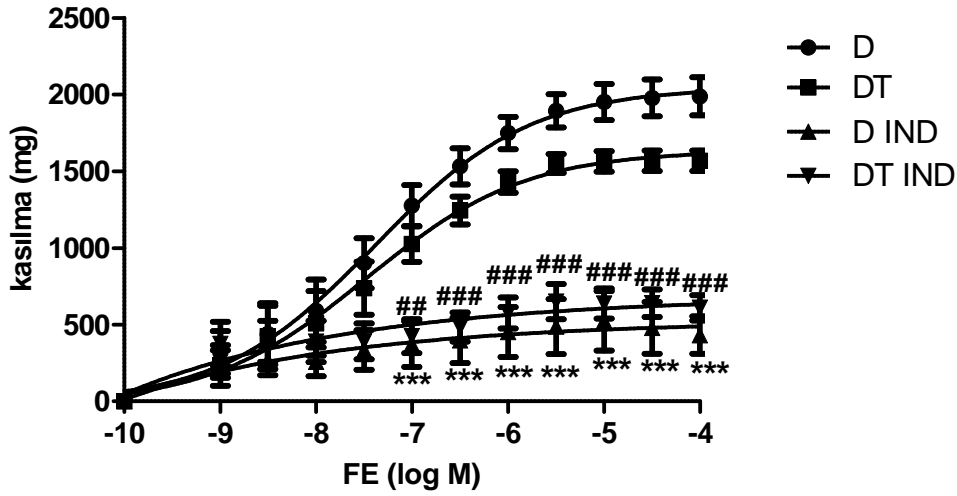


Şekil 3. 9. İndometazin (IND) inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif fenilefrin (FE) konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları. Kontrol (K) grup (n=7), kontrol tedavili (KT) grup (n=7). K grubuna göre K+IND grubunun istatistiksel farklılığı * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ olarak, KT grubuna göre KT+IND grubunun istatistiksel farklılığı # $p<0.05$, # $p<0.01$ olarak gösterilmiştir.

İndometazin inkübasyonu yapılan damarlarda ve inkübasyonsuz damarlardaki FE pD_2 ve E_{max} (mg) değerleri aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 3. 3. İndometazin inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve E_{max} değerleri. K: kontrol, KT: kontrol tedavi, IND: indometazin

	n	pD_2	E_{max} , mg
K	7	7.15 ± 0.17	1621 ± 170.8
KT	7	8.03 ± 0.67	1880 ± 168.6
K + IND	7	6.92 ± 0.26	875.4 ± 80.9
KT + IND	7	7.45 ± 1.19	1320 ± 95.9



Şekil 3. 10. İndometazin (IND) inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif fenilefrin (FE) konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları. Diyabetik (D) grup (n=9), diyabet tedavili (DT) grup (n=9). D grubuna göre D+IND grubunun istatistiksel farklılığı *** $p < 0.001$ olarak, DT grubuna göre DT+IND grubunun istatistiksel farklılığı ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ olarak gösterilmiştir.

D ve DT gruplarında indometazin inkübasyonunun FE yanıtlarını oldukça azalttığı bulunmuştur.

D ve DT gruplarında indometazin inkübasyonu yapılan ve yapılmayan damarların FE pD_2 ve Emax değerleri aşağıdaki gibidir.

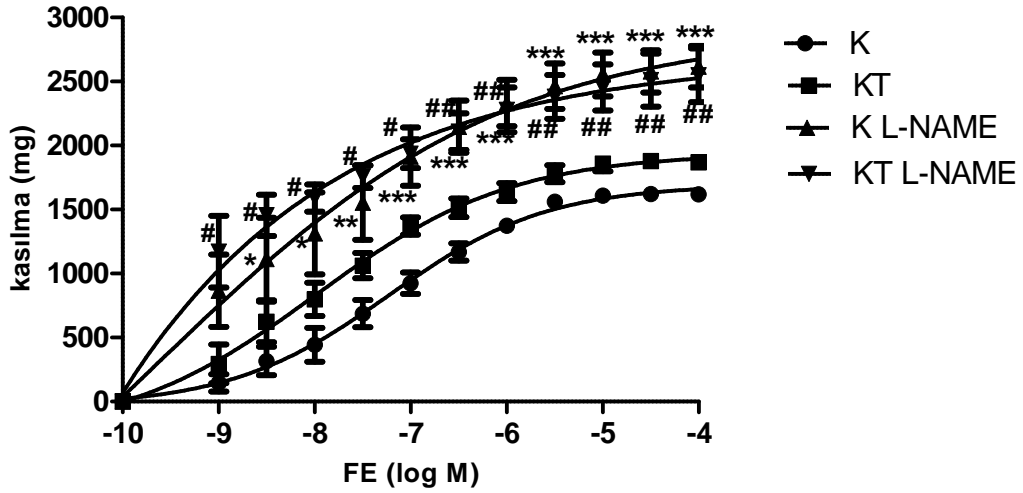
Çizelge 3. 4. İndometazin inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve Emax değerleri. D: diyabet, DT: diyabet tedavi, IND: indometazin

	n	pD_2	Emax, mg
D	9	7.20±0.22	1987± 198.2
DT	9	7.23±0.25	1568± 155.9
D+IND	9	7.08±1.17	523.8± 29.9
DT+IND	9	6.40±0.49	648.2± 35.3

3. 3. 3. L-NAME'in Kasılma Yanıtlarına Etkisi

NO'nun kasılma yanıtlarına etkisinin incelenmesi amacıyla 20 dakikalık L-NAME inkübasyonu sonrası FE'nin kümülatif (10^{-9} - 10^{-4} M) konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edilmiştir.

K ile K+ L-NAME arasında ve KT ile KT+L-NAME arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur.



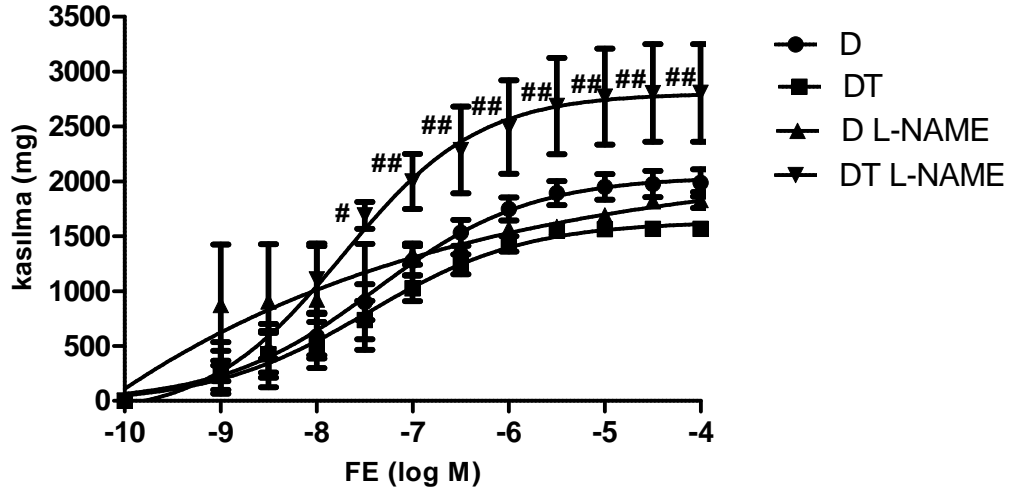
Şekil 3. 11. L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif fenilefrin (FE) konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları. Kontrol (K) grup (n=7), kontrol tedavili (KT) grup (n=7). K grubuna göre K+L-NAME grubunun istatistiksel farklılığı *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 olarak, KT grubuna göre KT+L-NAME grubunun istatistiksel farklılığı #p<0.05, ##p<0.01 olarak gösterilmiştir.

L-NAME inkübasyonu yapılan damarlarda ve inkübasyonsuz damarlardaki FE pD₂ ve Emax değerleri aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 3. 5. L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD₂ ve Emax değerleri. K: kontrol, KT: kontrol tedavi, L-NAME: L-nitro arjinin metil ester

	n	pD ₂	Emax, mg
K	7	7.15± 0.17	1621± 170.8
KT	7	8.03± 0.67	1880± 168.6
K + L-NAME	7	7.45± 0.65	2616± 192.9
KT + L-NAME	7	8.17± 2.94	2548± 141.8

L-NAME inkübasyonlu D grubunda FE ile oluşan kasılma yanıtları inkübasyonsuz duruma göre farklılık göstermemiştir. Ancak DT ile DT+L-NAME arasında anlamlı farklılık gözlenmiştir (^{##}p<0.01).



Şekil 3. 12. L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif fenilefrin (FE) konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları. Diyabetik (D) grup (n=9), diyabet tedavili (DT) grup (n=9). DT+L-NAME'in istatistiksel farklılığı ^{##}p<0.01 olarak bulunmuştur (DT grubuna göre).

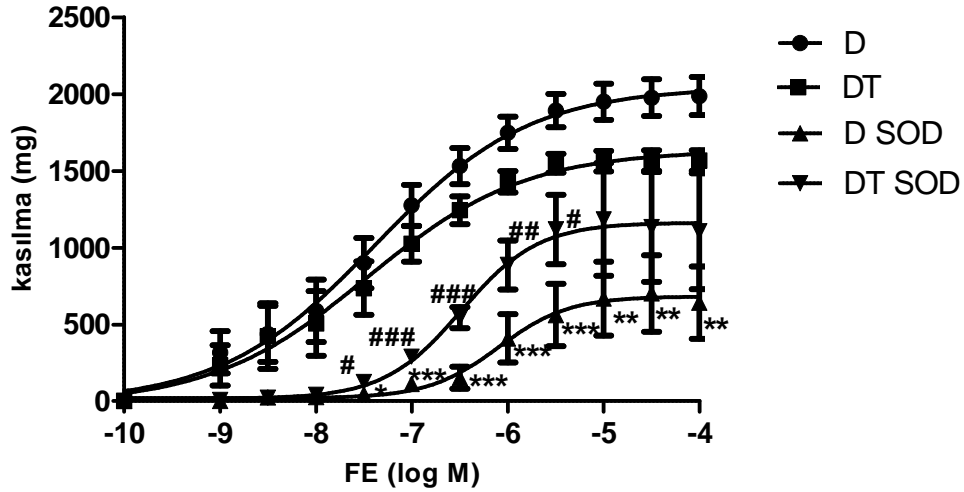
L-NAME inkübasyonu yapılan damarlarda ve inkübasyonsuz damarlardaki FE pD₂ ve Emax değerleri aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 3. 6. L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD₂ ve Emax değerleri. D: diyabet, DT: diyabet tedavi, L-NAME: L-nitro arjinin metil ester

	n	pD ₂	Emax, mg
D	9	7.20± 0.22	1987± 198.2
DT	9	7.23± 0.25	1568± 155.9
D + L-NAME	9	6.76± 0.70	1831± 114.5
DT + L-NAME	9	7.85± 0.72	2806± 285

	n	pD ₂	E _{max} , mg
K	7	7.15± 0.17	1621± 170.8
KT	7	8.03± 0.67	1880± 168.6
K + SOD	7	6.36± 0.31	1240± 137.8
KT+SOD	7	5.42± 0.98	1161± 127.5

D ile D+SOD arasında ve DT ile DT+SOD arasında anlamlı farklılık bulunmuştur.



Şekil 3. 14. SOD inkübasyonu öncesi ve sonrası kümülatif fenilefrin (FE) konsantrasyonları ile oluşan kasılma yanıtları. Diyabetik (D) grup (n=9), diyabet tedavili (DT) grup (n=9). D+SOD'un istatistiksel farklılığı *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 olarak bulunmuştur (D grubuna göre). DT+SOD grubunun istatistiksel farklılığı #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 olarak bulunmuştur (DT grubuna göre).

SOD inkübasyonu yapılan damarlarda ve inkübasyonsuz damarlardaki FE pD₂ ve E_{max} değerleri aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 3. 8. SOD inkübasyonu öncesi ve sonrası fenilefrin kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinden elde edilen pD_2 ve E_{max} değerleri. D: diyabet, DT: diyabet tedavi, SOD: süperoksit dismutaz

	n	pD_2	E_{max} , mg
D	9	7.20 ± 0.22	1987 ± 198.2
DT	9	7.23 ± 0.25	1568 ± 155.9
D+SOD	9	6.09 ± 0.27	702.3 ± 88.4
DT+SOD	9	6.48 ± 0.24	1184 ± 152.5

4. TARTIŞMA

4. 1. DeneY Hayvanlarının Genel Özellikleri

DeneY grupları arasında hayvan ağırlıkları karşılaştırıldığında belirgin bir farklılık bulunmamıştır.

K grubuna göre keten tohumu tedavisi normoglisemik ratlarda kan basıncını anlamlı olarak azaltmıştır ($p<0.05$). D grubunda belirgin bir yükselme bulunmuştur ($p<0.01$). 12 hafta boyunca verdiğimiz keten tohumu diyabetik hayvanlarda kan basıncını kontrol gruba yaklaştırmıştır. Bizim bulgularımıza paralel olarak önceki çalışmalarda 8 haftalık STZ-diyabetik ratlarda kan basıncının yükseldiği bulunmuştur (Majithiya ve ark., 2005). Prasad (2004), anestezi edilmiş sıçanlarda SDG'nin değişik dozlarının (3, 5, 10, 15 ve 20 mg/kg IV) kan basınçları üzerine etkisini araştırmıştır. 3, 5 ve 10 mg/kg dozlarında verilen SDG; sistolik, diastolik ve ortalama kan basıncında doza bağımlı bir azalma meydana getirmiştir. Postmenopozal kadınlarda yapılan 12 haftalık bir çalışmada günde 40 g keten tohumu tedavisi sistolik ve diastolik kan basıncını belirgin olarak azaltmıştır (Dodin ve ark., 2005). Yine bir başka çalışmada insülin rezistansı olan obez yetişkinlerde günde 20 g keten tohumu yağı (ALA içeren) veya dislipidemik erkeklerde günde 8 g ALA tedavisi sistolik, diastolik ve ortalama arteriyal kan basıncında belirgin bir azalma oluşturmuştur (Nestel ve ark., 1997; Paschos ve ark., 2007).

4. 2. Biyokimyasal Bulgular

12 haftalık tedavi süresi sonunda K ve KT grupları arasında serum glukoz değerinde bir farklılık bulunmamış, ancak STZ-diyabetik grupta anlamlı bir artış meydana gelmiştir ($p<0.001$). Diyabetik grupta yapılan keten tohumu tedavisi serum glukoz düzeyini oldukça azaltmıştır (% 61). D grubunda serum glukoz miktarında meydana gelen artışın nedeni STZ tarafından pankreasın hasara uğratılması sonucu insülinin

serum miktarındaki azalma olabilir. STZ'nin aşırı ROT oluşumuna neden olması sonucu diyabetin meydana geldiği açıklanmıştır (Like ve Rossini, 1976; Robins ve ark., 1980; Wilson ve ark., 1984). Keten tohumundaki SDG'nin antioksidan aktivitesi sonucu diyabete karşı koruyucu olduğu ileri sürülmektedir (Prasad, 1997). K grubuna göre D grubu ($p<0.01$) ile DT ve KT gruplarının ($p<0.001$) serum insülin miktarları anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Keten tohumu KT grubunda glukoz miktarını değiştirmeden serum insülin miktarında kontrol gruba göre belirgin bir azalma meydana getirmiş, DT grubunda ise D grubuna göre glukoz düzeylerinde belirgin azalmanın yanı sıra insülin miktarında da belirgin bir azalma meydana getirmiştir. Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri hücre membranının akışkanlığını, insülin reseptörlerinin sayısını, insülinin reseptörlere afinitesini, glukoz transportör-4 reseptörlerinin sayısını arttırmakta, pro- ve antioksidanlar arasındaki dengeyi düzenlemektedir (Das, 2005). Hayvan modellerindeki diyabet çalışmalarında 22 mg/kg/gün verilen SDG tip I diyabetin gelişmesini yaklaşık olarak % 71 oranında önlemiştir (Prasad, 2000).

K grubuna göre KT ve D gruplarında HDL-K düzeyleri anlamlı olarak azalmış ($p<0.01$), DT grubunda ise daha az miktarda düşüş olmuştur ($p<0.05$). KT grubunda keten tohumu tedavisinin negatif bir etkisi olmuş ancak DT grubunda D grubuna göre HDL-K'ü bir miktar yükselterek faydalı bir etki göstermiştir. Ancak HDL-K üzerinde yapılan çalışmalar çelişkilidir. Bu çelişkiler kullanılan hayvanların yaşına, cinsiyetine, patolojik durumun varlığına, verilen keten tohumunun dozu, tedavi süresi gibi faktörlerden kaynaklanabilir. Erkeklerde yapılan bir çalışmada keten tohumu HDL-K'ü % 16 oranında düşürmesine rağmen (Bloedon ve ark., 2008), birçok çalışmada herhangi bir etki gözlenmemiştir (Cunnane ve ark., 1995; Arjmandi ve ark., 1998; Clark ve ark., 2001; Lemay ve ark., 2002; Lucas ve ark., 2002). Hiperkolesterollü sıçanlara 8 hafta boyunca 20 mg/kg/gün verilen SDG'nin TK, TG ve LDL-K düzeylerini sırayla % 33, % 39 ve % 45 olarak azalttığı ve HDL-K düzeyini % 22 oranında arttırdığı bulunmuştur (Penumathsa ve ark., 2008). Çeşitli çalışmalar kardiyovasküler hastalık görülme sıklığının azalması ile yüksek HDL-K seviyelerinin ilişkili olduğunu göstermiştir (Shali ve ark., 2001; Young, 2005). Bu

sonuçlardan spesifik hastalık gruplarında keten tohumunun daha faydalı etkiler gösterebileceği söylenebilir.

TG değerlerinde K grubuna göre KT ve DT grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamış ancak D grubunda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Diyabetin hiperlipidemi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (De Sereday ve ark., 2004). Çalışmamızda keten tohumu tedavisinin diyabette artan TG değerlerini düşürmede etkili olduğu bulunmuştur. Benzer olarak hafif hiperkolesterollü yetişkinlere 60 gün boyunca günde 20 g verilen keten tohumunun TG'yi % 36 oranında azalttığı bulunmuştur (Mandaşescu ve ark., 2005). Sıçanlarda %10 keten tohumu ile yapılan çalışmada serum lipitlerinin etkilenmediği ancak % 20 ve % 30 keten tohumu diyetinin plazma TK, LDL-K ve TG miktarlarını sırayla %21 ve % 33, % 33.7 ve % 67, % 23 ve % 23 azalttığı belirlenmiştir (Ratnayake ve ark., 1992).

Plazma enzimlerinden GOT ve GPT karaciğer hastalıklarının belirlenmesinde kullanılmaktadır (Thabrew ve ark., 1987; Achliya ve ark., 2004). Bu enzimlerin aktivitelerindeki artış karaciğer hasarına işaret etmektedir. İnflamatuvar hepatosellüler hastalıklar transaminazlarda oluşan aşırı artışla oluşmaktadır (Foreston ve ark., 1985; Hultcrantz ve ark., 1986). Çalışmamızda GPT düzeyi D grubunda diğer gruplara göre oldukça yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Plazma GOT miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen D grubunda bir miktar artış olmuştur. K ve KT grupları arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır. Keten tohumu tedavisi diyabetik sıçanlarda özellikle GPT miktarlarını azaltmış, diyabetin yol açtığı organ hasarına karşı kısmen koruyucu bir etki göstermiştir. Bizim bulgularımıza benzer bir sonuç Makni ve ark.'ları (2010) tarafından bulunmuştur. Keten ve kabak tohumu karışımı tedavisi, diyabetik ratlarda yükselen serum GOT ve GPT miktarlarını sırasıyla % 44 ve % 26 oranında azaltmıştır.

4. 3. Farmakolojik Bulgular

FE'e verilen kasılma yanıtları karşılaştırıldığında K ve DT grupları ile KT ve D gruplarının birbirine yakın sonuçlar verdiği gözlenmiştir. K grubuna göre D

grubunun kasılma yanıtlarında anlamlı bir artış bulunmuştur ($p<0.05$). Diyabette oluşan bu artış keten tohumu tedavisi ile düzeltilmiş ve hemen hemen K grubuna yakın bir düzeye gelmiştir. Ancak normoglisemik sıçanlardaki keten tohumu tedavisi kasılma yanıtlarında bir artış meydana getirmiştir. Başka çalışmalarda STZ diyabetik sıçanların kastırıcı ajanlara karşı vasküler yanıtlarda artış meydana getirdiği bulunmuştur (Roghani ve ark., 2009). Diyabette aşırı miktarda artan serbest oksijen radikali üretimi ve azalan antioksidan savunma sistemi sonucu oksidatif stresin artmasının endotel aktivitede hasara yol açarak kasılma yanıtlarının artmasına neden olabileceği düşünülmektedir (Laight ve ark., 2000). Keten tohumunun antioksidan etkisi sonucu diyabette oluşan oksidatif stresi azaltarak kasılma yanıtlarını düzelttiği söylenebilir. Ancak normoglisemik sıçanlarda keten tohumu tedavisi zıt bir etki göstererek kasılma yanıtlarını arttırmıştır. Organizmada antioksidanlar ve prooksidanlar arasında çok ince bir denge bulunmaktadır. Bir madde fizyolojik koşullara bağlı olarak hem antioksidan hem de prooksidan etki gösterebilir. Bu yüzden antioksidan etkili olan maddelerin kullanımında kimyasal veya bitkisel olup olmadığına bakılmaksızın ancak gerekli durumlarda ve uygun hastalıklarda kullanılması gerekmektedir.

Vasküler düz kas tonusunun regülasyonunda NO, prostasiklin, EKHF ve endotel kaynaklı kasılma faktörlerini (EKKF) salgılayan vasküler endotel önemli bir rol oynar (Furchigott ve Zawadzki, 1980; Vanhoutte, 1996; Lüscher ve Barton, 1997). Endotel kaynaklı kasılma faktörü prostanoitleri (endoperoksit, prostasiklin, tromboksan A₂ ve prostaglandin E₂) ve reaktif oksijen türlerini içerir. Vasküler tonusta anlık değişikliklere neden olan EKKF'nün oluşumu endotelial COX aktivitesine bağlıdır (Tang ve Vanhoutte, 2009). Vazokonstriktör prostanoitlerin vasküler reaktivite üzerindeki etkisini incelemek için bir COX inhibitörü olan indometazinink inkübasyonu yapılmıştır. Inkübasyon sonrasında tüm gruplardaki aortaların FE'e verdiği kasılma yanıtlarında belirgin bir inhibisyon meydana gelmiştir. Emax değerinde inkübasyon sonrası en çok azalma D grubunda olmuştur. DT grubunda da anlamlı bir düşüş olmakla birlikte D grubuna göre daha azdır. KT grubuna göre KT+IND grubunda ($p<0.01$), K grubuna göre K+IND grubunda ($p<0.001$) anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Kan damarlarında bir COX ürünü olan

prostasiklinin trombositlerde üretilen tromboksan A₂'nin etkisine zıt olarak trombosit agregasyonunu inhibe ederek antitrombotik ve anti-iskemik etki gösterdiği bulunmuştur (Hinz ve Brune, 2002). Diyabetli hastalarda arteriyel endotelde COX-1 tarafından üretilen prostasiklinin azalması ve trombositlerden tromboksan A₂ üretimini artırması, prostasiklin/tromboksan A₂ oranında dengesizlik oluşması diyabette oluşan aterogenezi kısmen açıklamaktadır (Moncada ve Higgs, 1986). Bu sonuçlar diğer gruplara göre diyabetik grupta vazokonstriksiyon yapan COX ürünlerinin daha çok üretildiğini, keten tohumu tedavisinin diyabetiklerde bu COX ürünlerinin oluşumunu azalttığını göstermiştir. Tavşanlarda yapılan bir çalışmada keten tohumu yağının trombin ve fibrinojen tarafından yapılan trombosit agregasyonunu önlediği gösterilmiştir (Vas Dias ve ark., 1982). Başka bir çalışmada ise 12 hafta boyunca günde 5.9 g olarak verilen ALA'nın kanama zamanını ve platelet aktivatör inhibitör-1'i arttırdığı, trombosit agregasyonunu ve tromboksan B₂ üretimini azalttığı, faktör VIIc veya fibrinojen üzerinde ise bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (Freese ve Mutanen, 1997).

Trombosit agregasyonu ve trombositlerin vasküler endotele yapışması diabetes mellitusta artmaktadır (Mayne ve ark., 1970; Heath ve ark., 1971). Buna ek olarak araştırmacılar diyabette tromboksanın plazma seviyelerinin (Haluschka ve ark., 1983; Takahashi ve ark., 1985) ve aort endotelinden tromboksan salgılanmasının arttığını göstermişlerdir (Teshamariam ve ark., 1989). Diabetes mellitusta gelişen vasküler disfonksiyonun nedenlerinden biri de tromboksan sentezi ve salgılanmasındaki değişiklik olabilir.

L-NAME ile inkübasyon yapılarak gruplar arasında NO üretimi bakımından karşılaştırma yapılması amaçlanmıştır. K (p<0.001) ve KT (p<0.01) gruplarında L-NAME inkübasyonu sonrası anlamlı farklılık bulunmuştur. NOS inhibitörü olan L-NAME'in ortama eklenmesi kontrol grubunda FE'e verilen yanıtı arttırmış ancak D grubunda anlamlı bir etki gözlenmemiştir. Bu sonuç FE'in neden olduğu kasılma yanıtlarının NO tarafından azaltıldığını, diyabetik grupta L-NAME'in etkisiz olmasının nedeninin de azalan NO salgılanması olduğunu göstermektedir. NO'nin hızla süperoksit tarafından inaktive edildiği ve artan süperoksit radikali üretimini

NO'in yıkımının hızlanmasında rol aldığı belirtilmiştir (Grylewski ve ark.,1986; Rubanyi ve Vanhoutte, 1986). Dahası STZ-diyabetik ratlarda NO yıkımının hızlı olduğu gösterilmiştir (Kamata ve Kobayashi, 1996). Benzer sonuçlar daha önceki çalışmalarda da bulunmuştur. Dişi ratlarda yapılan bir çalışmada L-NAME sonrası K grubunda noradrenaline verilen yanıtta artma olmasına rağmen D grubunda bir artış meydana gelmemiştir (Taylor ve ark., 1992). DT grubunda ise inkübasyon sonrası Fe ile oluşan kasılma yanıtlarında anlamlı olarak artış meydana gelmiştir ($p<0.05$). İnkübasyon sonrası Emax, DT grubunda K grubuna yakın bulunmuştur. Bu bulgu ile keten tohumu tedavisinin diyabetik sıçanların endotel fonksiyonu üzerinde olumlu etkisinin olduğu söylenebilir.

KT grubunda SOD inkübasyonu K grubuna göre FE kasılma yanıtlarında daha çok azalma oluşturmuştur. İnkübasyon sonrası KT grubunda kasılma yanıtları belirgin ($p<0.001$) olarak azalmıştır. Enzimatik bir antioksidan olan SOD inkübasyonu sonrası KT grubundaki kasılma yanıtlarındaki azalma keten tohumu tedavisinin K grupta süperoksit radikallerinin oluşumunu arttırdığını göstermektedir. D ve DT grubundaki SOD inkübasyonu sonrasında FE yanıtlarında belirgin bir azalma meydana gelmiştir. D grubunda süperoksit radikallerinin üretiminin daha çok olması nedeniyle inkübasyon sonrası FE kasılma yanıtlarında daha fazla azalma olmuştur ($p<0.001$). DT grubunda ise azalma daha az olmuştur ($p<0.05$). DT grubunda SOD'un daha az etkili olması keten tohumu tedavisinin antioksidan etki göstermesinden dolayı olabilir. Keten tohumundaki SDG'nin antioksidan etkiden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Prasad, 2000; 2005).

Hayvan modellerinde diyabet serbest oksijen radikallerinin etkisinin artması ile ilişkili bulunmuş ve antioksidan tedavi ile düzeltilmiştir (Teschfariam ve Cohen, 1992; Lund ve ark., 2000). Keten tohumu diyabette artan vasküler süperoksit üretimini azaltmakta ve NO biyoyararlanımını arttırmaktadır. Diyabetin vasküler komplikasyonlarından korunmak için keten tohumu potansiyel bir terapötik ajan olarak kabul edilebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Diabetes mellitus dünyada görülme sıklığı oldukça yüksek olan, damar yapısını bozan, mikro ve makrovasküler bozukluklara neden olan ve kontrol altına alınmadığında öldürücü olabilen bir hastalıktır. Oksidatif stresin diyabetin nedenlerinden biri olduğu keten tohumunun da antioksidan özelliği olduğu bilinmektedir. Keten tohumu tedavisi diyabetik hayvanların kan basınçlarını bir miktar, kan glukoz, serum TG ve serum GPT düzeylerini ise oldukça düşürmüştür. Kontrol hayvanlarda ise kan basıncını azaltmakla birlikte kan glukoz, serum TG ve GPT düzeylerinde belirgin bir değişiklik yapmamıştır. HDL kolesterol düzeylerinde ise keten tohumu diyabetik grupta bir miktar artma, ancak kontrol grupta azalma meydana getirmiştir. Keten tohumu tedavisi FE'e verilen kasılma yanıtlarında diyabetik grupta azalma oluşturmaya karşın kontrol grupta artma meydana getirmiştir. KT grubundaki bu artışın nedeni başlıca süperoksit radikalleri kısmen de vazokonstriktör COX ürünleridir. Keten tohumu NO salgılanmasını arttırarak ve süperoksit radikallerinin üretimini azaltarak diyabette endotel hasara karşı koruyucu özellik göstermiştir. Ancak kontrol grupta keten tohumu tedavisi gerek HDL kolesterol düzeyi gerekse damar yanıtlarında ters bir etki göstermiştir. Bütün bu sonuçlara dayanarak keten tohumunun ancak gerekli olan durumlarda uygun dozda kullanılması şartıyla birçok faydasının görülebileceği bir tedavi seçeneği/desteği olduğu söylenebilir.

ÖZET

Keten Tohumu ve Diyabetik Kardiyovasküler Komplikasyonlar

Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünyada görülme sıklığı giderek artan, morbidite ve mortaliteye neden olan bir hastalıktır. Diyabetiklerde kardiyovasküler hastalık görülme olasılığı daha fazladır. Keten tohumu lipit düzeyleri, endotel fonksiyonlar üzerindeki olumlu etkisi ve antioksidan özelliği nedeniyle kardiyoprotektif bir etki gösterir. Diyabette keten tohumunun etkisini araştırmak için streptozotosin (STZ)-diyabetik dişi sıçanlara 12 hafta boyunca keten tohumu (0,714 g/kg/gün; oral olarak) verilmiştir. Sıçanlar kontrol (K), kontrol tedavi (KT), diyabet (D) ve diyabet tedavi (DT) olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Çalışma sonunda beden ağırlıkları, kan basınçları, kan glukozları, serum HDL kolesterol (HDL-K), insülin, GOT, GPT düzeyleri ölçülmüş, torakik aortaları izole edilerek in-vitro olarak fenilefrin ile oluşturulan (10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif kasılma yanıtları incelenmiştir. Siklooksijenaz (COX) yolağının incelenmesi için indometazin (10^{-5} M; 20 dk) (nonspesifik inhibitör), NO'in etkisinin incelenmesi için L-nitro arjinin metil ester (L-NAME; 10^{-5} M), (endotelial nitrik oksit sentaz inhibitörü) süperoksit radikallerinin rolünü saptamak için süperoksit dismutaz (SOD; 1500 U; 20 dk) inkübasyonu yapılarak FE ile doz yanıt eğrisi elde edilmiştir. Keten tohumu tedavisi kontrol grubunda kan basıncını anlamlı olarak düşürmüştür. Serum HDL-K düzeyinde DT grubunda artış oluşturmalarına rağmen KT grubunda azalma meydana gelmiştir. Glukoz düzeyinde DT grubunda belirgin bir azalma gözlenmesine rağmen KT grubunda fark oluşmamıştır. Serum insülin miktarında hem KT hem de DT grubunda azalma meydana gelmiştir. Aynı zamanda diyabetteki yüksek GPT düzeyini düşürmüştür. FE ile oluşturulan kasılma yanıtlarında sırasıyla en çok kasılma D grubunda görülmekle birlikte, KT grubunda da D grubuna yakın kasılma yanıtı gözlenmiştir. K ve DT gruplarındaki yanıtlar ise birbirine yakın bulunmuştur. İndometazin inkübasyonu sonrasında özellikle D grubu olmak üzere bütün grupların kasılma yanıtlarında belirgin bir azalma meydana gelmiştir. L-NAME inkübasyonu sonrası D grubu hariç tüm grupların kasılma yanıtlarında artma olduğu, DT grubunda elde edilen yanıtların ise K grubuna yakın olduğu bulunmuştur. SOD inkübasyonu en çok diyabetik grupta kasılma yanıtlarını azaltmıştır. DT grubunda kasılma yanıtlarındaki azalma D grubuna göre çok daha az olmasına karşın KT grubunda zıt etki gözlenmiştir. Sonuç olarak keten tohumu tedavisinin D grubunda hiperglisemiyi ve vasküler kasılma yanıtlarını düzelttiği bulunmuş ancak aynı olumlu etkinin kontrol grubunda meydana gelmediği gözlenmiştir. Bu nedenle keten tohumu ancak gerekli durumlarda kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Aort, diabetes mellitus, glukoz, keten tohumu, vasküler kasılma yanıtı.

SUMMARY

Flaxseed and Diabetic Cardiovascular Complications

Cardiovascular diseases have an increasing rate of incidence and causes morbidity and mortality. Cardiovascular diseases are observed more in diabetic patients. Flaxseed is cardioprotective because of its positive effects on lipid levels and endothelial functions and its antioxidant impact. To search the effect of flaxseed in diabetes female streptozotocin (STZ)-diabetic rats were treated with flaxseed (0,714 g/kg/day; orally) during 12 weeks. The rats were divided into four groups: control (C), control treated (CT), diabetic (D) and diabetic treated (DT). At the end of the study, body weight, blood pressure, blood glucose, serum HDL cholesterol (HDL-C), insulin, GOT, GPT levels were measured and cumulative contraction (10^{-9} - 10^{-4} M) responses curves were obtained with phenylephrine (Phe) on isolated thoracic aortic rings. Aortas incubated 20 minutes with indomethacin (10^{-5} M; nonspecific inhibitor) to research the cyclooxygenase (COX) pathway, L-nitro arginin methyl ester (L-NAME; 10^{-5} M) (endothelial nitric oxide synthase inhibitor) to research the effect of NO and superoxide dismutase (SOD; 1500 U) to determine the role of superoxide radicals and cumulative response curves were obtained with Phe. Flaxseed treatment significantly decreased the blood pressure levels in control groups. In spite of an increase in serum HDL-C level in diabetic treated group, a decrease in control treated group occurred. Although the glucose level of diabetic treated groups were decreased significantly, there was no change in the control treated group. The treatment decreased the level of serum insulin in both groups. At the same time, it decreased the rise of GPT level in D groups. The maximum level of contraction with Phe was seen in D group, while a similar level was observed in CT group. On the other hand, the responses were similar in C and DT groups. Following the indomethacin incubation, there was a significant decrease in contraction levels of all groups particularly the D group. After L-NAME incubation, there were increases in contraction levels in all groups except in D group. The contraction levels of DT and C groups were close. SOD incubation decreased the contraction levels mostly in diabetic group. Despite the decrease in contraction levels of DT group, that was much lower compared to D, opposite effects were observed in CT group. As a result, it is seen that flaxseed treatment had a positive effect on hyperglycemia and on vascular contractile responses in D group, but the similar positive effects did not occur in control groups. Therefore, flaxseed must be used in necessary conditions.

Key Words: Aorta, diabetes mellitus, glucose, flaxseed, vascular contractile response

KAYNAKLAR

- ACHLIYA, G.S., WADODKAR, S.G., DORLE, A.K. (2004). Evaluation of hepatoprotective effect of Amalkadi Ghrita against carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **90**: 229-232.
- AHMED, M.U., THORPE, S.R., BAYNES J.W. (1986). Identification of N-carboxymethyllysine as a degradation product of fructoselysine in glycated protein. *J. Biol. Chem.* **261**: 4889-4894.
- ALLMAN, M.A., PENA, M.M., PANG, D. (1995). Supplementation with flaxseed oil versus sunflowerseed oil in healthy young men consuming a low fat diet: effects on platelet composition and function. *Eur. J. Clin. Nutr.* **49(3)**: 169-178.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (2010) Diagnosis and classification of diabetes mellitus . *Diabetes Care* volume 33 (supplement 1) 62-69.
- ANDER, B.P., WEBER, A.R., RAMPERSAD, P.P., GILCHRIST, J.S., PIERCE, G.N., LUKAS, A. (2004). Dietary flaxseed protects against ventricular fibrillation induced by ischemia-reperfusion in normal and hypercholesterolemic rabbits. *J Nutr.* **134**:3250–6.
- ARJMANDI, B.H., KHAN, D.A., JUMA, S., DRUM, M., VENKATESH, S., SOHN, E. (1998). Whole flaxseed consumption lowers serum LDL-cholesterol and lipoprotein (a) concentrations in postmenopausal women. *Nutr. Res.* **18(7)**: 1203-1214 .
- AUSTRIA, J.A., RICHARD, M.N., CHAHINE, M.N., EDEL, A.L., MALCOLMSON, L.J., DUPASQUIER, C.M., PIERCE, G.N. (2008). Bioavailability of alpha-linolenic acid in subjects after ingestion of three different forms of flaxseed. *J. Am. Coll. Nutr.* **27(2)**: 214-221.
- AVOGARO A., KREUTZENBERG S.V., FADİNİ G. (2008). Endothelial dysfunction: Causes and consequences in patients with diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice* **82**: 94-101
- BALESTRIERI, M.L., RIENZO, M., FELICE, F., ROSSIELLO, R., GRIMALDI V., MILONE L. (2008). High glucose downregulates endothelial progenitor cell number via SIRT1. *Biochim. Biophys. Acta.* **1784**: 936–945.
- BARCELÓ-COBLIJN, G., MURPHY, E.J., OTHMAN, R., MOGHADASIAN, M.H., KASHOUR, T., FRIEL, J.K. (2008). Flaxseed oil and fish-oil capsule consumption alters human red blood cell *n*-3 fatty acid composition: a multiple-dosing trial comparing 2 sources of *n*-3 fatty acid. *Am. J. Clin. Nutr.* **88(3)**: 801-809.
- BARON, A.D. (1994). Hemodynamic actions of insulin. *Am J Physiol.* **267**:E187–E202.
- BECKMAN, J.S., BECKMAN, T.W., CHEN, J., MARSHALL, P.A., FREEMAN, B.A. (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for

- endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA*. **87**:1620–1624.
- BEISSWENGER, P.J., MAKITA, Z., CURPHEY, T.J., MOORE, L.L., JEAN, S., BRINCK-JOHNSON, T., BUCALA, R., VLASSARA, H. (1995). Formation of immunochemical advanced glycosylation end products precedes and correlates with early manifestations of renal and retinal disease in diabetes. *Diabetes*. **44**:824–829.
- BEMELMANS, W.J., LEFRANDT, J.D., FESKENS, E.J. (2004). Increased alpha-linolenic acid intake lowers C-reactive protein, but has no effect on markers of atherosclerosis. *Eur J Clin Nutr*. **58**:1083-1089.
- BERRY, E.M., HIRSCH, J. (1986). Does dietary linolenic acid influence blood pressure? *Am J Clin Nutr*. **44**:336-340.
- BHATHENA, S.J., ALI, A.A., HAUDENSCHILD, C., LATHAM, P., RANICH, T., MOHAMED, A.I. (2003). Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hypertriglyceridemia and steatosis of the liver in an animal model of obesity. *Journal of the American College of Nutrition*, **22**(2): 157-164.
- BIERENBAUM, M.L., REICHSTEIN, R., WATKINS, T.R. (1993). Reducing atherogenic risk in hyperlipemic humans with flax seed supplementation: a preliminary report. *J Am Coll Nutr*. **12**:501-504.
- BIERHAUS, A., CHEVION, S., CHEVION, M., HOFAMANN, M., QUEHENBERGER, P., ILLMER, T., LUTHER, T., BERENTSHEIN, E., TRITSCHLER, H., MULLER, M., WAHL, P., ZIEGLER R., NAWROTH, P.P. (1997). Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappaB is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. *Diabetes*. **46**: 1481–1490.
- BLOEDON, L.T., BALIKAI, S., CHITTAMS, J., CUNNANE, S.C., BERLIN, J.A., RADER, D.J., SZAPARY, P.O. (2008). Flaxseed and cardiovascular risk factors: results from a double blind, randomized, controlled clinical trial. *J. Am. Coll. Nutr*. **27**(1): 65-74.
- BORCEA, V. MORCOS, M. ISERMANN, B. HENKELS, M. ZIEGLER, S. ZUMBACH, M. AMIRAL, J. LANGST, K.D. SEIZ, W. ZIEGLER, R. WAHL, P. NAWROTH, P.P. (1999a). Influence of ramipril on the course of plasma thrombomodulin in patients with diabetes mellitus. *VASA*. **28**(3): 172–180.
- BORCEA, V. NOUROOZ-ZADEH, J. WOLF, S.P. ZUMBACH, M. HOFMANN, M. ULRICH, H. WAHL, P. ZIEGLER R., TRITSCHLER, H. HALLIWELL, B. NAWROTH, P.P. (1999b). α -Lipoic acid decreases oxidative stress even in diabetic patients with poor glycemic control and albuminuria, *Free Radic. Biol. Med.* **26**(11-12) 1495–500.
- BROWNLEE, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, **414**:813–820.
- BROWNLEE, M. (1996). Advanced glycation end products in diabetic complications. *Curr. Opin. Endocrin. Diab.* **3**: 291–297.

- BUCCIARELLI, L.G., WENDT, T., QU, W., LU, Y., LALLA, E., RONG, L.L. ve ark. (2002). RAGE blockade stabilizes established atherosclerosis in diabetic apolipoprotein E-null mice. *Circulation*. **106**: 2827–2835.
- CAMERON, N.E., COTTER, M.A. (1992). Impaired contraction and relaxation in aorta from streptozotocin-diabetic rats: role of polyol pathway. *Diabetologia*. **35**:1011–1019.
- CAMERON, N.E., COTTER, M.A., ARCHIBALD, V., DINES, K.C., MAXFIELD E.K. (1994). Anti-oxidant and pro-oxidant effects on nerve conduction velocity, endoneurial blood flow and oxygen tension in non-diabetic and streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*. **37**:449–459.
- CAMERON, N.E., COTTER, M.A. (1999). Effects of antioxidants on nerve and vascular dysfunction in experimental diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **45**: 137–146.
- CAUGHEY, G.E., MANTZIORIS, E., GIBSON, R.A. (1996). The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am J Clin Nutr*. **63**:116-122.
- CELERMAJER, D.S., SORENSEN, K.E., GEORGAKOPOULOS, D., BULL, C., THOMAS, O., ROBINSON, J. (1993). Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilatation in healthy young adults. *Circulation*. **88**: 2149–2155.
- CELERMAJER, D.S., SORENSEN, K.E., SPIEGELHALTER, D.J., GEORGAKOPOULOS, D., ROBINSON, J., DEANFIELD J.E. (1994a). Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J. Am. Coll. Cardiol*. **24**: 471–476.
- CELERMAJER, D.S., SORENSEN, K.E., BULL, C., ROBINSON, J., DEANFIELD, S.E. (1994b). Endothelium-dependent dilatation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J. Am. Coll. Cardiol*. **24**:1465–1474.
- CERIELLO, A. (2000). Oxidative stress and glycemic regulation. *Metabolism*. **49**: 27–29.
- CERIELLO, A. RUSSO, P.D., AMSTAD, P., CERUTTI, P. (1996). High glucose induces antioxidant enzymes in human endothelial cells in culture. *Diabetes*. **45**: 471–477.
- CHANNON, K.M., GUZIK, T.J., (2002). Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *Journal of Physiology and Pharmacology*. **53**: 515-524.

- CHAPPEY, O., DOSQUET, C., WAUTIER, M.P., WAUTIER, J.L. (1997). Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *Eur. J. Clin. Invest.* **27**: 97–108.
- CHIARELLI, F. CIPOLLONE, F. MOHN, A. MARINI, M. IEZZI, A. FAZIA M. ve ark. (2002). Circulating monocyte chemoattractant protein-1 and early development of nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* **25**: 1829–1834.
- CHISOLM, G.M., STEINBERG D. (2000). The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic. Biol. Med.* **28**: 1815–1826.
- CHOWIENCZYK, P.J., WATTS, G.F., COCKCROFT, R.J., RITTER J.M. (1992). Impaired endothelium-dependent vasodilatation of forearm resistance vessels in hypercholesterolaemia *Lancet*, **340**: 1430–1432.
- CLARK, W.F., PARBTANI, A., HUFF, E. (1995). Flaxseed: a potential treatment for lupus nephritis. *Kidney Int.* **48**: 475-480.
- CLARK, W.F., KORTAS, C., HEIDENHEIM, A.P. (2001). Flaxseed in lupus nephritis: A two-year nonplacebo-controlled crossover study. *J Am Coll Nutr.* **20**: 143–8.
- CLARKSON, P., CELERMAJER, D.S., POWE, A.J., DONALD, A.E., HENRY, R.M.A., DEANFIELD, J.E. (1997). Endothelium-dependent dilatation is impaired in young healthy subjects with a family history of premature coronary disease *Circulation*, **96**: 3378–3383
- COOKE, J.P., TSAO, P.S. (1994). Is NO and endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler. Thromb.* **14**: 653–655.
- COX, C.P., WOOD, K.L. (1987). Selective antagonism of platelet-activating factor (PAF)-induced aggregation and secretion of washed rabbit platelets by CV-3988, L-652731, triazolam and alphazolam. *Thromb Res* **47**: 249-257.
- CRAWFORD, T.N., ALFARO, D.V., KERRISON, J.B., JABLON, E.P. (2009). Diabetic retinopathy and angiogenesis. *Current Diabetes Reviews.* **5**: 8-13.
- CREAGER, M.A., COOKE, J.P., MENDELSON, M.E., GOLAGLER, S.J., COLEMAN, S.M., LOSCALZO, J. (1990). Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolaemic humans. *J. Clin. Invest.* **86**: 228–234.
- CUNNANE, S.C., GANGULI, S., MENARD, C. (1993). High alpha-linolenic acid flaxseed (*Linum usitatissimum*): some nutritional properties in humans. *Br J Nutr.* **69**: 443-453.
- CUNNANE, S.C., HAMADEH, M.J., LIEDE, A.C., THOMPSON, L.U., WOLEVER, T.M., JENKINS, D.J. (1995). Nutritional attributes of traditional flaxseed in healthy young adults. *Am. J. Clin. Nutr.* **61(1)**: 62-68.

- CURTIS, T.M., SCHOLFIELD, C.N. (2004). The role of lipids and protein kinase Cs in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diab. Metab. Res. Rev.* **20**: 28–43.
- DAS, U.N. (2005). A defect in the activity of $\Delta 6$ and $\Delta 5$ desaturases may be a factor predisposing to the development of insulin resistance syndrome. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* **72**:343–50.
- DAVIS, H.R, BRIDENSTINE, R.T., VESSELINOVITCH D, (1987). Fish oil inhibits development of atherosclerosis in rhesus monkeys. *Arteriosclerosis.* **7**:441-449.
- DE SEREDAY, M., GONZALEZ, C., GIORGINI, D., DeLOREDO, B.J., COBENAS, C., TEBONE, C., LIBMAN, C. (2004). Prevalence of diabetes, obesity, hypertension and hyperlipidemia in the central area of Argentina. *Diabetes Metab.* **30**: 335-339.
- DE VRIESE, A.S., VERBEUREN, T.J., VAN DE VOORDE, J., LAMEIRE, N.H., VANHOUTTE, P.M. (2000). Endothelial dysfunction in diabetes Br. J. Pharmacol., 130 pp. 963–974.
- DEEDWANIA, P.C., (2004). Diabetes is a vascular disease: the role of endothelial dysfunction in pathophysiology of cardiovascular disease in diabetes. *Cardiology Clinics.* **22**: 505-509.
- DELBOSC, S., PAIZANIS E., MAGOUS, R. (2005). Involvement of oxidative stress and NADPH oxidase activation in the development of cardiovascular complications in a model of insulin resistance, the fructose-fed rat. *Atherosclerosis.* **179**: 43–49.
- DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIALS (DCCT) RESEARCH GROUP, (1993). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* **329**: 977–986.
- DIEDERICH, D., SKOPEC, J., DIEDERICH, A., DAI, F.X. (1994). Endothelial dysfunction in mesenteric resistance arteries of diabetic rats role of free radicals. *Am. J. Physiol.*, **266**: H1153–H1161.
- DJOUSSÉ, L., ARNETT, D.K., CARR, J.J., ECKFELDT, J.H., HOPKINS, P.N., PROVINCE, M.A., ELLISON, R.C., Investigators of the NHLBI FHS. (2005). Dietary linolenic acid is inversely associated with calcified atherosclerotic plaque in the coronary arteries: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Circulation.* **111(22)**: 2921-2926.
- DJOUSSÉ, L., FOLSOM, A.R., PROVINCE, M.A., HUNT, S.C., ELLISON, R.C. (2003). Dietary linolenic acid and carotid atherosclerosis: The NHLBI Family Heart Study. *Am J Clin Nutr.* **77**:819–25.
- DJOUSSÉ, L., HUNT, S.C., ARNETT, D.K. (2003). Dietary linolenic acid is inversely associated with plasma triacylglycerol: The NHLBI Family Heart Study. *Am J Clin Nutr.* **78**:1098–102.
- DODIN, S., CUNNANE, S.C., MÂSSE, B., LEMAY, A., JACQUES, H., ASSELIN, G. (2008). Flaxseed on cardiovascular disease markers in healthy menopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition.* **24(1)**: 23-30.

- DU, X. L., EDELSTEIN, D., ROSSETTI, L., FANTUS, I. G., GOLDBERG, H., ZIYADEH, F., (2000). Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc Nat Acad Sci USA*. **97(22)**: 12222–12226.
- DUPASQUIER, C.M., WEBER, A.M., ANDER, B.P., RAMPERSAD, P.P., STEIGERWALD, S., WIGLE, J.T. (2006). Effects of dietary flaxseed on vascular contractile function and atherosclerosis during prolonged hypercholesterolemia in rabbits. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **291(6)**: H2987-H2996.
- DUPASQUIER, C.M., DIBROV, E., KNEESH, A.L., CHEUNG, P.K., LEE, K.G., ALEXANDER, H.K. (2007). Dietary flaxseed inhibits atherosclerosis in the LDL receptor-deficient mouse in part through antiproliferative and anti-inflammatory actions. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **293**: H2394-H2402.
- DUPASQUIER, C.M., WEBER, A.M., ANDER, B.P., RAMPERSAD, P.P., STEIGERWALD, S., WIGLE, J.T., (2009). Effects of the flaxseed lignans secoisolariciresinol diglucoside and its aglycone on serum and hepatic lipids in hyperlipidaemic rats. *British Journal of Nutrition*. **102(3)**: 361-369.
- EL NAGGAR, E.M.B., BARTOSIKOVA, L., ZEMLICKA, M., SVAJDLENKA, E., RABISKOVA, M., STRNADOVA, V. (2005). Antidiabetic effect of *Cleome droserifolia* aerial parts: Lipid peroxidation-induced oxidative stress in diabetic rats. *Acta Vet. Brno*. **74**: 347-352.
- EVANS, J.L., GOLDFINE, I.D., MADDUX, B.A., GRODSKY, G.M. (2002). Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr. Rev.* **23**: 599–622.
- EVANS, J.L., GOLDFINE, I.D., MADDUX, B.A., GRODSKY G.M. (2003). Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes*. **52**: 1–8.
- FAINTUCH, J., HORIE, L.M., BARBEIRO, H.V. (2007). Systemic inflammation in morbidly obese subjects: Response to oral supplementation with alpha-linolenic acid. *Obes Surg*. **17**: 341–7.
- FERRI, C., BELLINI, C., DESIDERI, G., DI FRANCESCO, L., BALDONCINI, R., SANTUCCI, A., DE MATTIA, G. (1995). Plasma endothelin-1 levels in obese hypertensive and normotensive men. *Diabetes*. **44**: 431–436.
- FISHER, M., UPCHURCH, K.S., LEVINE, P.H. (1986). Effects of dietary fish oil supplementation on polymorphonuclear leukocyte inflammatory potential. *Inflammation*. **10**: 387-392.
- FISHER, M., LEVINE, P.H., WEINER, B.H. (1990). Dietary n-3 fatty acid supplementation reduces superoxide production and chemiluminescence in a monocyte-enriched preparation of leukocytes. *Am J Clin Nutr*. **51**: 804-808.

- FORESTON, W.C., TEDESCO, F.J., STARNES, E.C. (1985). Marked elevation of serum transaminase activity associated with extrahepatic biliary tract disease. *Journal of Clinical Gastroenterology*. **76**: 502-505.
- FOSSUM, E., HØIEGGEN, A., MOAN, A., ROSTRUP, M., NORDBY, G., KJELDSEN, S.E. (1998). Relationship between insulin sensitivity and maximal forearm blood flow in young men. *Hypertension*. **32**: 838-843.
- FOTI, M., PIATELLI, M., BARATTA, M.T. (1996). Flavonoids, coumarins, and cinnamic acids as antioxidants in micellar system: structure activity relationship. *J Agric Food Chem*. **44**: 497-501.
- FREEMAN, T.P. (1995). Structure of flaxseed. In: *Flaxseed in Human Nutrition*, Eds: pp S.C., Cunnane, L.H., Thompson. AOCS Pres, Champaign, p:11-21.
- FREESE, R., MUTANEN, M. (1997). Alpha-linolenic acid and marine long-chain n-3 fatty acids differ only slightly in their effects on hemostatic factors in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*. **66**:591-598.
- FUKUMITSU, S., AIDA, K., UENO, N. (2008). Flaxseed lignan attenuates high-fat diet-induced fat accumulation and induces adiponectin expression in mice. *Br J Nutr*. **100**: 669-676.
- FURCHIGOTT, R.F., ZAWADZKI, J.V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. **288**: 373-376.
- GABBAY, K.H. (1973). The sorbitol pathway and the complications of diabetes. *N Engl J Med*. **288**: 831-836.
- GABRIELE, A., KING, G.L. (2001). Protein kinase C inhibitors in the treatment and prevention of diabetic complications. *Curr Opin Endocrinol Diabet*, **8**: 197-204.
- GEBAUER, S.K., PSOTA, T.L., HARRIS, W.S., KRIS-ETHERTON, P.M. (2006). n-3 fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits. *Am. J. Clin. Nutr*. **83(6)**: 1526S-1535S.
- GILLERY, P., MONBOISSE JC, MACUART, F.X. BOREL. J.P. (1989). Does Oxygen Free radical increased formation explain long term complications of diabetes mellitus? *Med Hypothesis*. **29(1)**: 47-50.
- GIUGLIANO, D., CREIELLO, A., PAOLISSO, G. (1995). Diabetes mellitus hypertension, and cardiovascular disease: which role for oxidative stress? *Metabolism*. **44**: 363-368.
- GIUGLIANO, D., CERIELLO, A., PAOLISSO, G. (1996). Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*, **19**: 257-267.
- GLEISSNER C. A., GALKINA E., NADLER J.L., LEY K. (2007). Mechanisms by which diabetes increases cardiovascular disease. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* vol 4, no 3: 131-140.
- GRYGLEWSKI, R.J., PALMER, R.M.J., MONCADA, S. (1986). Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* **320**: 454-456.

- GUZIK, T.J., MUSSA, S., GASTALDI, D., SADOWSKI, J., RATNATUNGA, C., PILLAI, R. (2002). Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. **105**: 1656–1662.
- HALIGA, R., MOCANU, V., OBOROCEANU, T. (2007). The effects of dietary flaxseed supplementation on lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic hamsters. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. **111**:472-476.
- HALLUND, J., RAVN-HAREN, G., BUGEL, S. (2006). A lignan complex isolated from flaxseed does not affect plasma lipid concentrations or antioxidant capacity in healthy postmenopausal women. *J Nutr*. **136**:112-116.
- HALLUND, J., TETENS, I., BUGEL, S., THOLSTRUP, T., BRUUN, J.M. (2008). The effect of a lignan complex isolated from flaxseed on inflammation markers in healthy postmenopausal women. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis*. **18(7)**: 497-502.
- HALUSHKA, P.V., DOLLERY, C.T., MacDERMOT, J. (1983). Tromboxane and prostacyclin in disease: a review, *Q. J. Med*. **208**: 461-470.
- HARPER, C.R., EDWARDS, M.C., JACOBSON, T.A. (2006a). Flaxseed oil supplementation does not affect plasma lipoprotein concentration or particle size in human subjects. *J. Nutr*. **136(11)**: 2844-2848.
- HARPER, C.R., EDWARDS, M.J., DEFILIPPIS, A.P., JACOBSON, T.A. (2006b). Flaxseed oil increases the plasma concentrations of cardioprotective (*n*-3) fatty acids in humans. *J. Nutr*. **136(1)**: 83-87.
- HATTORI, Y., KAWASAKI, H., ABE, K., KANO, M. (1991). Superoxide dismutase recovers altered endothelium-dependent relaxation in diabetic rat aorta. *Am. J. Physiol*. **261**: H1086–H1094.
- HEATH, H., BRIDGEN, W.D., CANEVER, J.V. (1971). Platelet adhesiveness and aggregation in relation to diabetic retinopathy, *Diabetologia*. **7**: 308-315.
- HETTIARACHCHY, N.S., HARELAND, G.A., OSTENSON, A. ve ark. (1990). Chemical composition of 11 flaxseed varieties grown in North Dakota. *Proc Flax Institute*. **53**:36.
- HINZ, B., BRUNE, K., (2002). Cyclooxygenase-2 – 10 years later. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. **300**: 367-375.
- HOGIKYAN, R.V., GALECKI, A.T., PITT, B., HALTER, J.B., GREENE, D.A., SUPIANO, M.A. (1998). Specific impairment of endothelium-dependent vasodilation in subjects with type 2 diabetes independent of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. **83**:1946–1952.
- HULTCRANTZ, R., GLAUMANN, H., LINDBERG, G. (1986). Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. **21**: 109-113.
- INOGUCHI, T., BATTAN, R., HANDLER, E., SPORTSMAN, J.R., HEATH, W., KING, G.L. (1992). Preferential elevation of protein kinase C isoform beta II and

- diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rats: differential reversibility to glycemic control by islet cell transplantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **89(22)**: 11059–11063.
- ISHII, H., KOYA, D., KING, G.L. (1998). Protein kinase C activation and its role in the development of vascular complications in diabetes mellitus. *J. Mol. Med.* **76(1)**: 21–31.
- ISHII, H., JIROUSEK, M.R., KOYA, D., TAKAGI, C., XIA, P. CLERMONT, A. (1996). Amelioration of vascular dysfunctions in diabetic rats by an oral PKC beta inhibitor. *Science*, **272**: 728–731.
- KARI J.A., DONALD A.E., VALLANCE D.T., BRUCKDORFER K.R., LEONE A., MULLEN M.J. (1997). Physiology and biochemistry of endothelial function in children with chronic renal failure. *Kid. Int.* **52**: 468–472.
- JAY, D. HITOMI, H. GRIENGLING K.K. (2006). Oxidative stress and diabetic cardiovascular complications. *Free Radic. Biol. Med.* **40**:183–192.
- JENKINS, D.J., KENDALL, C.W., VIDGEN, E., AGARWAL, S., RAO, A.V., ROSENBERG, R.S. (1999). Health aspects of partially defatted flaxseed, including effects on serum lipids, oxidative measures, and ex vivo androgen and progesterin activity: a controlled crossover trial. *Am. J. Clin. Nutr.* **69(3)**: 395-402.
- JOHNSTONE, M.T., CREAGER, S.J., SEALES, K.M., CUSCO, J.A., LEE, B.K., CREAGER M.A. (1993). Impaired endothelium-dependent vasodilatation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*, **88**: 2510–2516.
- KAASGAARD, S.G., HOLMER, S.G., HOY, C.E. (1992). Effects of dietary linseed oil and marine oil on lipid peroxidation in monkey liver in vivo and in vitro. *Lipids*. **27**:740-745.
- KAMATA, K., KOBAYASHI, T. (1996). Changes in superoxide dismutase mRNA expression by streptozotocin-induced diabetes. *British Journal of Pharmacology* **119**: 583-589.
- KANETO, H., XU, G., SONG, K. H., SUZUMA, K., BONNER-WEIR, S., SHARMA, A., (2001). Activation of the hexosamine pathway leads to deterioration of pancreatic beta-cell function through the induction of oxidative stress. *J. Biol. Chem.* **276(33)**: 31099–31104.
- KAUL, N., KREML, R., AUSTRIA, J.A., RICHARD, M.N., EDEL, A.L., DIBROV, E. (2008). A comparison of fish oil, flaxseed oil and hempseed oil supplementation on selected parameters of cardiovascular health in healthy volunteers. *J. Am. Coll. Nutr.* **27(1)**: 51-58.

- KAWANO, H., MOTOYAMA, T., HIRASHIMA, O., HIRAI, N., MIYAO, Y., SAKAMOTO, T., KUGIYAMA, K., OGAWA, H., YASUE, H. (1999). Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol.* **34**: 146–154.
- KEEGAN, A., COTTER, M.A., CAMERON, N.E. (1999). Effects of diabetes and treatment with the antioxidant alpha-lipoic acid on endothelial and neurogenic responses of corpus cavernosum in rats. *Diabetologia.* **42**: 343–350.
- KELLEY, D.S., NELSON, G.J., LOVE, J.E. (1993). Dietary alpha-linolenic acid alters tissue fatty acid composition, but not blood lipids, lipoproteins or coagulation status in humans. *Lipids.* **28**: 533-537.
- KESTIN, M., CLIFTON, P., BELLING, G.B. (1990). n-3 fatty acids of marine origin lower systolic blood pressure and triglycerides but raise LDL cholesterol compared with n-3 and n-6 fatty acids from plants. *Am J Clin Nutr.* **51**: 1028-1034.
- KEW, S., BANERJEE, T, MINIHANE, A.M. (2003). Lack of effect of food enriched with plant- or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function. *Am J Clin Nutr.* **77**: 1287-1295.
- KIM, Y.K., LEE, M.S., SON, S.M., KIM, I.J., LEE, W.S., RHIM B.Y (2002). Vascular NADH oxidase is involved in impaired endothelium-dependent vasodilation in OLETF rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes.* **51**: 522–527.
- KLEIN-PLATAT, C., DRAI, J., OUJAA, M., SCHLIENGER, J.L., SIMON, C. (2005). Plasma fatty acid composition is associated with the metabolic syndrome and low-grade inflammation in overweight adolescents. *Am J Clin Nutr.* **82**: 1178–84.
- KOLM-LITTY, V., SAUER, U., NERLICH, A., LEHMANN, R., & SCHLEICHER, E. D. (1998). High glucose-induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *J. Clin. Investig.* **101(1)**: 160–169.
- KOSSENJANS, W., EIS, A., SAHAY, R., BROCKMAN, D., MYATT L. (2000). Role of peroxynitrite in altered fetal-placental vascular reactivity in diabetes or preeclampsia. *Am. J. Physiol., Heart Circ. Physiol.* **278(4)**: H1311–H1319.
- KRITCHEVSKY, D., TEPPER, S.A., KLURFELD, D.M. (1991). Influence of flaxseed on serum and liver lipids in rats. *J Nutr Biochem.* **2**: 133-134.
- KUBISCH, H.M., WANG, J., LUCHE, R., CARLSON, E., BRAY, T.M., EPSTEIN, C.J., PHILLIPS, J.P. (1994). Transgenic copper/zinc superoxide dismutase modulates susceptibility to type I diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA.* **91(21)**: 9956–9959.
- L'ABBE, M.R., TRICK, K.D., BEARE-ROGERS, J.L. (1991). Dietary (n-3) fatty acids affect rat heart, liver and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J Nutr.* **121**: 1331-1340.
- LAIGHT, D.W., CARRIER, M.J., ANGGARD, E.E. (2000). Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction. *Cardiovasc. Res.* **47**: 457-464.

- LEE P, PRASAD K. (2003). Effects of flaxseed oil on serum lipids and atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol Therapeut.* **8**: 227-235.
- LEE, T.H., HOOVER, R.L., WILLIAMS, J.D. (1985). Effect of dietary enrichment with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *N Engl J Med.* **312**: 1217-1224.
- LEMAY, A., DODIN, S., KADRI, N., JACQUES, H., FOREST, J.C. (2002). Flaxseed dietary supplement versus hormone replacement therapy in hypercholesterolemic menopausal women. *Obstet Gynecol.* **100**: 495-504.
- LIEBERMAN, E.H., GERHARD, M.D., UEHATA, A., WALSH, B.W., SELWYN, A.P., GANZ P. (1994). Estrogen improves endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in postmenopausal women. *Ann. Intern. Med.* **121**: 936-94.
- LIKE, A.A., ROSSINI, A. (1976). Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: New model of diabetes mellitus. *Science* **193**: 415-417.
- LIUZZO, G., BIASUCCI, L.M., GALLIMORE, J.R. (1994). The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med.* **331**: 417-24.
- LUCAS, E.A., LIGHTFOOT, S.A., HAMMOND, L.J., DEVAREDDY, L., KHALIL, D.A., DAGGY, B.P. (2004). Flaxseed reduces plasma cholesterol and atherosclerotic lesion formation in ovariectomized Golden Syrian hamsters. *Atherosclerosis.* **173(2)**: 223-229.
- LUCAS, E.A., WILD, R.D., HAMMOND, L.J., KHALIL, D.A., JUMA, S., DAGGY, B.P. (2002). Flaxseed improves lipid profile without altering biomarkers of bone metabolism in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **87(4)**: 1527-1532.
- LUND, D.D., FARACI, F.M., MILLER, F.J., HEISTAD. D.D. (2000). Gene transfer of endothelial nitric oxide synthase improves relaxation of carotid arteries from diabetic rabbits. *Circulation.* **101**:1027-1033.
- LUPIEN, P.J., MOORJANI, S., BRUN, D. (1979). Effects of 3-hydroxy-3-methylglutaric acid on plasma and low-density lipoprotein cholesterol levels in familial hypercholesterolemia. *J Clin Pharmacol.* **19**:120-126.
- LUSCHER, T.F., BARTON, M. (1997). Biology of the endothelium. *Clin. Cardiol.* **20**: II-3 – II-10.
- MAJITHIYA, J.B., PARMAR, A.N., BALARAMAN, R. (2005). Pioglitazone, a PPAR γ agonist restores endothelial function in aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovascular Research.* **66**: 150-161.
- MAKNI, M., FETOULH., GARGOURI, N.K., GAROUI, E.M., ZEGHAL, N. (2010). Antidiabetic effect of flax and pumpkin seed mixture powder: effect on hyperlipidemia and antioxidant status in alloxan diabetic rats. *Journal of Diabetes and Its Complications.* **25(5)**: 339-345.

- MANDASESCU, S., MOCANU, V., DASCALITA, A.M., (2005). Flaxseed supplementation in hyperlipidemic patients. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. **109**: 502-506.
- MAYNE, E.C., BRIDGES, J.M., WEAVER, J.A. (1970). Platelet adhesiveness, platelet fibrinogen, and factor VIII levels in diabetes mellitus, *Diabetologia*. **36**: 978-981.
- MEZZETTI, A., CIPOLLONE, F., CUCCURULLO F. (2000). Oxidative stress and cardiovascular complications in diabetes: isoprostanes as new markers on an old paradigm. *Cardiovasc. Res*. **47**: 475-488.
- MILSTIEN, S., KATUSIC, Z. (1999). Oxidation of tetrahydrobiopterin by peroxynitrite: implications for vascular endothelial function. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. **263**: 681-684
- MOKINI, Z. CHIARELLI F. (2006). The molecular basis of diabetic microangiopathy *Pediatr. Endocrinol. Rev*. **4**: 138-152.
- MOKINI Z., MARCOVECCHIO M.L., CHIARELLI F. (2010) Molecular pathology of oxidative stress in diabetic angiopathy: Role of mitochondrial and cellular pathways *Diabetes Research and Clinical Practice* **87**: 313-321
- MONCADA, S., HIGGS, E.A. (1986). Arachidonate metabolism in blood cells and the vessel wall. *Clin. Haematol*. **15**: 273-292.
- MONCADA, S., PALMER, R.M.J., HIGGS, E.A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev*. **43**: 109-142.
- MONCADA, S., RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M. (1988). Endothelium-derived relaxing factor. Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochem. Pharmacol*. **37**: 2495-2501.
- MONNIER, L., MAS, E., GINET, C. (2006). Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA*. **295**:1681-1687.
- NELSON, T.L., STEVENS, J.R., HICKEY, M.S. (2007). Inflammatory markers are not altered by an eight week dietary [alpha]-linolenic acid intervention in healthy abdominally obese adult males and females. *Cytokine*. **38**:101-106.
- NESTEL, P.J., POMEROY, S.E., SASAHARA, T., YAMASHITA, T., LIANG, Y.L., DART, A.M. (1997). Arterial compliance in obese subjects is improved with dietary plant n-3 fatty acid from flaxseed oil despite increased LDL oxidizability. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. **17**: 1163-1170.
- NIEUWDORP, M., HAEFTEN, T.W., GOUVERNEUR, M.C., MOOIJ, H.L., LIESHOUT, M.H., LEVI, M., MEIJERS, J.C., HOLLEMAN, F., HOEKSTRA, J.B., VINK, H. (2006). Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo. *Diabetes*. **55**:480-486.
- OOMAH, B.D., (2001). Flaxseed as a functional food source. *Journal of the Science of Food and Agricultural*. **81(9)**: 889-894.

- OOMAH, B.D., MAZZA, G. (1990). Flaxseed proteins: a review. *Food Chem.* **48**: 109-114.
- PANAGIOTAKOS, D.B., PITSAVOS, C., CHRYSOHOOU, C., SKOUMAS, I., STEFANADIS, C. (2008). Five-year incidence of cardiovascular disease and its predictors in Greece: The ATTICA study. *Vasc Med.* **13**: 113–21.
- PANZA, J.A., QUYYUMI, A.A., BRUSH, J.E., EPSTEIN S.E. (1990). Abnormal endothelium dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N. Eng. J. Med.* **323**: 27–36.
- PAPAHARALAMBUS, C.A., GRIENGLING, K.K. (2007). Basic mechanisms of oxidative stress and reactive oxygen species in cardiovascular injury. *Trends Cardiovasc. Med.* **17**: 48–54.
- PARK, J.Y., HA, S.W., KING G.L. (1999). The role of protein kinase C activation in the pathogenesis of diabetic vascular complications. *Perit. Dial. Int.* **19**(2): S222–S227
- PASCHOS, G., RALLIDIS, L.S., LIAKOS, G.K. (2004). Background diet influences the anti-inflammatory effect of alpha-linolenic acid in dyslipidaemic patients. *Br J Nutr.* **92**: 649-655.
- PASCHOS, G.K., YIANNAKOURIS, N., RALLIDIS, L.S. (2005). Apolipoprotein E genotype in dyslipidemic patients and response of blood lipids and inflammatory markers to alpha-linolenic acid. *Angiology.* **56**: 49-60.
- PASCHOS, G.K., MAGKOS, F., PANAGIOTAKOS, D.B., VOTTEAS, V., ZAMPELAS, A. (2007). Dietary supplementation with flaxseed oil lowers blood pressure in dyslipidaemic patients. *Eur. J. Clin. Nutr.* **61**(10): 1201-1206.
- PASCHOS, G.K., ZAMPELAS, A., PANAGIOTAKIS, D.B. (2007). Effects of flaxseed oil supplementation on plasma adiponectin levels in dyslipidemic men. *Eur J Nutr.* **46**: 315-320.
- PATADE, A., DEVAREDDY, L., LUCAS, E.A. (2008). Flaxseed reduces total and LDL cholesterol concentrations in Native American postmenopausal women. *J Womens Health.* B355-366.
- PATENAUDE, A., RODRIGUEZ-LEYVA, D., EDEL, A.L. (2009). Bioavailability of alpha linolenic acid from flaxseed diets as a function of the age of the subject. *Eur J Clin Nutr.* **63**: 123–9.
- PENUMATHSA, S.V., KONERU, S., THIRUNAVUKKARASU, M. (2007). Secoisolariciresinol diglucoside: relevance to angiogenesis and cardioprotection against ischemia-reperfusion injury. *J Pharmacol Exp Ther.* **320**: 51-959.
- PENUMATHSA, S.V., KONERU, S., ZHAN, L. (2008). Secoisolariciresinol diglucoside induces neovascularization-mediated cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in hypercholesterolemic myocardium. *J Mol Cell Cardiol.* **44**: 70-179.
- PRASAD, K. (1997). Dietary flaxseed in prevention of hypercholesterolemic atherosclerosis. *Atherosclerosis.* **132**: 9-76.

- PRASAD, K. (1997). Hydroxyl radical-scavenging property of secoisolariciresinol diglucoside (SDG) isolated from flaxseed. *Mol Cell Biochem.* **168**: 17-123.
- PRASAD, K. (1999). Reduction of serum cholesterol and hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits by secoisolariciresinol diglucoside (SDG) isolated from flaxseed. *Circulation.* **99**: 355-1362.
- PRASAD, K. (2000). Antioxidant activity of secoisolariciresinol diglucoside-derived metabolites, secoisolariciresinol, enterodiol, and enterolactone. *Int J Angiol.* **9**: 20-225.
- PRASAD, K. (2000). Oxidative stress as a mechanism of diabetes in diabetic BB prone rats: Effect of secoisolariciresinol diglucoside (SDG). *Mol Cell Biochem.* **209**: 9-96.
- PRASAD, K. (2004). Antihypertensive activity of secoisolariciresinol diglucoside (SDG) isolated from flaxseed: role of guanylate cyclase. *Int J Angiol.* **13**: 7-14.
- PRASAD, K. (2005). Hypocholesterolemic and antiatherosclerotic effect of flax lignan complex isolated from flaxseed. *Atherosclerosis.* **179(2)**: 269-275.
- PRASAD, K. (2007). A study on regression of hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits by flax lignan complex. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* **12**: 304-313.
- PRASAD, K. (2008). Regression of hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits by secoisolariciresinol diglucoside isolated from flaxseed. *Atherosclerosis.* **197**: 34-42.
- PRASAD, K. (2009). Flax lignan complex slows down the progression of atherosclerosis in hyperlipidemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* **14**: 38-48
- PRASAD, K., KALRA, J. (1993). Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherosclerosis: effect of vitamin E. *Am Heart J.* **125**: 958-973
- PRASAD, K., MANTHA, S.V., MUIR, A.D., WESTCOTT, N.D. (1998). Reduction of hypercholesterolemic atherosclerosis by CDC-flaxseed with very low alpha-linolenic acid. *Atherosclerosis.* **136(2)**: 367-375.
- PURVES, T., MIDDLEMAS, A., AGTHONG, S., JUDE, E.B., BOULTON, A.J., FERNYHOUGH, P., TOMLINSON D.R. (2001). A role for mitogen-activated protein kinases in the etiology of diabetic neuropathy. *FASEB J.* **15(13)**: 2508-2514.
- RALLIDIS, L.S., PASCHOS, G., LIAKOS, G.K. (2003). Dietary alpha-linolenic acid decreases C-reactive protein, serum amyloid A and interleukin-6 in dyslipidaemic patients. *Atherosclerosis.* **167**:237-242.
- RAMAPRASAD, T.R., BASKARAN, V., KRISHNAKANTHA, T.P. (2005). Modulation of antioxidant enzyme activities, platelet aggregation and serum prostaglandins in rats fed spray-dried milk containing n-3 fatty acid. *Mol Cell Biochem.* **280**:9-16.
- RANHOTRA, G.S., GELROTH, J.A., GLASER, B.K., (1993). Lipidemic responses in rats fed flaxseed oil and meal. *Cereal Chem.* **70**: 364-366.

- RATNAM D.V, ANKOLA D.D., BHARDWAJ V., SAHANA D.K., KUMAR R.M.N.V. (2006) Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective *Journal of Controlled Release* **113**: 189–207
- RATNAYAKE, W.M.N., BEHRENS, W.A., FISCHER, P.W.F. (1992). Chemical and nutritional studies of flaxseed (variety Linott) in rats. *J Nutr Biochem.* **3**: 232-240.
- RICKARD, S.E., ORCHESON, L.J., SEIDL, M.M. (1996). Dose-dependent production of mammalian lignans in rats and in vitro from the purified precursor secoisolariciresinol diglycoside in flaxseed. *J Nutr.* **126**: 2012-2019.
- ROBINS, M.J., SHARP, R.A., SLONIM, A.E., BURR, I.M. (1980). Protection against streptozotocin-induced diabetes by superokside dismutase. *Diabetologia* **18**: 55-58.
- ROGHANI, M., BALUCHNEJADMOJARAD, T. (2009). Chronic epigallocatechin-gallate improves aortic reactivity of diabetic rats: underlying mechanisms, *Vascul. Pharmacol.* **51**: 84-89.
- ROSEN, P. NAWROTH, P.P. KING, G. MOLLER, W. TRITSCHLER, H.J. PACKER L. (2001). The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, *the American Diabetes Association and the German Diabetes Society Diabetes Metab. Res. Rev.* **17**: 189–212.
- ROSS, R. (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* **362**: 801-809.
- RUBANYI G.M. (1993). The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **22(4)**: S1–S14.
- RUBANYI, G.M., VANHOUTTE, P.M. (1986). Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *American Journal of Physiology.* **250**: H822-H827.
- RUIZ, C. ALEGRIA, A. BARBERA, R. FARRE, R. LAGARDA M.J. (1999). Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in patients with type 1 diabetes mellitus. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **59(2)**: 99–105.
- SANDERS, T.A., ROSHANAI, F. (1983). The influence of different types of omega 3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin Sci.* **64**: 91-99.
- SANO, T., ODA, E., YAMASHITA, T., SHIRAMASA, H., IJIRI, Y., YAMASHITA, T., YAMAMOTO, J. (2003). Antithrombic and anti-atherogenic effects of partially defatted flaxseed meal using a laser-induced thrombosis test in apolipoprotein E and low-density lipoprotein receptor deficient mice. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* **14(8)**: 707-712.
- SAYESKI, P. P., KUDLOW, J. E. (1996). Glucose metabolism to glucosamine is necessary for glucose stimulation of transforming growth factor- α gene transcription. *J. Biol. Chem.* **271(25)**: 15237–15243.

- SCHMIDT, A.M., HORI, O., BRETT, J., YAN, S.D., WAUTIER, J.L., STERN, D. (1994). Cellular receptors for advanced glycation end products. Implications for induction of oxidant stress and cellular dysfunction in the pathogenesis of vascular lesions. *Arterioscler. Thromb.* **14**:1521–1528.
- SCHNACKENBERG, C.G. (2002). Oxygen radicals in cardiovascular-renal disease. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2**: 121–125.
- SCHWAB, U.S., CALLAWAY, J.C., ERKKILÄ, A.T., GYNTHNER, J., UUSITUPA, M.I., JÄRVINEN, T. (2006). Effects of hempseed and flaxseed oils on the profile of serum lipids, serum total and lipoprotein lipid concentrations and haemostatic factors. *Eur. J. Nutr.* **45**: 470-477
- SENSES, V., OZYAZGAN, S., INCE, E., TUNCDEMIR, M., KAYA, F., OZTURK, M., SULTUYBEK, G., AKKAN, A.G. (2001). Effect of 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside (AICA-r) on isolated thoracic aorta responses in streptozotocin-induced rats. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* **12**: 227-248.
- SHALI, P.K., KAUL, S., NILSSON, J., CERCEK, B. (2001). Exploiting the vascular protective effects of high-density lipoprotein and its apolipoproteins: an idea whose time for testing is coming. *Circulation.* **104**: 2376-2383.
- SHARPE, P.C., LIU, W.H., YUE, K.K.M., MCMASTER, D., CATHERWOOD, M.A., MCGINTY, A.M. (1998). Glucose-induced oxidative stress in vascular contractile cells. *Diabetes.* **47**: 801–809.
- SHEETZ, M.J., KING, G.L. (2002). Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications . *JAMA* **288**(20): 2579-88.
- SHIGE, H., ISHIKAWA, T., SUZUKAWA, M., ITO, T., NAKAJIMA, K., HIGASHI, K., AYAORI, M., TABATA, S., OHSUZU, F., NAKAMURA, H. (1999). Endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in the postprandial state in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* **84**:1272–1274, A9.
- SHINOZAKI, K KASHIWAGI, A NISHIO, Y OKAMURA, T YOSHIDA, Y MASADA, M TODA, N KIKKAWA, R. (1999). Abnormal biopterin metabolism is a major cause of impaired endothelium-dependent relaxation through nitric oxide/O₂- imbalance in insulin-resistant rat aorta. *Diabetes.* **48**: 2437–2445.
- SINGER, P., WIRTH, M., BERGER, I. (1990). A possible contribution of decrease in free fatty acids to low serum triglyceride levels after diets supplemented with n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Atherosclerosis.* **83**:167-175.
- SINGH S., MELKANI, G.C., RANI, C., GUAR, S.P., AGRAWAL, V., AGRAWAL C.G. (1997). Oxidative stress and metabolic control in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Indian J Biochem Biophys* 34:512–517.
- SINGH, K.K., MRIDULA, D., REHAL, J., BARNWAL, P. (2011). Flaxseed: a potential source of food, feed and fiber. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* **51**: 210-222.

- SON, S.M. (2007). Role of vascular reactive oxygen species in development of vascular abnormalities in diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **77(1)**: S65–70.
- SOSKA, V. KRUSOVA, D. PODAROUZKOVA, B. ZECHMEISTER L. (1993). A Free oxygen radicals in patients with diabetes mellitus. *Vnitr Lek.* **39(6)**: 569–574.
- SOTIROPOULOS, K.B., CLERMONT, A., YASUDA, Y., RASK-MADSEN, C., MASTUMOTO, M., TAKAHASHI J. (2006). Adipose-specific effect of rosiglitazone on vascular permeability and protein kinase C activation: novel mechanism for ppargamma agonist's effects on edema and weight gain *FASEB J.* **20**: 1203–1205.
- STEHOUWER, C.D.A., SCHAPER, N.C. (1996). The pathogenesis of vascular complications of diabetes mellitus: one voice or many? *Eur. J. Clin. Invest.* **26**: 535–543.
- STEINBERG D. (1991). Antioxidants and atherosclerosis: a current assessment. *Circulation.* **84**:1420-1425.
- STEINBERG, H.O., BRECHTEL, G., JOHNSON, A., FINEBERG, N., BARON, A.D. (1994). Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J Clin Invest.* **94**: 1172-1179.
- STEVENS, M.J., OBROSOVA, X., CAO, X., HUYSEN, C., GRENE, D.A. (2000). Effects of DL-alpha-lipoic acid on peripheral nerve conduction, blood flow, energy metabolism, and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes.* **49**: 1006–1015.
- STUGLIN, C., PRASAD, K. (2005). Effect of flaxseed consumption on blood pressure, serum lipids, hemopoietic system and liver and kidney enzymes in healthy humans. *J Cardiovasc Pharmacol Therapeut.* **10**:23-27.
- STUMP, C.S., CLARK, S.E., SOWERS, J.R. (2005). Oxidative stress in insulin-resistant conditions: cardiovascular implications. *Treat. Endocrinol.* **4**: 343–351.
- TAKAHASHI, R., SHIRAKI, M., MORITA, I., ITO, H., MUROTA, S., ORIMO, H. (1985). Platelet thromboxane synthesizing activity in non insulin dependent diabetes: correlation with diabetic retinopathy and diabetic treatment, *Prost. Leukotr. Med.* **17**: 149-158.
- TAKEUCHI, H., SAKURAI, C., NODA, R. (2007). Antihypertensive effect and safety of dietary alpha-linolenic acid in subjects with high-normal blood pressure and mild hypertension. *J Oleo Sci.* **56**: 347-360.
- TALOM, R.T., JUDD, S.A., MCINTOSH, D.D., MCNEILL, J.R. (1999). High flaxseed (linseed) diet restores endothelial function in the mesenteric arterial bed of spontaneously hypertensive rats. *Life Sci.* **64(16)**: 1415-1425.
- TANG, E.H.C., VANHOUTTE, P.M. (2009). Prostanoids and reactive oxygen species: Team players in endothelium-dependent contractions. *Pharmacology and Therapeutics.* **122**: 140-149.

- TANIYAMA, Y., GRIENGLING, K.K. (2003). Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension*. 42:1075–1081.
- TAYLOR, P.D., McCARTHY, A.L., THOMAS, C.R., POSTON L. (1992) Endothelium-dependent relaxation and noradrenaline sensitivity in mesenteric resistance arteries of streptozotocin-induced diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.* 107(2):393-399.
- TESFAMARIAM, B., COHEN, R.A. (1992). Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. *Am. J. Physiol.*, 263:H321–H326.
- TESFAMARIAM, B., JAKUBOWSKI, J.A., COHEN, R.A. (1989). Contraction of diabetic rabbit aorta caused by endothelium-derived PGH₂ – TxA₂, *Am. J. Physiol.* **257**: H1327-H1333.
- TESFAMARIAM, B., BROWN, M.L., COHEN R.A. (1991). Elevated glucose impairs endothelium dependent relaxation by activating protein kinase C. *J. Clin. Invest.* **87** (5): 1643–1648.
- THABREW, M.I., JOICE, P.D.T.M., RAJATISSA, W.A. (1987). Comparative study of efficacy of *Paetta indica* and *Osbeckia octandra* in the treatment of liver dysfunction. *Planta Medica*. **53**: 239-241.
- THIES, F., MILES, E.A., NEBE-VON-CARON, G. ve ark. (2001). Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in healthy adults. *Lipids*. **36**: 1183-1193.
- THOMAS, M.C., BAYNES, J.W., THORPE, S.R., COOPER, M.E. (2005). The role of AGEs and AGE inhibitors in diabetic cardiovascular disease. *Curr Drug Targets*. **6**: 453-474.
- THORNALLEY, P. J. (2005). The potential role of thiamine (vitamin B(1)) in diabetic
- TIMIMI F.K., TING, H.H., HALEY, E.A., RODDY, M.A., GANZ, P., CREAGER M.A. (1998). Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Am. Coll. Cardiol.* **31**(3): 552-557.
- TING, H.H., TIMIMI, F.K., BOLES, K.S., CREAGER, S.J., GANZ, P., CREAGER M.A. (1996). Vitamin C improves endothelium- dependent vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* **97**: 22-28
- TITLE, L.M., CUMMINGS, P.M., GIDDENS, K., NASSAR, B.A. (2000). Oral glucose loading acutely attenuates endothelium-dependent vasodilation in healthy adults without diabetes: an effect prevented by vitamins C and E. *J Am Coll Cardiol.* **36**: 2185-2191.
- TUTUNCU, N.B., BAYRAKTAR, M., VARLI, K. (1998). Reversal of nerve conduction with vitamin E supplementation in type 2 diabetes. *Diabetes care*, **21**(11): 1915–1918.
- VANHOUTTE, P.M., (1996). Endothelium-dependent responses in congestive heart failure. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **28**: 2233-2240.

- VAS DIAS, F.W., GIBNEY, M.J., TAYLOR, T.G. (1982). The effect of polyunsaturated fatty acids on the n-3 and n-6 series on platelet aggregation and platelet and aortic fatty acid composition in rabbits. *Atherosclerosis*. **43**: 245-257.
- VASQUEZ-VIVAR, J., KALYANARAMAN, B., MARTASEK, P., HOGG, N., MASTERS, B., KAROUI, H. (1998). Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **95**: 9220–9225.
- VEHKAVAARA, S., SEPPÄLÄ-LINDROOS, A., WESTERBACKA, J., GROOP, P.H., YKI-JÄRVINEN, H. (1999). In vivo endothelial dysfunction characterizes patients with impaired fasting glucose. *Diabetes Care*. **22**: 2055-2060.
- VEVES, A., AKBARI, C.M., PRIMAVERA, J., DONAGHUE, V.M., ZACHAROULIS, D., CHRZAN, J.S. ve ark. (1998). Endothelial dysfunction and the expression of endothelial nitric oxide synthetase in diabetic neuropathy, vascular disease, and foot ulceration. *Diabetes*. **47**: 457–463.
- VINCENT, A.M. RUSSELL, J.W. LOW, P. FELDMAN E.L. (2004). Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr. Rev.* **25**: 612-628.
- WALLACE, F.A., MILES, E.A., CALDER, P.C. (2003). Comparison of the effects of linseed oil and different doses of fish oil on mononuclear cell function in healthy human subjects. *Br J Nutr.* **89**: 679-689.
- WANG, X.L., ZHANG, L., YOUKER, K., ZHANG, M.X., WANG, J., LEMAIRE, S.A., COSELLI, J.S., SHEN, Y.H. (2006). Free fatty acids inhibit insulin signaling-stimulated endothelial nitric oxide synthase activation through upregulating PTEN or inhibiting Akt kinase. *Diabetes*. **55**: 2301-2310.
- WATTS G.F., PLAYFORD D.A. (1998) Dyslipoproteinaemia and hyperoxidativestress in the pathogenesis of endothelial dysfunction in non-insülin dependent diabetes mellitus: an hypothesis. *Atherosclerosis* **141**: 17-30.
- WESTCOTT, N.D., MUIR, A.D. (1998). Process for extracting lignans from flaxseed. *US Patent* **5**: 705,618.
- WESTCOTT, N.D., PATON, D. (2001). A complex containing lignan, phenolic and aliphatic substances from flax and process for preparing. *US Patent* **6**:264,853.
- WILD, S., ROGLIC, G., GREEN, A., SICREE, R., KING, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. **27**: 1047–1053.
- WILDE, C. (2003). Hidden Causes of Heart Attack and Stroke: Inflammation Cardiology's New Frontier. Studio City: *Abigon Press*. 184–5.
- WILKINSON, P., LEACH, C., AH-SING, E.E. (2005). Influence of alpha-linolenic acid and fish-oil on markers of cardiovascular risk in subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *Atherosclerosis*. **181**: 115-124.

- WILLIAMS, S.B., CUSEO, J.A., RODDY, M.A., JOHNSTONE, M.T., CREAGER, M.A. (1996). Impaired nitric-oxide mediated vasodilatation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Am. Coll. Cardiol.* **27**: 567-574.
- WILSON, J.L., PATTON, N.J., McCORD, J.M., MULLINS, D.W., MOSSMAN, B.T. (1984). Mechanism of streptozotocin and alloxan-induced damage in rat B cells. *Diabetologia* **27**: 587-591.
- WOO, K.S., CHOOK, P., LOLIN, Y.I., CHEUNG, A.S.P., CHAN, L.T., SUN Y.Y. ve ark. (1997). Hyperhomocysteinemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. *Circulation*, **96**: 2542–2544.
- YANG L, LEUNG KY, CAO Y.(2005) Alpha-linolenic acid but not conjugated linolenic acid is hypocholesterolaemic in hamsters. *Br J Nutr.* 93: 433-438.
- YOUNG, I.S. (2005). Lipids for psychiatrists-an overview. *Journal of Psychopharmacology.* **19**: 66-75.
- YOUNG, J., LIBBY, P., SCHONBECK, U. (2002). Cytokines in the pathogenesis of atherosclerosis. *Thromb Haemost.* **88**: 554-567.
- ZHANG, W., WANG, X., LIU, Y. (2008). Dietary flaxseed lignan extract lowers plasma cholesterol and glucose concentrations in hypercholesterolaemic subjects. *Br J Nutr.* **99**:1301-1309.
- ZHAO, G., ETHERTON, T.D., MARTIN, K.R., WEST, S.G., GILLIES, P.J., KRIS-ETHERTON, P.M. (2004). Dietary alpha-linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic men and women. *J Nutr.* **134**: 2991-2997.
- ZIMMET, P., ALBERTI, K.G., SHAW, J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature.* **414**: 782-787.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Nilay

Soyadı: Tarhan

Doğum yeri ve tarihi: Ankara, 10.08.1984

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: Harbiye Mah. Tavuskuşu Sk. 20/13 Dikmen/ANKARA
Tel: 479 52 80

II- Eğitimi

2002-2006: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Lisans)

1995-2002: Ankara Atatürk Lisesi (Ortaokul, Lise)

1990-1995: Kazım Karabekir İlkokulu

Yabancı dili: İngilizce

III- Ünvanları

2002: Eczacı

IV- Mesleki Deneyimi

2006-2012: Eczane eczacısı

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Burslar: TÜBİTAK Yüksek Lisans Bursu

VIII- Diğer Bilgiler