

**RATLARDA YÜKSEK FRUKTOZLU MISIR ŞURUBU
TÜKETİMİNE BAĞLI OLUŞAN DAMAR HASARI
ÜZERİNE CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER
(CAPE)' İN ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Abdurrahman GÜN**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER**

**ELAZIĞ
2014**

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA YÜKSEK FRUKTOZLU MISIR ŞURUBU
TÜKETİMİNE BAĞLI OLUŞAN DAMAR HASARI ÜZERİNE
CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER (CAPE)'İN ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Abdurrahman GÜN**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER**

**ELAZIĞ
2014**

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Engin ŞAHNA

Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER

Danışman

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER



Doç. Dr. Selçuk İLHAN



Yrd. Doç. Dr. Gonca OZAN



TEŞEKKÜR

Çalışmalarımnda ve tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübesiyle bana araştırmacılığı, sistemli ve düzenli çalışmayı öğreten değerli danışmanım Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER'e, çalışmalarımnda ve yüksek lisans eğitimim süresince beni yönlendiren anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Engin ŞAHNA'ya ve katkılarıyla bana yardımcı olan Doç. Dr. Selçuk İlhan'a, ayrıca tezimin hazırlanmasında finansman desteği sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'ne teőekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Fruktoz kullanımı, raf ömrünü uzattığı için, işlenmiş gıdalar ve gazlı içecekler içinde giderek artmaktadır. Yüksek miktarda fruktoz alınımının hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve hipertansiyon nedeni olduğu saptanmıştır. Bu yüzden fruktozun zararlı etkilerinin önlenmesi özel bir önem arz etmektedir. Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)'in endotel ve damar fonksiyon bozukluğunu düzelterek kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yararlı olabileceği ileri sürülmüştür. Deneysel olarak fruktozla oluşturulan damar düz kas fonksiyonundaki değişiklikler üzerine CAPE'nin etkisi iyi bilinmemektedir.

Bu tez çalışmasında, ratlara içme suyu içinde 6 hafta süreyle yüksek fruktozlu mısır şurubu (% 30) verilerek oluşturulan metabolik sendromda CAPE'nin (50 micromol/g, i.p) damar fonksiyon bozukluğuna etkisi incelendi. CAPE uygulaması (50 micromol/kg, i.p 2 hafta) fruktoz uygulanmasından 4 hafta sonra başlatılmıştır. Deneysel gruplarından alınan kan örneklerinde biyokimyasal, aortada ise damar düz kas fonksiyonu ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca, kan basıncı, serum lipid ve glukoz düzeyleri değişiklikleri kaydedilmiştir. Aort dokusunda eNOS enzim immün reaktivitesi de belirlenmiştir.

Çalışmamızın sonuçları, fruktozlu ratlardan elde edilen aorta halkalarında asetilkolin ile oluşturulan gevşemelerin kontrolden farksız olduğunu gösterirken, fruktoz tüketimi, ratlardan alınan aortlarda fenilefrinle olan kasılma cevaplarında bir azalmaya neden oldu. CAPE takviyesi damar kontraktilesindeki azalmayı düzeltti. Ek olarak, fruktoz ile beslenme sonucu ortaya çıkan hipertansiyon CAPE alan ratlarda düzeldi. CAPE takviyesi fruktoz ile beslenme sonucu artan kan glukoz ve kolesterol düzeylerini düşürdü. Fruktoz verilmiş ratlarda aort dokusu eNOS enzim

immün reaktivitesi azaldı, ancak CAPE uygulanması fruktoz tüketimine bağlı eNOS enzim immün reaktivitesindeki azalmayı önledi.

Bu bulgular, fazla miktarda fruktoz alınımına bağlı olarak gelişen kardiyovasküler fonksiyon bozukluklarının CAPE tedavisi ile önlenebileceğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Caffeic Acid Phenethyl Ester, CAPE, damar düz kas fonksiyonu, hipertansiyon, fruktoz ile beslenme.

ABSTRACT

Effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on vascular damage caused by consumption of High-Fructose Corn Syrup in rats.

The use of fructose, which extends the shelf life for processed foods and fizzy drinks are increasing. High fructose intake causes to hyperinsulinemia, hypertriglyceridemia and hypertension. The harmful effects of increased fructose intake on health and their prevention should take greater consideration. Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) has beneficial effects on endothelial and vascular function which is important in the prevention of cardiovascular disease. However, very little is known about the effect of CAPE on fructose-induced vascular dysfunction.

In this thesis, we examined the effect of CAPE (50 micromol/kg, i.p) on vascular dysfunction in high fructose corn syrup (30%)-induced the metabolic syndrome by administering in drinking water for 6 weeks in rats. CAPE applications (50 micromol/kg, i.p for 2 weeks) were initiated after 4 weeks of fructose implementation. Blood samples were taken from the experimental group for biochemical measurement and the vascular smooth muscle functions in the aorta were measured. Blood pressure and serum lipids and glucose levels were also evaluated. eNOS enzyme activity in aortic tissue was also determined.

Our results revealed that while acetylcholine induced relaxation of aortic rings obtained from rats given fructose were not different from controls; fructose consumption caused to a decrease the contractions to phenylephrine in aortae from rat. CAPE supplement corrected the reduction in vascular contractility. Additionally, hypertension in fructose fed rats was also corrected in CAPE supplemented rats. CAPE supplements lowered the fructose consumption-induced rise in blood glucose

and cholesterol levels. eNOS enzyme immunoreactivity in aort tissue was decreased in rats given fructose, but CAPE application inhibited the fructose consumption-induced decrease in eNOS immunoreactivity.

The present results showed that high fructose-induced cardiovascular abnormalities could be prevented by CAPE treatment.

Keywords: Caffeic Acid Phenethyl Ester, CAPE, vascular smooth muscle functions, hypertension, fructose fed rats.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
SEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1.GİRİŞ	1
1.1. Metabolik Sendrom	2
1.1.1 Tanım, Sıklık ve Patogenez	2
1.1.4 Tanı Kriterleri	3
1.2 Metabolik Sendrom Bileşenleri	4
1.2.1 Obezite	4
1.2.2 Hipertansiyon	5
1.2.3 Hiperlipidemi	5
1.2.4 İnsülin Direnci, Glukoz Tolerans Bozukluğu, Diyabet	5
1.2.5 Kardiyovasküler hastalık riski	6
1.2.6 Diğer klinik tablolar	6
1.3 Fruktoz ve Metabolik Etkileri	6
1.3.1 Fruktoz	7
1.3.2 Fruktoz, obezite ve metabolik sendrom	10
1.3.3 Fruktoz ve ürik asit	10
1.3.4 Fruktoz ve hipertansiyon	12
1.4 Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS)	13
1.5 Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)	14
1.5.1 CAPE'nin Antioksidan Etkisi	14
2. GEREÇ VE YÖNTEM	17
2.1 Denekler ve Diyet	17
2.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler:	17

2.3 Kullanılan Araç ve Gereçler	18
2.3.1 İn-vitro İzole Organ Banyosu Deneylei	18
2.3.2 Sistolik Kan Basıncı Ölçümü	18
2.4 Biyokimyasal analizler	18
2.5 Kullanılan Yöntemler	19
2.5.1 Sistolik Kan basıncı ölçümleri:	19
2.5.2 Rat Aorta Halkalarının Alınışı ve İn-vitro İzole Organ Banyosu Deneylei	19
2.5.3 Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları	20
2.6 İmmünohistokimyasal analizler	20
2.7 İstatistiksel analiz:	21
3. BULGULAR	22
3.1 Yem ve su alımı:	22
3.2 Deneklerin ağırlıkları:	22
3.3 Biyokimyasal analizler	22
3.4 Kan basınçları	23
3.5 Rat torasik aorta halkalarında fenilefrin ile kasılma doz-cevapları	24
3.6 Fenilefrin önkasılması sonrası rat torasik aorta halkalarında asetilkolin ile gevşeme doz-cevapları	25
3.8 İmmünohistokimyasal olarak eNOS değerleri	26
4. TARTIŞMA	30
5. KAYNAKLAR	36
6.ÖZGEÇMİŞ	43

TABLO LİSTESİ

Tablo 1:	Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubunun Tercih Edilme Sebepleri.	9
Tablo 2:	Deneklerin Günlük Ortalama Yem Tüketimleri	22
Tablo 3:	Tüm Gruplarda Deney Başlangıcı ve Deney Sonundaki Ağırlık Değişimleri	22
Tablo 4:	Biyokimyasal Analizler	22
Tablo 5:	Tüm Gruplarda Deney Başlangıcı ve Deney Sonundaki Sistolik Kan Basıncı Değişimleri	23
Tablo 6:	Tüm Gruplarda Fenilefrin EC_{50} ve E_{max} Değerleri.	25
Tablo 7:	eNOS İmmünohistokimyasal Boyanma Yaygınlığının Derecesi	26

SEKİL LİSTESİ

Şekil 1:	Fenilefrin Kasılma Grafiği	24
Şekil 2:	Asetilkolin Gevşeme Grafiği	25
Şekil 3:	Kontrol grup rat damar dokusu endotel (ince ok) ve adventisyasına (kalın ok) ait eNOS immunreaktivitesi ayırtedilmektedir, X400.	27
Şekil 4:	Fruktoz grubu rat damar dokusunda eNOS immünreaktivitesinin olmadığı gözlenmektedir, X400.	27
Şekil 5:	Fruktoz grubu rat damar dokusu tabakalarında eNOS immünreaktivitesinin olmadığı izlenmektedir, X400.	28
Şekil 6:	Fruktoz + CAPE uygulanan rat damar dokusu endotel tabakasında eNOS immunreaktivitesi (ok) gözlenmektedir, X400.	28
Şekil 7:	Fruktoz + CAPE uygulanan rat damar dokusu endotel (ince ok) ve adventisyasına (kalın ok) ait eNOS immunreaktivitesi ayırtedilmektedir, X400.	29
Şekil 8:	Negatif Kontrol, X400.	29

KISALTMALAR LİSTESİ

Ach	:	Asetilkolin
Ang II	:	Anjiyotensin 2
ALL	:	Alloksan
CAT	:	Katalaz
CAPE	:	Caffeic Acid Phenethyl Ester
DM	:	Diabetes mellitus
eNOS	:	Endotelyal nitrik oksit sentaz
ET	:	Endotelin
GSH-px	:	Glutatyon peroksidaz
HIV-1	:	Human immunodeficiency virus-1
IL	:	İnterlökin
iNOS	:	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
LDL	:	Low density lipoprotein
HDL	:	High density lipoprotein
MDA	:	Malondialdehit
nNOS	:	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	:	Nitrik oksit
PAI-1	:	Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1
Phe	:	Fenilefrin
SKB	:	Sistolik kan basıncı
SOD	:	Süperoksit dismutaz
STZ	:	Streptozosin
TNF-α	:	Tümör nekroz faktör- α

1.GİRİŞ

Fruktoz tüketimi; yüksek fruktozlu mısır şurubu ya da sukroz formunda özellikle gazlı içecek tatlandırıcısı olarak son 30 yılda belirgin artış göstermiştir (1-3). Modern dünyada, çocuklukta ve gençlik dönemi kronik hastalıklarında, mısır kaynaklı fruktozla yapılan yiyecek içecek tüketimi önemli rol oynamaktadır (2, 4-8). Yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarda yüksek fruktozlu besinlerin özellikle fiziksel hareketsizlik ve tüketim fazlalığı ile beraber, kronik hastalıkların (hipertansiyon, obezite, metabolik sendrom, böbrek hastalığı, taş) gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Bunun temelindeki sorunun ise fruktoz olabileceği özellikle belirtilmiştir (2, 9). Fruktoz tüketimi ile obezite, metabolik sendrom ve hipertansiyon arasındaki ilişki ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (2, 10-14).

CAPE (Phenethyl 3-(3-4 dihydroxyphenyl) acrylate) immün sistemi düzenleyici ve immünoestimülator etkisi bilinen bal arısının ürettiği yapıca flavonoidlere benzeyen, propolis maddesinin aktif bir bileşenidir (15). CAPE'nin hepatotoksisiteden koruyucu, antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral, immünomodülatör, nöroprotektif ve sitostatik etkileri olduğu bilinmektedir (16,17). Diğer propolis bileşenlerine göre araşidonik asit kaskadını güçlü şekilde modüle ettiğinden antiinflamatuvar etkisi daha belirgindir (15). CAPE'nin iki halkasal yapısı vardır (18). Bu halkasal yapılardan bir tanesi, CAPE molekülünün neredeyse tüm kimyasal özelliklerini gösteren fonksiyonel iki OH⁻ grubu taşır. Bu hidroksil grupları, elektronları aktif bir şekilde alıp verir ve bu sayede oksitleyici ve redükte edici özellik gösterir. Aromatik ve alifatik yapıda çok uzun karbon grupları taşıması nedeni ile lipofilik özelliğe sahiptir (19,20). Ornitin karboksilaz, 5- α redüktaz, proteaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz, ksantin oksidase, HIV-1 integras gibi

enzimlerin potansiyel inhibitörüdür (19,21-23). Nükleer transkripsiyon faktörü olan Nükleer Faktör Kappa-B'nin aktive olmasını özgül ve güçlü bir şekilde engeller (24). Bu yüzden CAPE tedavi edici olarak kullanılabilir.

Bu çalışmada amacımız, fruktoz tüketimine bağlı oluşan damar hasarında CAPE'nin herhangi bir tedavi edici etkisinin olup olmadığını araştırmaktır. Literatür araştırmalarında böyle bir çalışmaya rastlamadık. Bunu göstermek için damarı iki açıdan değerlendirmeyi planladık; Kontrol, Fruktoz ve Fruktoz+CAPE verilmiş ratların damarlarında (torasik aortlarında in vitro) fenilefrin kasılma, asetilkolin gevşeme cevaplarını görmek ve değerlendirmek ve ayrıca, aynı damarın immünohistokimya yöntemiyle endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesini ölçmek ve metabolik sendromda CAPE uygulamasının serum parametrelerine etkisini değerlendirmektir.

1.1. Metabolik Sendrom

1.1.1 Tanım, Sıklık ve Patogenez

Metabolik sendrom, insülin direnciyle başlayan abdominal obezite, glukoz intoleransı veya diabetes mellitus, hipertansiyon, dislipidemi ve koroner arter hastalığı (KAH) gibi sistemik bozuklukların birbirine eklendiği ölümcül bir endokrinopatidir (25). Metabolik sendrom ayrıca insülin direnci sendromu, sendrom X, polimetabolik sendrom, ölümcül dördü ve uygarlık sendromu gibi farklı terimlerle de tanımlanmaktadır (26).

İlk kez 1988'de Reaven, çeşitli risk faktörlerinin sıklıkla birarada bulunduğu dikkat çekmiş ve sendrom X olarak adlandırdığı bu beraberliğin kardiyovasküler hastalıkların gelişme riskini arttırdığını belirtmiştir (27).

Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilen metabolik sendromun sıklığı farklı coğrafi ve etnik özelliklere, kullanılan tanımlamalara, popülasyonların yaş ve cinsiyet özelliklerine göre değişmekle birlikte, küresel bir artış göstermekte ve birçok ülkede erişkin popülasyonun %20 ile %30'unu etkileyen bir pandemi olarak değerlendirilmektedir (28, 29).

Metabolik sendromun tüm bileşenlerinin etyopatogenezini açıklayabilecek tek bir genetik, infeksiyöz ya da çevresel faktör henüz tanımlanamamıştır. Ancak metabolik sendromun etyolojisi üç kategoride incelenebilir: Obezite/yağ dokusu bozuklukları, insülin direnci ve bağımsız faktörler (vasküler, hepatik ve immünolojik kökenli moleküller gibi). Poligenik yatkınlık söz konusu olsa da, modern kent hayatının getirdiği sedanter yaşam ve yüksek kalorili beslenme, sendromun seyrini alevlendirmektedir (30). Postmenapozal dönem, düşük gelir düzeyi, sigara içme, yüksek karbonhidrat diyeti, fiziksel inaktivite metabolik sendrom sıklığını arttıran diğer nedenlerdir (31).

1.1.4 Tanı Kriterleri

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 1998 yılında metabolik sendromu, diyabet, bozulmuş açlık glukozu, bozulmuş glukoz toleransı veya insülin direnciyle birlikte hipertansiyon(>160/90mmHg), hiperlipidemi, santral obezite ve mikroalbuminüriden en az ikisinin olması olarak tanımlamıştır (32). Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Erişkin Tedavi Paneli (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel; NCEP-ATP III) 2001 yılında yetişkinlerde, Abdominal obezite (Erkeklerde >102 cm kadınlarda >88 cm), Hipertrigliseridemi (>150 mg/dl), Düşük HDL (Erkeklerde <40 mg/dl, Kadınlarda < 50 mg/dl), Hipertansiyon (Kan basıncı >130-85

mm-Hg), Hiperglisemi (Açlık kan şekeri >110 mg /dl), metabolik sendrom tanısı için beş kriterden üçünün varlığının yeterli olduğunu bildirmiştir (25). 2005 yılında Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) ise farklı etnik gruplara göre farklı eşik değerlerin tariflendiği global bir kılavuz yayınlamıştır. Bu kılavuza göre santral obezite ve yüksek trigliserid düzeyleri insülin direncini göstermektedir. Dolayısıyla metabolik sendrom tanısı koyabilmek için santral obezite mutlaka aranmalı, ona ek olarak yüksek trigliserid, düşük HDL, yüksek kan basıncı, yüksek açlık glukozundan en az iki tanesi bulunmalıdır. Bu kılavuzda DSÖ ve NCEP-ATP III kılavuzlarından farklı olarak santral obezite için farklı ırklar için farklı eşik değerler kabul edilmiştir. Santral obezite bel çevresinin Avrupalı erkeklerde 94 cm, kadınlarda 80 cm; Güney Asyalı ve Çinli erkeklerde 90 cm, kadınlarda 80 cm; Japon erkeklerde 85 cm, kadınlarda 80 cm'in üzerinde olması olarak tanımlanmıştır (33). Metabolik sendrom da diğer tanımlayıcı belirteçler olarak proinflamasyon, protrombotik durum, CRP, İL-6, PAİ-1 artışı belirtilmiştir. Bu belirteçler tanı için kullanılmaz. Bu belirteçlerin artışı kardiyovasküler hastalık riskini artırır.

1.2 Metabolik Sendrom Bileşenleri

1.2.1 Obezite

Abdominal obezitenin hiperglisemi, dislipidemi, hipertansiyon ve buna bağlı olarak ortaya çıkan kardiyovasküler hastalıklar için zemin oluşturduğu ve viseral adipositlerden salgılanan leptin, rezistin, interlökin (IL)-6, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 gibi metabolik olarak aktif moleküllerin neden olduğu insülin direncindeki artışın bu süreçte en önemli patogenetik faktör olduğu kabul edilmektedir. Her obez hasta metabolik sendrom

açısından taranmalı ve visseral adipozite göstergesi olarak vücut kitle indeksi yerine bel çevresi ölçümü kullanılmalıdır. Bel çevresi, arkus kostaryum ve spina iliaka anterior superior arası mesafenin orta noktasından ölçülmelidir (34-37).

1.2.2 Hipertansiyon

Esansiyel hipertansiyonun altında genellikle insülin direnci bulunmaktadır. İnsülinin santral sempatik aktiviteyi arttırıp, böbrekten su ve tuz tutulumunu uyarmasıyla beklenen hipertansif etkisi, normal fizyolojik koşullar altında oluşturduğu periferik vazodilatasyona bağlı hipotansif etkisiyle dengelenmiştir. İnsülin direnci varlığında, periferik vazodilatör etkisine de direnç geliştiği için dengelenememiş vazopressör etkisiyle hipertansiyon oluşturduğu düşünülmektedir. Tüm dünyada hipertansiyon konusunda farkındalık, tedavi alma ve kontrol altına alınma oranları düşük seyretmekle birlikte, ülkeler arasında önemli farklılıklar vardır (38).

1.2.3 Hiperlipidemi

Metabolik Sendromlu hastalarda viseral obezite ve insülin direnci etkisi ile gelişen dislipidemi, TG yüksekliği ve HDL kolesterol düşüklüğü ile karakterizedir. LDL kolesterol genellikle normal düzeylerde olmasına rağmen aterojenik ve küçük yoğun LDL alt gruplarında artış vardır. Hipertrigliseridemi ve HDL düşüklüğü kardiyovasküler hastalık riskini arttırır (39).

1.2.4 İnsülin Direnci, Glukoz Tolerans Bozukluğu, Diyabet

Yapılan farklı çalışmalarda metabolik sendrom tanısı alan kişilerde diyabet gelişme riski 2-34 kat daha fazladır (40). Her ne kadar tüm tip 2 diyabetiklerde

insülin direnci olmasa da, aşikâr DM (diyabetes mellitus) veya bozulmuş glukoz toleransı varlığı metabolik sendromun tanı kriterlerinin ilk basamağını karşılar, ayrıca insülin direncinin olması aranmaz. İnsülin direnci diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık riskini artırmaktadır. Bozulmuş glukoz toleransı olan hastaların yaklaşık üçte birinde 10 sene içinde aşikâr diyabet gelişebilir.

1.2.5 Kardiyovasküler hastalık riski

Kesitsel ve uzun süreli yapılan çalışmalarda metabolik sendromu olan kişilerde kardiyovasküler hastalık riski 1,5 katdan daha fazladır. Riski artıran obezite değil, metabolik sendrom varlığıdır (40).

1.2.6 Diğer klinik tablolar

Metabolik sendromda yağlı karaciğer hastalığı, steatohepatitis, fibrozis, siroz gelişebilir. Metabolik sendrom da kronik böbrek hastalığı daha fazladır ve risk metabolik sendrom komponentlerinin artışına paralel olarak artar. Polikistik oversendromu, hiperürisemi, gut metabolik sendromda daha yüksektir. Demans, kognitif fonksiyonlarda azalma metabolik sendromda daha sıktır (40).

1.3 Fruktoz ve Metabolik Etkileri

Fruktoz tüketimi; yüksek fruktozlu mısır şurubu ya da sukroz şeklinde özellikle karbonatlı içecek tatlandırıcısı olarak son 30 yılda belirgin artış göstermiştir (1-3). Modern dünyada hızla artan çocukluk ve gençlik dönemi kronik hastalıklarında, kullanımı yaygın olan ve giderek artan mısır kaynaklı fruktozla yapılan yiyecek içecek tüketimi önemli rol oynamaktadır (2, 4-8). Yapılan

epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarda yüksek fruktozlu besinlerin özellikle fiziksel hareketsizlik ve tüketim fazlalığı ile birlikte, kronik hastalıkların (hipertansiyon, obezite, metabolik sendrom, böbrek hastalığı, taş) gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Bunun temelindeki sorunun ise fruktoz olabileceği özellikle belirtilmiştir (2, 9). Fruktoz tüketimi ile obezite, metabolik sendrom ve hipertansiyon arasındaki ilişki ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (2, 10-14).

1.3.1 Fruktoz

Sukroz, bitkisel nişastada en çok bulunan disakkarit olup son derece ucuz ve kolay bir enzimatik yöntemle glukozla fruktoza ayrılabilir (4, 41). Glukoz ve fruktoz benzer formüle sahiptir. Fruktoz; meyve şekeri olarak da bilinir. Glukoz ile aynı enerji yüküne sahiptir (4, 42). Ancak fruktoz; glukoz gibi doyma ve tokluk hissi oluşturmaz, bunun sonucunda ise daha çok tüketilir (4, 43). En önemli fruktoz kaynağı hazır gıda üretiminde yaygın olarak kullanılan yüksek fruktozlu mısır şurubudur. Glukozun fruktoza izomerizasyonu, yüksek fruktozlu mısır şurubu oluşumunda önemli bir ticari aşamadır (4, 44). Açlık kan fruktozu 1 mg/dL düzeyindedir (4, 45). Fruktoz ince barsaktan absorbe olur (46). Büyük oranda karaciğerde metabolize edilir (2, 4, 47, 48). Ancak, glukoz ile fruktoz metabolik süreçte bazı farklılıklar gösterir. Fruktoz hücrelere girişinden sonra fruktokinaz ile fosforile edilir, fruktoz-1-fosfata dönüştürülür. Fosforilasyon sırasında adenozin trifosfat (ATP) tükenir ve intrasellüler fosfat düzeyi azalır. Bu basamak glukokinazla olan glikozun fosforilasyonundan farklıdır. Glukoz metabolizmasında, ATP tükenmesi ve aşırı fosforilasyon bir feedback sistemi ile (hız kısıtlayıcı enzim aracılığıyla) önlenir (1, 49-51). Fruktoz ise glukozdan farklı olarak; devam eden reaksiyonlar ile ya glukoneogenez ile glukoz oluşumuna ya da *de novo* trigliserid

sentezine yönlendirilir. Bu durum glukoz metabolizmasına göre farklıdır (3, 4, 42). Glukozdan trigliserid üretilmesi bazı metabolik süreçlerle (glikojen oluşturma, yağ asidi yerine glukoz oluşumu ve fosfofruktokinazın hız kısıtlayıcı enzim etkisi) kontrol altında tutulurken, bu süreç fruktoz metabolizmasında farklıdır (3, 4, 46, 52). Fruktozun fruktoz-1-fosfata dönüşümü aşamasında hız kısıtlayıcı enzim etkisi yoktur. Bu nedenle fruktoz kaynaklı ara metabolitler glikoliz yoluna dahil olarak gliserol ve yağ asidi sentezinde kullanılır ve trigliserid oluşumuna neden olurlar (2-4, 52).

Yüksek miktarda fruktoz tüketimi sonucunda da; serum yağ asiti düzeyleri artar ve insülden bağımsız yağ depolanmasına neden olarak obeziteye (özellikle de abdominal bölgede yağlanmaya) neden olur. Hipertansiyon, obezite, metabolik sendrom gibi kronik hastalıklar için risk artar (4, 53). Fruktozun metabolize edilmesi sırasında intrasellüler ATP azalması görülür ve adenzin monofosfat (AMP) sonunda ürik asite dönüşür (1, 49). Fruktoz alımından sonraki 30-60 dakika içerisinde ürik asit yalnızca hücre içerisinde değil aynı zamanda dolaşımda da artar (1, 49-51). Yüksek fruktozlu mısır şurubu, Amerika Birleşik Devletleri'nde 1970'lerin başlarında ilave bir tatlandırıcı olarak tanıtıldı. Yaygın olarak meşrubat, meyveli içecek, kurabiye ve diğer işlenmiş yiyecekleri tatlandırmada kullanıldı. Bunun masa şekerine göre raf ömrü ve maliyetle ilgili bazı avantajları vardır (Tablo1) (2, 3, 10).

Tablo 1: Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubunun Tercih Edilme Sebepleri (2, 3, 4, 18).

-
- Daha tatlı,
 - Nemlendirme özelliği,
 - Renk ve tat geliştirme,
 - Donma noktasında düşme,
 - Osmotik kararlılık,
 - Pek çok ürün ile kolayca karışabilme,
 - Yiyeceklere ve meşrubatlara uygulanan hem fiziksel hem fonksiyonel özelliklere katkı sağlama
 - Glukoz ile aynı enerji yüküne sahip olma,
 - Glukoz gibi doyma ve tokluk hissi uyandırmama (daha fazla tüketim)
 - Raf ömrü uzun,
 - Maliyeti az,
 - Sukrozdan daha güçlü bir tatlandırıcı
-

Özellikle sanayi gelişimiyle birlikte son 30 yılda kullanımı giderek artmıştır. ABD'de son 35 yılda fruktozdan zengin mısır şurubu tüketimi kişi başına yılda 0.3 gramdan 33 kg'a yükselmiştir (54). Gıda sektöründe, kullanımı en fazla artan gıda katkısı yüksek fruktozlu mısır şurubudur. Bu süreçte sukroz yani mısır nişastası kullanımı ise belirgin bir şekilde azalmıştır (2, 54). Yüksek tuz ve protein alımı ile böbrek hastalığı oluşma riski ya da yüksek yağlı beslenme ile aterosklerotik fenotip arasındaki ilişkiye benzer şekilde, fruktoz içeren besinlerin hipertansiyon, obezite ve metabolik sendrom ve daha sonra böbrek hastalığı geliştirmede önemli rol oynayabileceği deneysel ve klinik çalışmalarda ileri sürülmüştür (2).

1.3.2 Fruktoz, obezite ve metabolik sendrom

Obezitenin bir komplikasyonu olan diyabetin toplumun % 7'sini etkilediği, bunların yaklaşık üçte birinde ise retinopati veya nefropati gibi çeşitli komplikasyonların oluştuğu belirtilmiştir. Bunlarla bağlantılı olarak hipertansiyon ve böbrek hastalığı da artmaktadır (2). Fruktoz alımının da epidemik obezite ile ilişkisi saha çalışmalarında gösterilmiştir (1, 9). Metabolik sendrom; obezite, bozulmuş glukoz toleransı, hiperinsülinemi, dislipidemi ve hipertansiyonu içine alan klinik bir tablodur (9, 50, 55). Klinik çalışmalar ile, sukroz özellikle de fruktozun metabolik sendroma yol açabildiği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada diyetlerine sukroz (200 g/gün) eklenen genç erkeklerin serum trigliserid düzeylerinin arttığı ve üçte birinde hiperinsülinemi geliştiği gösterilmiştir (2). Raben ve ark. (56) da yaptıkları çalışmada sukroz takviyesi ile vücut ağırlığında artma, serum TG düzeyinde ve sistolik kan basıncında yükselme saptamışlar. Diğer çalışmalarla da fruktoz ya da sukroz ile zenginleştirilen diyetlerle bozulmuş glukoz toleransı ve insülin rezistansı geliştiği bildirilmiştir (2, 54). Nakagawa ve ark. (50) fruktozla beslenen ratlarda metabolik sendrom gelişirken aynı miktarda glukoz verilen ratlarda gelişmediğini saptamışlar (50). Fruktoz ile beslenen farelerde metabolik sendrom geliştiği ve metabolik sendrom gelişenlerde ise renal hipertrofi, afferent arteriollerde kalınlaşma, glomeruler hipertansiyon ve kortikal vazokonstriksiyon oluştuğu gösterilmiştir (9, 49).

1.3.3 Fruktoz ve ürik asit

Önceki yıllarda ürik asit konsantrasyonlarındaki artışa sadece gut hastalığına sebep olan potansiyel bir risk faktörü olarak bakılmış olsa da son çalışmalarda kardiyovasküler ve renal hastalıklarla ilişkisi gösterilmiştir (2). Hipertansiyonu olan

bireylerin %25-50'sinde ürik asit yüksekliği mevcuttur (2, 57). Ayrıca hiperürisemi özellikle kadınlarda kardiyovasküler mortalite için bir risk faktörü olarak kabul edilir (57-59). Ürik asit hem vasküler düz kas hücre çoğalmasını hem de kemotaktik ve inflamatuvar maddelerin salınımını harekete geçirir, monosit kemotaksisine sebep olur, endotelial hücre bölünmesini ve göçünü önler, adipositlerde oksitatif strese sebep olur, bu da adiponektin salınımının zayıflamasıyla sonuçlanır (2). Ürik asit endotelial nitrik oksit (NO) konsantrasyonlarını düşürmekte olup aynı zamanda endotelial fonksiyon bozukluğuyla güçlü biçimde bağlantılıdır. Endotelial nitrik oksitte bir azalma hipertansiyon ve insülin direnci dahil metabolik sendromun birçok komponentine zemin hazırlar (2).

Yüksek fruktozla beslenen deney hayvanlarında; serbest oksijen radikalleri artar, bu durum da NO üretimine zarar verir (60-63). Nitrik oksit sentetaz aktivitesi fruktozla beslenen rat aortalarında azalır (61, 64). Hem nitrik oksit sentetaz aktivitesinin azalması hem de serbest oksijen radikallerinin üretimi ikisi birlikte NO biyoyararlanımını azaltabilir (60). Yapılan hayvan deneylerinde ürik asitin; makula densada nitrik oksit sentezinin inhibe edilmesi, böbrek içi reninin uyarılması ve nitrik oksit biyoyararlanımının azalması ile hipertansiyon geliştirebildiği gösterilmiştir. İlerleyen zamanda bunlarda renal arterioskleroz olduğu da saptanmıştır (2). Ayrıca fruktoz, renal tübüler epitelial hücrelerdeki monosit kemotaktik protein-1 gibi inflamatuvar mediatörleri de uyarır (2, 65). Ürik asit düzeylerindeki azalmanın, metabolik sendrom, hiperinsülinemi, insülin direnci ve hipertansiyonda iyileştirici, ilerlemeyi durdurucu etkisi olabilir (2, 50). Fruktoz ürik asiti arttırır (51). Hiperürisemi ise; hipertansiyon, sistemik inflamasyon, insülin rezistansı, obezite, dislipidemi, kardiyovasküler hastalıkla ve renal hasar ile ilişkilidir

(49, 50, 54, 60, 66, 67). Fruktöz ürik asit konsantrasyonlarını yükselten tek şekerdir (2). Gao ve ark. (54) 4073 kişi (1988 erkek ve 2085 kadın) ile yaptıkları çalışmada, günlük beslenmelerinde tatlandırıcı yiyeceklerin fazla tüketilmesiyle serum ürik asit seviyelerindeki yükseklik arasında ilişki saptadıklarını bildirmişlerdir. Fruktöz içerikli büyük bir öğün yenildikten sonra serum ürik asit konsantrasyonları 1-4 mg/gün kadar yükselebilir (2).

Bazı çalışmalarda obezite, böbrek hastalığı ve kardiyovasküler hastalıklar kompleks ve multifaktöriyel olmalarına karşın ürik asidin bu hastalıklarda bağımsız bir risk faktörü olduğu öne sürülmüştür (2).

1.3.4 Fruktöz ve hipertansiyon

Yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarda beslenmenin metabolik sendrom ve hipertansiyon ile ilişkisi gösterilmiştir (1). Ayrıca fruktoz tüketimi ile hipertansiyon arasında ilişki saptanmıştır (2, 9, 68-70). Ancak, bu mekanizma tam olarak açıklanamamış, bazı hipotezler ileri sürülmüştür (1,2). Metabolik sendrom, hiperürisemi, endotelial NO düzeylerindeki baskılanma kan basıncı artışına sebep olur (2). Ayrıca Tran ve ark. (71) yaptıkları çalışmada fruktozdan zengin beslenen deney hayvanlarında kuvvetli vazokonstriktör olan endotelin-1 (ET-1)'in arttığını göstermişlerdir. Endotelin-1 de Anjiotensin II (AII) düzeylerini etkileyerek fruktozdan zengin beslenmede hipertansiyona katkıda bulunur. ET-1 ile birlikte aynı zamanda tromboksan A2 de artar (72). Modero ve ark. (1) ise fruktoz alımının akut dönemde geçici hiperürisemi, santral sinir sistemi aktivasyonu, oksidatif strese yol açarak epizodik hipertansiyona, fruktoz alımının devam etmesi halinde de izleyen dönemde kronik etkileri (damarlarda endotelial disfonksiyon, ince barsakta sodyum ve su reabsorpsiyonunun artması, böbrekte vazokonstriksiyon, sodyum

reabsorbsiyonu ve böbrek hasarı) ile hipertansiyona sebep olduğu fikrini ileri sürmüşlerdir. Fruktoz alımı aynı zamanda sistemik hipertansiyon yoluyla hedef organ ve dokulardaki (böbrek, endotel, kalp) hasar ile de ilişkilidir (2).

1.4 Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS)

Nitrik oksit (NO) insanda iyi tanımlanmış bir endotel-kaynaklı gevşetici faktördür. Endotel tabakasının damar düz kas gevşemesindeki rolünün tarafından gösterilmesinden sonra NO'nun, L-arjininden nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığı ile üretildiği ve insanda birçok dokuda sinyal aşırımından sorumlu olduğu bulunmuştur (76-78). NOS'un nöronal (nNOS veya NOS 1), sitokinle-indüklenen (iNOS veya NOS 2) ve endotelyal (eNOS veya NOS 3) olmak üzere üç ayrı izotipi tanımlanmıştır (79). Bunlardan nNOS ve eNOS izotipleri hücrede yapısal olarak aktif halde iken, iNOS düzeyi ve aktivitesindeki artış ortamda sitokinlerin bulunmasına bağlıdır. Endotel hücrelerinde eNOS aktivitesi sonucu üretilen NO, endotel tabakası altındaki düz kas dokusuna difüzyon ile ulaşır ve gevşemeye yol açarak vasküler tonusun ve kardiyovasküler homeostazın düzenlenmesinde önemli rol oynar (80). Endotelden NO salıverilmesini sağlayan başlıca fizyolojik faktörler sıyrılma baskısı (shear stress), ACh, bradikinin, endotelin, P maddesi, histamin ve vazopressindir (81-93). eNOS ayrıca trombositlerde ve megakaryoblastik hücrelerde de gösterilmiştir (94). Trombosit agregasyonu sırasında salıverilen NO, agregasyonu önleyici etki gösterir (20).

1.5 Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)

CAPE (Phenethyl 3-(3-4 dihydroxyphenyl) acrylate) immün sistemi düzenleyici ve immüno stimütatör etkisi bilinen bal arısının ürettiği yapıcı flavonoidlere benzeyen, propolis maddesinin aktif bir bileşenidir (15). CAPE'nin hepatotoksisiteden koruyucu, antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immüno modütatör, nöroprotektif ve sitostatik etkileri olduğu bilinmektedir (16, 17). Diğer propolis bileşenlerine göre araşidonik asit kaskadını güçlü şekilde modüle ettiğinden antiinflamatuvar etkisi daha belirgindir (15). CAPE'nin iki halkasal yapısı vardır (18). Bu halkasal yapılardan bir tanesi, CAPE molekülünün neredeyse tüm kimyasal özelliklerini gösteren fonksiyonel iki OH grubu taşır. Bu hidroksil grupları, elektronları aktif bir şekilde alıp verir ve bu sayede oksitleyici ve redükte edici özellik gösterir. Aromatik ve alifatik yapıda çok uzun karbon grupları taşıması nedeni ile lipofilik özelliğe sahiptir (19, 20). Ornitin karboksilaz, 5- α redüktaz, proteaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz, HIV-1 integras gibi enzimlerin potansiyel inhibitörüdür (5, 20-23). Nükleer transkripsiyon faktörü olan Nükleer Faktör Kappa-B'nin aktive olmasını özgül ve güçlü bir şekilde engeller (24).

1.5.1 CAPE'nin Antioksidan Etkisi

Genellikle 10 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda in vitro koşullarda nötrofiller veya ksantin dehidrogenaz/ksantin oksidaz sistemi tarafından meydana getirilen reaktif oksijen türlerininin hepsini bloke ettiği gösterilmiştir. Ayrıca CAPE linoleik asit ve araşidonik asitin 5'-lipooksijenaz enzimi tarafından oluşturulan oksijenasyonunu inhibe eder .

Yılmaz ve ark. streptozosin ile ratlarda deneysel diyabet oluşturmuşlar ve ratların karaciğer dokusunda MDA seviyeleri, SOD ve CAT enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Streptozosinin oluşturduğu hasar üzerine CAPE'nin koruyucu etkisini araştırmışlardır (96). Diyabetik yapılan ratların karaciğer dokusunda MDA seviyesinin ve SOD, CAT enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre artmış olduğunu bulmuşlardır. Streptozosin+CAPE grubunda MDA seviyelerinin ve SOD, CAT enzim aktivitelerinin kontrol grubuyla benzer olduğunu saptamışlardır. Yazarlar CAPE'nin diyabetik yapılan ratların karaciğer dokusunda oluşan oksidatif hasarı önlediğini savunmuşlardır (96). Gökalp ve ark. izoniazid ile ratların eritrositlerinde oksidatif hasar oluşturarak CAPE'nin bu hasarı önlemedeki etkinliğini araştırmışlardır. Ratların eritrositlerinde MDA seviyeleri, GSH-Px, SOD ve CAT enzim aktivitelerini incelemişlerdir. İzoniazid grubunda eritrositlerde MDA seviyesinin kontrol grubuna göre yükselmiş olduğunu bulmuşlardır. İzoniazid+CAPE grubunda ise MDA seviyesinin kontrol grubuyla benzer olduğunu görmüşlerdir. Yazarlar SOD enzim aktivitesini izoniazid grubunda anlamlı olarak arttığını bulmuşlardır. İzoniazid+CAPE grubunda ise SOD enzim aktivitesinde artış olmamasını, CAPE'nin ksantin oksidaz enzimi inhibisyonu yolu ile süperoksit radikallerini temizlemesine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinin izoniazid grubunda azalmış olarak tespit edilmesinin artmış oksidatif stresi desteklediğini savunmuşlardır. İzoniazid+CAPE grubunda GSH-Px seviyesinin izoniazid grubundan yüksek tespit edilmesinin CAPE'nin antioksidan enzim sistemi üzerine düzenleyici etkisine bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar izoniazid ile ratların eritrositlerinde oluşan oksidatif hasarı CAPE'nin önleyebileceğini savunmuşlardır (97). Propolis bileşenlerinden biri olan galanginin

ve CAPE'nin antioksidan etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; her iki bileşenin de ortamdaki O₂·- radikallerini ve ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini temizledikleri gösterilmiştir. Ayrıca CAPE'nin O₂·- radikallerini ve ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini temizleyici etkisinin galanginden daha belirgin olduğu da bildirilmiştir. Ayrıca CAPE'nin ortamdaki MDA seviyesini galanginden daha belirgin azalttığı bildirilmiştir (20).

Bu çalışmada amacımız, fruktoz tüketime bağlı oluşan damar hasarında CAPE'nin bir tedavi edici etkisinin olup olmadığını araştırmaktır. Literatür araştırmalarında böyle bir çalışmaya rastlamadık. Bunu göstermek için damarı iki açıdan değerlendirmeyi planladık; Kontrol, Fruktoz ve Fruktoz+CAPE verilmiş ratların damarlarında (torasik aortlarında in vitro) fenilefrin kasılma, asetilkolin gevşeme cevaplarını görmek ve değerlendirmek ve ayrıca, aynı damarın immünohistokimya yöntemiyle endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) kapasitesini ölçmek ve metabololik sendromda CAPE uygulamasının serum parametrelerine etkisini değerlendirmektir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Denekler ve Diyet

Bu çalışmanın deneysel protokolü Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulunun 04.04.2013 tarihli ve 51 no'lu onayı doğrultusunda yapılmıştır. Araştırmada 150-200 gr ağırlığında 8 haftalık Spraque-Dawley cinsi erkek ratlar (n=18) kullanıldı. Ratlar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (FÜDAM) temin edildi. Deneyletlerde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyoduna uyulup, sıcaklığı 21–24 °C olarak ayarlanmış bir ortamda tutuldu. Hayvanların tümü 6 hafta boyunca standart rat yemi ile beslendi.

Gruplar aşağıdaki şekilde planlandı:

Kontrol grubu (çeşme suyu), (n=6).

Fruktoz grubu: İçme suyu içerisinde altı hafta % 30 yüksek fruktozlu mısır şurubu (F-45) verilen grup, (n=6).

Fruktoz+CAPE grubu: İçme suyu içerisinde altı hafta % 30 yüksek fruktozlu mısır şurubu (F-45) ve son 2 hafta i.p. 50 mikromol/kg (15 mg/kg) CAPE verilen grup, (n=6).

2.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler:

Deneyletlerde kullanılan kimyasal maddeler (Fenilefrin, Asetilkolin) Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)'dan, CAPE Sigma ve Herb-Tech (China)'dan, eNOS kiti ise Thermo Scientific'den sağlandı. Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu (F-45), Sunar Grup kimyasallarından sağlandı.

Krebs çözeltisi (mM): NaCl :118, KCl :4.7, KH₂PO₄: 1.2, MgSO₄: 1.2, CaCl₂: 2.5, NaHCO₃: 25, Glukoz: 10.1 dan oluşmaktadır.

2.3 Kullanılan Araç ve Gereçler

2.3.1 İn-vitro İzole Organ Banyosu Deneyleri

- Çift cidarlı izole organ banyosu (BİOPAC marka-MP36 model)
- Gerim ileticisi (MP36)
- Amplifier (MP36)
- Bilgisayar kontrollü özel kaydedici sistem (MP36)
- Sirkülasyonlu su banyosu
- %95 O₂ ve %5 CO₂ içeren gaz karışım tüpü

2.3.2 Sistolik Kan Basıncı Ölçümü

- MAY BPHR 9610-PC TAIL-CUFF Indirect Blood Pressure Recorder

2.4 Biyokimyasal analizler

42 günlük deney süresi sonunda, tüm gruplardaki ratlar dekapite edilerek kan örnekleri alındı. Düz biyokimya tüplerine alınan kanlar 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serum örneklerinde glukoz, kolesterol, HDL, LDL, Trigliserid, Ürik asit, Homosistein düzeyleri OLYMPUS-AU600 (Olympus Optical Co. Japan) marka otoanalizör ile ölçüldü

2.5 Kullanılan Yöntemler

2.5.1 Sistolik Kan basıncı ölçümleri:

Bilinci açık ratların kan basıncı ölçümleri (sistolik kan basıncı) kuyruktan indirekt tail cuff yöntemi ile yapıldı (MAY BPHR 9610-PC TAIL-CUFF Indirect Blood Pressure Recorder) Tüm gruptaki ratların kan basıncı ölçümleri 0.ve 42. günlerde yapıldı. Alınan kan basıncı değerleri bilgisayara kaydedildi. Her ratdan 5 ölçüm alındı ve ortalamaları hesaplandı. Ortalama \pm standart hata (SH) olarak ifade edildi.

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

2.5.2 Rat Aorta Halkalarının Alınışı ve İn-vitro İzole Organ Banyosu Deneyleri

Dekapite edilen ratların karın boşluğundan başlayıp göğüs kafesi açılarak torasik aorta izole edilmiştir ve bekletilmeden soğuk krebs çözültisi içeren petri kabına konuldu. Petri kabına konulan torasik aorta çevre dokularından endotele zarar vermeyecek şekilde temizlendikten sonra 4 mm lik halkalar halinde kesildi. Aorta halkaları paslanmaz çelik kancalara takıldı. Daha sonra 10 ml lik izole organ banyosuna yerleştirildi. Dokular %95 O₂ ve %5 CO₂ karışımı ile havalandırılan

37 °C'deki Krebs çözeltisi içinde yaklaşık 1 g lık gerim altında 1-1.5 saat süreyle dengelenmeye bırakıldı. Bu süre boyunca banyolar her 15 dakikada bir yıkandı. Her halka yalnızca bir kez kullanıldı. Dokuların gerimindeki değişimler transducer (BİOPAC marka-MP36 model, gerim ölçer) aracılığıyla bilgisayara kaydedildi.

2.5.3 Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları

Dokular organ banyosuna asıldıktan sonra 1.5 saatlik dengelenmeye bırakıldı. Fenilefrinin (10^{-9} - 10^{-4} M) artan konsantrasyonlarda kümülatif verildi ve her dozda kasılma platoları net bir şekilde görülmeden diğer doza geçilmedi. Endotele bağımlı gevşeme cevapları almak için asetilkolin (10^{-9} - 10^{-4} M) dokulara 1.5 saatlik dengeye gelme periyodundan sonra artan dozlarda kümülatif olarak verildi.

2.6 İmmünohistokimyasal analizler

Torasik aorta örneklerinin diğer kısmı ise immünohistokimyasal olarak eNOS kapasitesine bakmak için %10'luk nötral formaldehit çözeltisine konularak tespit edildi. Parafin bloklardan 5–6 mm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H_2O_2 ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block solüsyonu ile muameleden sonra primer antikor (eNOS mouse monoclonal IgG, Thermo Scientific) ile 60 dakika inkübe edildi. Primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor (biotinli anti-mouse / rabbit IgG, Diagnostic BioSystems, KP 50A, Pleasanton, USA), streptavidin horseradish peroksidaz ve 3-Amino–9-ethyl carbazole kromojeni uygulandıktan sonra Mayer's hematoksilenle zıt boyama yapıldı. Negatif kontrol için hazırlanan dokularda primer antikor yerine phosphate buffered saline (PBS)

kullanıldı, diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı. PBS ve distile sudan geçirilen dokular uygun kapatma solusyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskobunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. İmmunohistokimyasal boyama yoğunluğu iki histolog tarafından bağımsız olarak değerlendirildi. eNOS boyanma derecesi boyanma yoksa (-), az boyanma (+), orta boyanma (++) ve gcl boyanma (+++) olacak şekilde skorlandı.

2.7 İstatistiksel analiz:

Elde edilen veriler ortalama±standart hata (SH) olarak belirtildi. Ortalamalar arasındaki farkların istatistiksel anlamlılık düzeylerini belirlemek için ‘‘SPSS 21.0’’ paket istatistik programları kullanıldı. İstatistiksel farklar bağımsız gruplarda ‘‘one-way ANOVA’’ ve ‘‘posthoc tukey’’ testleri ile hesaplandı. Aynı grubun farklı zaman noktalarındaki değerleri arasındaki fark değerlendirmek için ‘‘paired t test’’ kullanıldı. Elde edilen sonuçların yorumlanmasında $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1 Yem ve su alımı:

Deneklerin günlük ortalama yem ve su tüketiminde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. (Tablo 2)

Tablo 2: Deneklerin Günlük Ortalama Yem Tüketimleri

Gruplar	Yem Tüketimi (gr)	Su Tüketimi (ml)
Kontrol	18.25 ± 0.22	32.50 ± 0.85
Fruktoz	17.80 ± 0.33	33,40 ± 0,70
Fruktoz + CAPE	18.40 ± 0.35	32,20 ± 0,90

3.2 Deneklerin ağırlıkları:

Deneklerin ağırlık değişimlerinde anlamlı bir fark bulunmadı, (Tablo3).

Tablo 3: Tüm Gruplarda Deney Başlangıcı ve Deney Sonundaki Ağırlık Değişimleri

Gruplar	0. gün (gr)	42. gün (gr)
Kontrol	169,5 ± 14,50	353,83 ± 36,35
Fruktoz	161,67 ± 10,80	288,83 ± 44,00
Fruktoz+CAPE	162,50 ± 17,59	270,33 ± 33,48

3.3 Biyokimyasal analizler

Deneklerden 42. gün dekapitasyon esnasında alınan kan örnekleri biyokimya laboratuvarında analiz edildi (Tablo 4).

Tablo 4: Biyokimyasal Analizler

GRUPLAR	Glukoz mg/dl	Kolesterol mg/dl	HDL mg/dl	LDL mg/dl	Trigliserit mg/dl	Ürik asit mg/dl	Homosistein mg/dl
Kontrol	133±5,32	49,16±4,91	15,06±3,06	5,75±0,91	29,33±11,77	0,73±0,60	16,63±9,50
Fruktoz	151±5,13 ¥	67,50±6,25¥	18,09±1,05	11,75±2,66 ¥	64,50±11,71¥	1,28±0,17¥	55,21±9,17 ¥
Fruktoz+CAPE	121±13,94#	59,50±2,66¥#	15,35±1,96	9,1±1,57¥	58,33±9,41 ¥	1,31±0,19¥	24,53±8,80 #

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

Fruktoz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

Biyokimyasal analizlere göre fruktoz grubunda glukoz, kolesterol, LDL, HDL trigliserit, ürik asit ve homosistein değerleri kontrol grubuna göre yüksek olduğu bulundu, bu bulgular içinde HDL dışındakilerde istatistiksel olarak anlamlılık görüldü, ($p<0,05$). Fruktoz+CAPE grubunda glukoz, kolesterol ve homosistein değerleri fruktoz grubuyla karşılaştırıldığında kontrol değerlerine yakın olduğu bulundu ve bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı görüldü, ($p<0,05$). Ancak uygulanan CAPE'nin, fruktozla anlamlı olarak yükselen trigliserid, LDL ve Ürik asit düzeylerini düşürmediği görüldü.

3.4 Kan basınçları

Başlangıç (0. gün) SKB ortalamaları açısından gruplar arasında anlamlı fark görülmedi, ($p>0,05$). Deneyin sonunda (42. Gün) SKB ortalamaları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görüldü ($p<0,05$) (Tablo 5).

Tablo 5: Tüm Gruplarda Deney Başlangıcı ve Deney Sonundaki Sistolik Kan Basıncı Değişimleri

GRUPLAR	0. Gün (mmHg)	42. Gün (mmHg)
Kontrol	108,83 ± 3,37	110,83 ± 2,22
Fruktoz	108,17 ± 3,76	130,17 ± 8,03 ¥
Fruktoz+CAPE	105,33 ± 3,77	108,83 ± 2,31 #

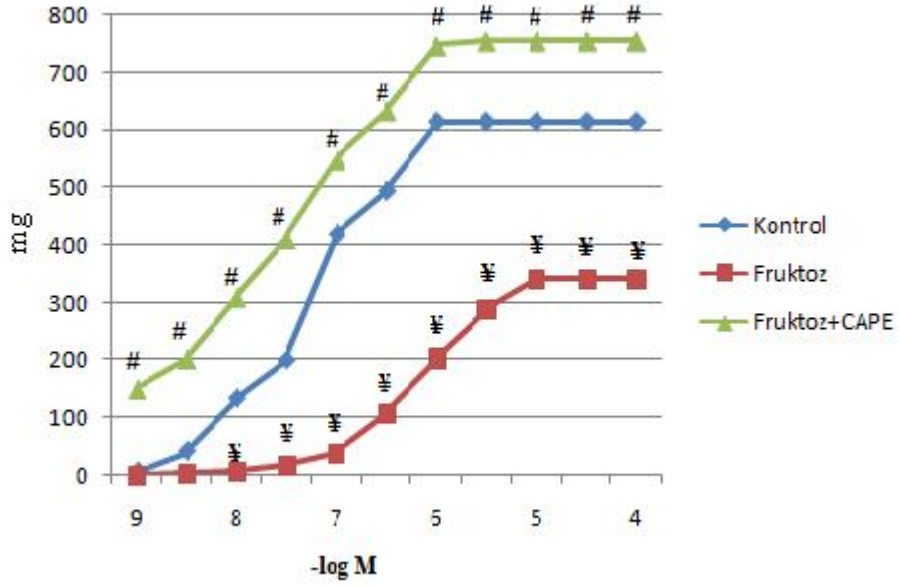
¥ Kontrole göre anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$)

Fruktoz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$)

Buna göre sistolik kan basıncı değerleri ortalaması 0.ve 42. gün için sırasıyla kontrol grubunda 108,83±3,3; 110,83±2,2, Fruktoz grubunda 108,17±3,76; 130,17±8,03 ve CAPE grubunda 105,33±3,77; 108,83±2,31 mmHg olarak hesaplandı. Başlangıç (0. gün) SKB ortalamaları açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). 42. gün SKB ortalamaları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar mevcuttu ($p<0,05$) (Tablo 3). Genel olarak 42. gün değerleriyle

karşılaştırıldığında fruktoz kontrole göre anlamlı olarak kan basıncını arttırdı ($p<0,05$). CAPE uygulanması fruktoza bağlı artmış kan basıncını düşürdü ($p<0,05$).

3.5 Rat torasik aorta halkalarında fenilefrin ile kasılma doz-cevapları

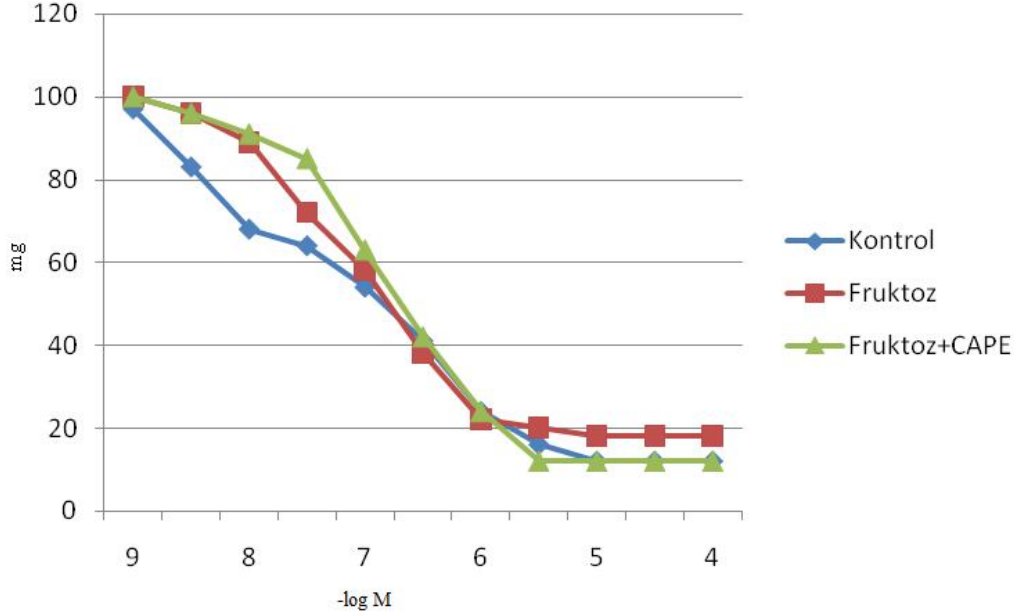


Şekil 1: Fenilefrin Kasılma Grafiği (-log M)

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$)
Fruktoz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$)

Dengelenme süresinden sonra kümülatif olarak uygulanan fenilefrin (10^{-9} - 10^{-4} M) rat aorta halkalarında konsantrasyona bağlı olarak kasılma cevapları oluşturdu. Fruktoz verilen gruplarda fenilefrin doz-cevap eğrilerinin kontrole göre anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (Şekil 1). Fruktoz tüketiminin fenilefrin kontraktıl cevapları üzerine bu etkisi E_{max} parametresi açısından anlamlı bulundu (Tablo 5). CAPE tedavisi yapılan grup fruktoz grubuyla karşılaştırıldığında, fruktoz tüketimiyle azalan fenilefrin kontraksiyonlarının CAPE tedavisinden sonra belirgin bir şekilde arttığı görüldü (Şekil 1).

3.6 Fenilefrin önkasılması sonrası rat torasik aorta halkalarında asetilkolin ile gevşeme doz-cevaplari



Şekil 2: Asetilkolin Gevşeme Grafiği

Fenilefrin ile rat aorta halkalarında oluşturulmuş kasılma (10^{-6} - 3×10^{-6} M) platoya ulaşip dengelendikten sonra, asetilkolin (10^{-9} - 10^{-5} M) kümülatif olarak eklendi. Sonuçlar Şekil 2' de gösterilmiştir. Üç grupta da asetilkolinin doza-bağımlı (10^{-9} - 10^{-5} M) yanıtlarının birbirine yakın olduğu tespit edildi. Anlamlı bir fark bulunmadı.

3.7 Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu uygulamasının Fenilefrin EC_{50} E_{max} değerleri üzerine etkileri:

Tablo 6: Tüm Gruplarda Fenilefrin EC_{50} ve E_{max} Değerleri.

Gruplar	EC_{50} (-log M)	E_{max} (mg)
Kontrol	$7,06 \pm 0,29$	$613,67 \pm 248,73$
Fruktoz	$6,13 \pm 0,17 \text{ ¥}$	$321,67 \pm 111,96 \text{ ¥}$
Fruktoz+CAPE	$7,54 \pm 0,72 \text{ #}$	$755,00 \pm 192,59 \text{ #}$

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ($p < 0,05$)

Fruktoz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ($p < 0,05$)

Kontrol, Fruktoz ve Fruktoz+CAPE gruplarında fenilefrin doz-cevap eğrisi üzerindeki etkileri EC_{50} ve E_{max} parametreleri açısından anlamlı farklar vardır (Tablo 6).

3.8 İmmünohistokimyasal olarak eNOS değerleri

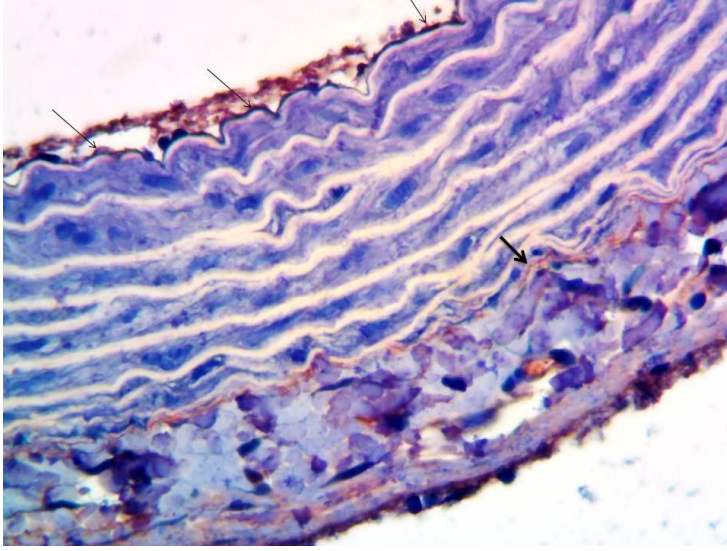
Damar dokusu duvarında meydana gelen immunreaktivitenin belirlenmesi için immunboyama yapıp gruplar arası fark semi-kantitatif olarak değerlendirildi. Skorlama; -, yok; +1, hafif; +2, orta; +3, şiddetli olarak ifade edildi (Tablo 7)

Tablo 7: eNOS İmmünohistokimyasal Boyanma Yaygınlığının Derecesi (eNOS immuboyama Pozitifliği)

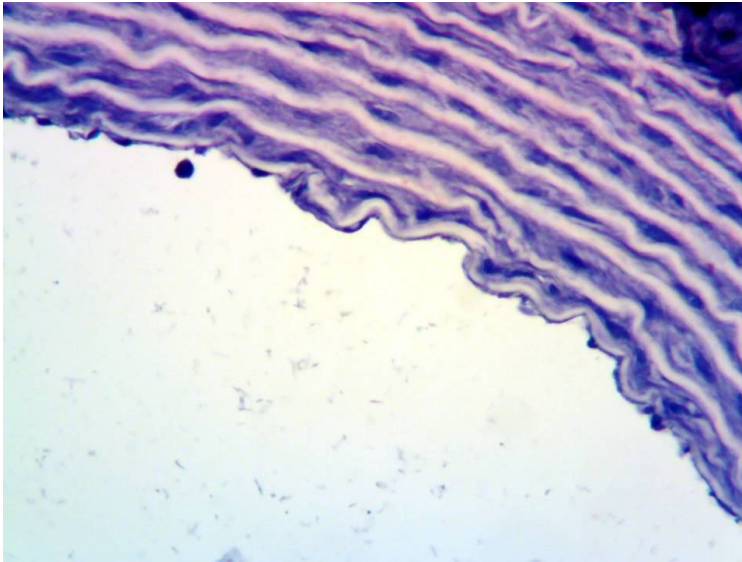
Gruplar	Endotel	Adventisya
Kontrol	+1	+1
Fruktoz	-	-
Fruktoz+CAPE	+2	+1
Negatif Kontrol	-	-

Ratlardan alınan aorta abdominalise ait doku kesitlerine yapılan immünboyama sonucu; deney gruplarının bazılarında, damar duvarının intima tabakasının özellikle endotel kısmında ve bir miktarda adventisya tabakasında boyanma tespit edilmiştir. Kontrol grubu olan rat damar dokularına uygulanan immünboyama değerlendirildiğinde, hem endotel hem de adventisyada hafif derecede (+1) eNOS immunreaktivitesi ayırt edildi (Şekil 3). Fruktoz uygulanarak hastalık oluşturulan ratlara ait damar kesitlerinde, eNOS immunreaksiyonu (-) gözlenmedi (Şekil 4-5). Fruktoz ve CAPE'nin birlikte uygulandığı ratların damar dokularında ise; endoteldeki eNOS immunreaksiyonu, kontrol grubuna kıyasla daha fazla idi ve orta pozitiflikte (+2) izlenirken (Şekil 6), aynı grup adventisya tabakasına ait boyanma, kontrol grubu ile benzerdi ve hafif derecede (+1)

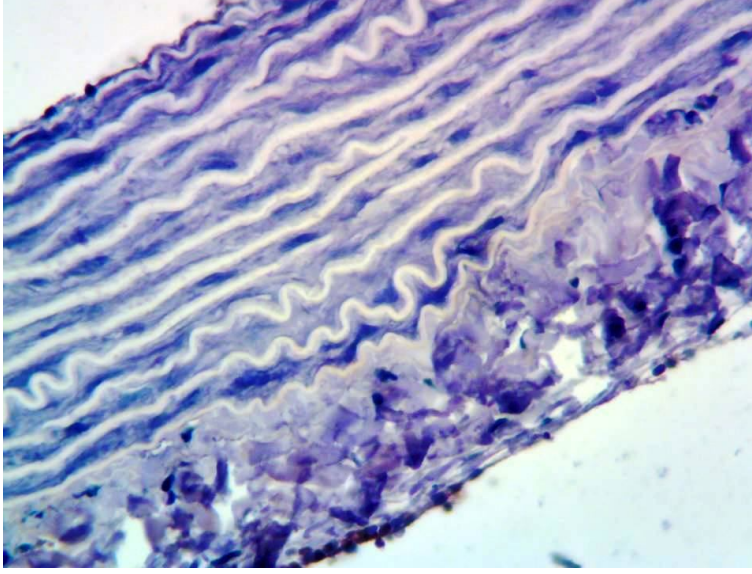
immunreaktivite tesbit edildi (Şekil 7) . Negatif kontrol grubuna ait damar doku kesitlerindeki immunboyama sonucunda ise; eNOS immunreaksiyonu izlenmedi (Şekil 8).



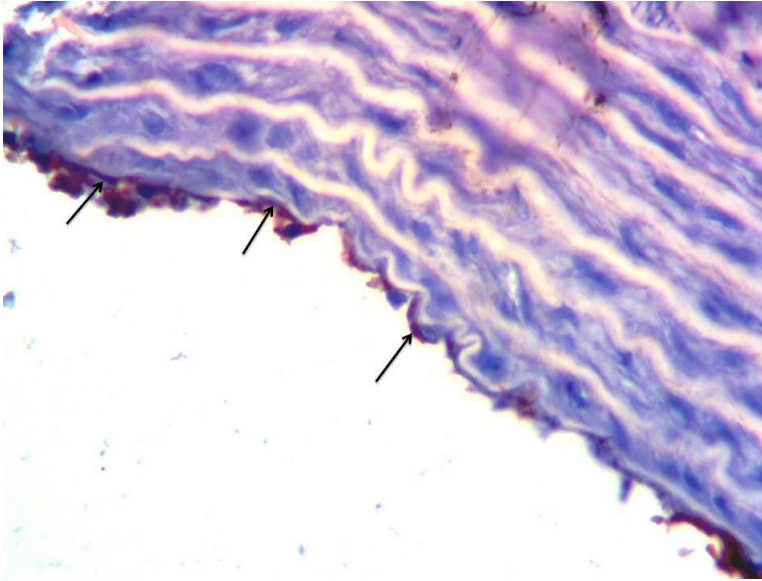
Şekil 3: Kontrol grup rat damar dokusu endotel (ince ok) ve adventisyasına (kalın ok) ait eNOS immunreaktivitesi ayırtedilmektedir, X400.



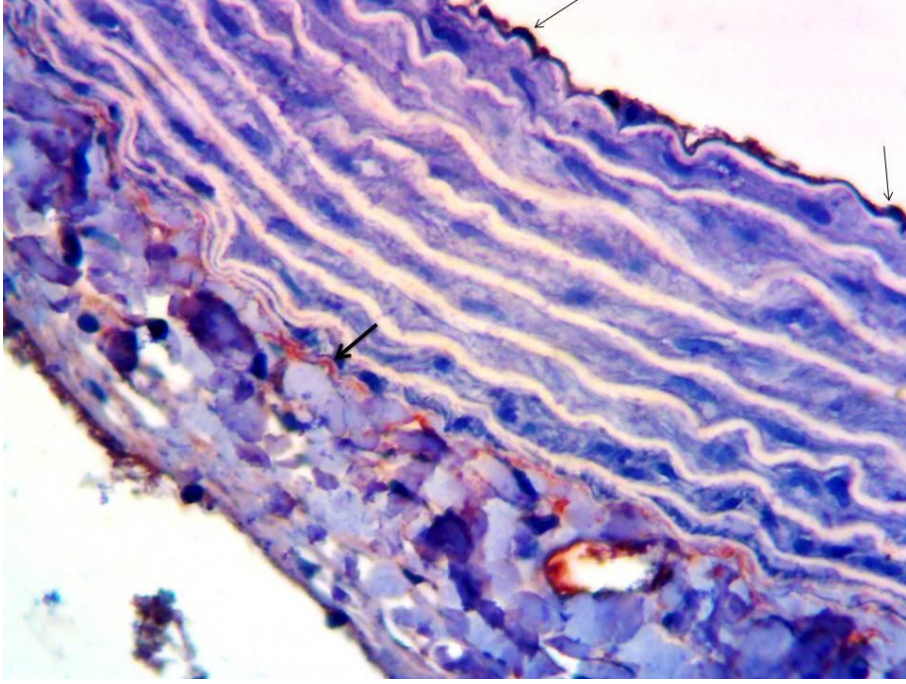
Şekil 4: Fruktoz grubu rat damar dokusunda eNOS immünreaktivitesinin olmadığı gözlenmektedir, X400.



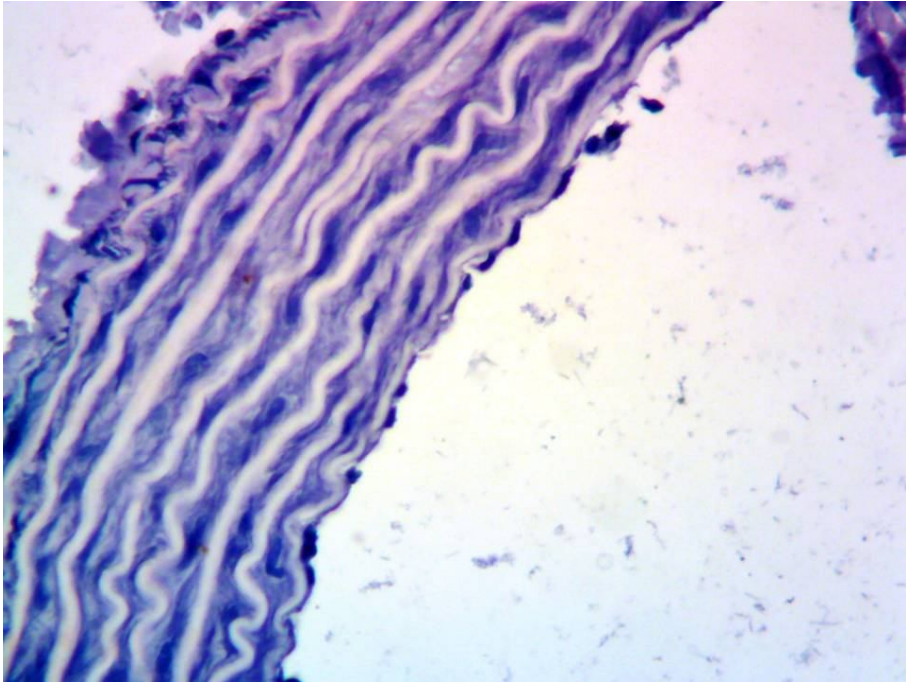
Şekil 5: Fruktoz grubu rat damar dokusu tabakalarında eNOS immünreaktivitesinin olmadığı izlenmektedir, X400.



Şekil 6: Fruktoz + CAPE uygulanan rat damar dokusu endotel tabakasında eNOS immünreaktivitesi (ok) gözlenmektedir, X400.



Şekil 7: Fruktöz + CAPE uygulanan rat damar dokusu endotel (ince ok) ve adventisyasına (kalın ok) ait eNOS immunreaktivitesi ayırtedilmektedir, X400.



Şekil 8: Negatif Kontrol, X400.

4. TARTIŞMA

Fruktoz ile ratlarda meydana gelen metabolik sendromda vasküler bozukluğun yapısal ve işlevsel nedeni henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Üç grup üzerinde yürütülen çalışmamızda kontrol ve altı haftalık fruktoz grubu ratlardan izole edilen torasik aorta halkalarında fenilefrin ile elde edilen kasılma yanıtları ile asetilkolin ile elde edilen endotele bağımlı gevşemeler incelenmiş ve başka bir grupta ise fruktoz verilen ratlara CAPE verilerek yanıtlar üzerine CAPE'nin in vivo etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarında, metabolik sendromun göstergeleri olan hipertansiyon, hiperglisemi, hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemi bulguları altı hafta fruktoz verilen grupta gözlemlendi. Hwang ve arkadaşları 1987 yılında diyet içinde verilen %66 fruktozun ratlarda hipertansiyon, hipertrigliseridemi ve hiperinsülinemiye neden olduğunu göstermişlerdir (99). Laboratuvar hayvanı olarak kullanılan rodentlerin diyetine fruktoz eklenmesinin 6-8 hafta sonunda kan basıncını yükselttiği gözlemlenmiştir (100-102). Yüksek fruktozla beslenmeyle metabolik sendrom oluşturma şekli fruktoz konsantrasyonuna ve beslenme süresine bağlı olarak değişmektedir (103). Yüksek fruktoz içeriğinin bu süre içinde hayvanlarda ağırlık artışına neden olmadığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da deneklerin ağırlık artışlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edildi. Bu açıdan insanlardaki obezitenin eşlik etmediği metabolik sendromu taklit etmektedir. Yukarıda bahsedilen çalışmalarda metabolik sendrom bulguları çalışmamızdaki fruktoza bağlı olarak ortaya çıkan hipertansiyon, hiperglisemi, hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemi bulgularını desteklemektedir. Plazma insülin düzeyinin azaltılması ya da insülin sensitizasyonu oluşturulması fruktozun oluşturduğu hipertansiyonu düzeltmektedir.

Örneğin bu hayvanlara egzersiz yapılmasından sonra insüline duyarlılığının arttığı, insülin düzeyinin azaldığı ve hayvanların kan basıncınının düştüğü gözlenmiştir (104). İnsüline duyarlılığı artıran pek çok bileşiğin örneğin metformin ya da tiazolidindionların kan basıncını düşürdüğü gözlemlenmiştir (102, 105) Bu bulgular insülin direnci ve hiperinsülineminin hipertansiyona neden olduğunu göstermektedir. İnsülin direnci hiperinsülinemi ile hipertansiyon ilişkisinde pek çok mekanizma ileri sürülmüştür; bunlar içinde sempatik sinir sistemi aktivasyonu vazokonstriktör bileşiklerden endotelin-1 (ET-1), anjiyotensin II, tromboksan A2 (TxA2) aktivitesinin arttığı ileri sürülmüştür (106-108). Yetişkin 2 aylık Wistar ratları üzerinde yapılan bir araştırmada, içme suyu içinde %10 fruktozun iki hafta boyunca verilmesinden sonra fruktoz içen hayvanların vücut ağırlığının kısmen azaldığı fakat bunun anlamlı bulunmadığı, kan glukoz düzeyinin ise değişmediği saptanmıştır. Periferik damar direncinin fruktoz içen grupta anlamlı şekilde arttığı ve kalp debisinin düştüğü bulunmuştur (109). Bir başka araştırmada (110) , 14 gün boyunca içme suyu içinde %23 glukoz fruktoz ve sukroz verilerek metabolik sendrom oluşturulmuştur. Hayvanların su içme miktarı karşılaştırıldığında fruktoz içen grubun su içme miktarı kontrol hayvanlara eşit bulunmuştur. Fakat glukoz ve sukroz içen grupta miktarın arttığı görülmüştür. Hayvanların ağırlık artışı karşılaştırıldığında gruplar arası belirgin bir fark gözlenmemiştir.

Çalışmamızda, fruktoz+CAPE grubunda ise kan glukoz, kolesterol ve homosistein düzeyinin düzeldiği görüldü. Bizim sonuçlarımızı destekleyen bir çalışmada CAPE, diyabette meydana gelen hipertansiyon, hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemi bulgularını düzeltmiştir (111). Bu çalışmada, hipertansiyonu düzeltmede, CAPE'nin diyabette damarda meydana kollajen sentezini önleyerek damar tonusunu düzelttiği tezi savunulmuştur. Ayrıca CAPE'nin insülin direncini

azaltarak kan şekerini düşürdüğü bu çalışmada savunulmuştur. Çünkü insülin direncinde TNF- α düzeyi en önemli bir göstergedir. Bu çalışmada CAPE TNF- α düzeyini anlamlı bir şekilde düşürmüş ve insülin seviyesin normale döndürmüştür. Yine yapılan diğer bir çalışmada cadmiyuma bağlı oluşan hipertansiyonda CAPE bu olumsuzluğu önlemiştir (112).

eNOS düzeyinin çalışmamızda fruktoz grubundaki damarlar preparatlarında kontrole göre düşük çıkması fruktoz grubundakilerinin tansiyonunun yüksek çıkmasını açıklayabilir. Yine tedavi olarak CAPE verilen gruplarının damarlarındaki preparatlarında eNOS düzeyinin fruktoz grubuna göre anlamlı olarak yüksek çıkması tansiyonun neden kontrole yakın çıktığını desteklemektedir. Endotel hücrelerinde eNOS aktivitesi sonucu üretilen NO, endotel tabakası altındaki düz kas dokusuna difüzyon ile ulaşır ve gevşemeye yol açarak vasküler tonusun ve kardiyovasküler homeostazın düzenlenmesinde önemli rol oynar (80) ve NO tansiyonun kontrolünde önemli bir yere sahiptir (113).

Çalışmamızın diğer bir sonucu ise; fenilefrin ile elde edilen kasılma yanıtlarında fruktoz grubundakilerinde kontrollere göre anlamlı azalma ve Fruktoz+CAPE grubundakilerinde ise normale döndüğü görülmüştür. Buna karşın, Fruktoz ve Fruktoz+CAPE gruplarındaki ratlardan altı hafta sonunda elde edilen torasik aorta halkalarında asetilkolin ile oluşturulan endotele bağımlı gevşeme yanıtlarının kontrollerden farksız olduğudur.

Çalışmamızda olduğu gibi, diğer bir grup araştırmacı fruktoz verilen ratlarda alınan aortada hem maksimal kontraktıl yanıtların hem de agonistlere duyarlılığın azaldığını göstermiştir (114). Katsuo ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada beş haftalık ratlar kullanılmış ve 3 grup oluşturulmuş (kontrol, on iki hafta boyu fruktoz

verilen grup ve STZ ile oluşturulan diabet grubu) ve sonrasında tansiyonları ölçülmüş, fruktoz ve STZ-diyabet gruplarının tansiyonları anlamlı olarak kontrol grubundan yüksek çıkmıştır. Ancak, bu ratlarda izole ettikleri aort şeritlerini kullanmışlar ve noradrenalin, KCL ve seratonin ile uyarılan kasılmaların kontrollere göre anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir. Ayrıca bu gruplarda asetilkolin ve sodyum nitroprussid ile elde ettikleri gevşeme yanıtlarının ise kontrollerdeki ile aynı olduğunu göstermişleridir. Tüm bu bulgular çalışmamızdaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Bu elde ettikleri bulgularda, fruktoz ile beslenen ratlarda endotelde guanizin trifosfat (GTP)-bağlayıcı protein aktivitesinin arttığı ve bu da andrenjik alfa-2 reseptörlerine bağlanarak onun etkinliğini artırarak bu sonucun ortaya çıkarttığını öne sürmüşlerdir. Yine benzer başka bir çalışmada bu sonucun, damar kontraksiyonu için gerekli olan hücre içi depolardan kalsiyum salınımının ve hücre dışı kalsiyumun hücre içine girişinin diyabette azalmış olabileceği, ayrıca diyabetik aortanın enerji üretim yollarındaki bir bozukluk sonucu ATP oluşumunun azalabileceğini ve bunun da kontraktiletiyi inhibe edebileceğinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (115). Diyabette protein sentezinin de inhibe olduğu göz önüne alındığında, yanıtlardaki azalışın kontraktıl protein işlevlerindeki olası bir değişiklikten kaynaklanabileceğini düşünmek mantıksal bir yaklaşım olacaktır. Gerçekten de deneysel diyabette, aktin ve mikrotübüllerin glikozilasyonu sonucu yapısal ve işlevsel değişime uğrayabildikleri gösterilmiştir (116).

Yine başka bir araştırmada on iki haftalık STZ-diyabetik rat aort şeritlerinde fenilefrin ve KCI yanıtları incelenmiştir ve agonist yanıtlarının diyabetiklerde kontrole göre anlamlı olarak azaldığını bulmuşlardır (117). Rat aortunda otonomik innervasyon çok düşük bir düzeyde olduğu için yanıtlardaki azalmanın diyabetik

nöropatiden kaynaklanmadığını öne sürmüşleridir. Bunun yanısıra, elde edilen bulguların hipergliseminin direkt etkisiyle de ilişkili olmadığını bildirmişleridir. Çünkü insülin tedavili ratlarda kan şekeri hala yüksek düzeyde olmasına karşın, yanıtların normale döndüğünü göstermişlerdir. Bu sonuçta yanıtlardaki azalmadan hiperglisemiden çok hipoinsülineminin sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Literatürlerdeki diğer çalışmalara baktığımızda çalışmamız bulgularını destekleyen başka çalışmalara da rastlamaktayız. Örneğin, kronik perfüze damar yataklarında (118), STZ-diyabetik (119) ve alloksan (ALL)-diyabetik (120) izole rat aort preparatlarında çeşitli agonistlere karşı vasküler reaktivitenin ve/veya duyarlılığın azaldığını göstermişlerdir. Bu veriler çalışmamızda gözlenen fenilefrin kontraktıl yanıtlarındaki azalmanın alfa adrenerjik reseptör sayısı veya afinitesindeki azalma sonucu olabileceğini düşündürmektedir. Gerçekten de diyabetik ratlarda alfa adrenerjik yanıtların azaldığını gösteren araştırmalar (121-124) bu tezi kanıtlar niteliktedir. Bizim sonuçlarımızı destekleyen diğer bir çalışmalarda da STZ-diyabetik rat aortasında endotel bağımlı asetilkolin gevşemelerinde kontrollere göre fark olmadığı gösterilmiştir (125-128). Ayrıca başka bir çalışmada (129) da bazal ve asetilkolin ile stimüle edilmiş siklik guanozin monofosfat (sGMP) oluşumunda STZ-diyabetik rat aortasında herhangi bir değişme olmadığını bildirmişlerdir. Benzer bir başka çalışmada da ALL-diyabetik ratların mezenterik arterlerinde asetilkolin yanıtlarında herhangi bir değişme olmadığı bulunmuştur (130).

Sonuç olarak bu çalışmada fruktoz uygulanmış ratlarda fenilefrine verilen kasılma yanıtlarının kontrolden anlamlı olarak az, asetilkolin ile elde edilen gevşeme yanıtlarının ise kontrolden farksız olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çalışmamızda, tedavi

amaçlı uygulanan CAPE ise fruktoza bağlı fenilefrine bağlı kasılma cevaplarındaki azalmayı düzeltmiş olduğu görülmüştür. (eNOS) immün aktivitesi yönünde, fruktozda anlamlı olarak azalma ve tedavi amaçlı verilen CAPE grubunda (fruktoz+CAPE) ise anlamlı olarak artma gözlemlendi. Yani CAPE'nin, fruktozla oluşan damar kasılmalarındaki bozukluğu düzelttiği görülmektedir. CAPE, Ornitin karboksilaz, 5- α redüktaz, proteaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz, ksantin oksidaz, HIV-1 integras gibi enzimlerin potansiyel inhibitörüdür. Nükleer transkripsiyon faktörü olan Nükleer Faktör Kappa-B'nin aktive olmasını özgül ve güçlü bir şekilde engeller. CAPE'nin bu özellikleri ile tezimizde yüksek fruktozlu mısır şurubu (fruktoz) verdiğimiz ratlarda oluşan metabolik sendrom belirtilerini ve damarlardaki oluşan bozuklukları düzelttiğini düşünmekteyiz. Ancak bu durumu açıklığa kavuşturacak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Madero M, Perez-Pozo SE, Jalal D, Johnson RJ, Sánchez-Lozada LG. Dietary fructose and hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2011; 13: 29-35.
2. Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang DH, Gersch MS, Benner S, Sánchez-Lozada LG. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 899-906.
3. Kizhner T, Werman MJ. Long-term fructose intake: biochemical consequences and altered renal histology in the male rat. *Metabolism* 2002; 51: 1538-47.
4. Korkmaz A. Fruktoz; Kronik Hastalıklar İçin Gizli Bir Tehdit. *TAF Prev Med Bull* 2008; 7: 343-6.
5. Tam CS, Garnett SP, Cowell CT, Campbell K, Cabrera G, Baur LA. Soft drink consumption and excess weight gain in Australian school students: results from the Nepean study. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30: 1091-3.
6. Moreno LA, Rodriguez G. Dietary risk factors for development of childhood obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10: 336-41.
7. Ochoa MC, Moreno-Aliaga MJ, Martinez-Gonzalez MA, Martinez JA, Marti A. Predictor factors for childhood obesity in a Spanish case-control study. *Nutrition* 2007; 23: 379-84.
8. Malik VS, Schulze MB, Hu FB. Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 274-88.
9. Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Jimenez A, Bautista P, Cristobal M, Nepomuceno T, Soto V, Avila-Casado C, Nakagawa T, Johnson RJ, Herrera-Acosta J, Franco M. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: 423-9.
10. Ferder L, Ferder MD, Inserra F. The Role of High-Fructose Corn Syrup in Metabolic Syndrome and Hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2010; 12: 105-12.
11. Tappy L, Le KA. Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. *Physiol Rev* 2010; 90: 23-46.
12. D'Angelo G, Elmarakby AA, Pollock DM, Stepp DW. Fructose feeding increases insulin resistance but not blood pressure in Sprague-Dawley rats. *Hypertension* 2005; 46: 806-11.
13. Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987; 10: 512-6.
14. Tran LT, Yuen VG, McNeill JH. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Mol Cell Biochem* 2009; 332: 145-59.
15. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, Ialenti A. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* 2002;73: 53-63.
16. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 2002;73: 1-6.
17. Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SA, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol.* 1991, 35(1):77-82.
18. Wang X, Bowman PD, Kervin SM, Stavchansky S. Stability of caffeic acid phenethyl ester and its fluorinated derivative in rat plasma. *Biomed Chromatogr* 2007; 21: 343-350.

19. Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett.* 1993, 23;329(1-2):21-4.
20. Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 2002; 73: 21-29.
21. Jaiswal AK, Venugopal R, Mucha J, Carothers AM, Grunberger D. Caffeic acid phenethyl ester stimulates human antioxidant response element-mediated expression of the NAD(P)H:quinone oxidoreductase (NQO1) gene. *Cancer Res* 1997; 57: 440-446.
22. Huang MT, Ma W, Yen P, Xie JG, Han J, Frenkel K, Grunberger D, Conney AH. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion in mouse skin and the synthesis of DNA, RNA and protein in HeLa cells. *Carcinogenesis* 1996;17: 761-765
23. Son S, Lobkowsky EB, Lewis BA. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): synthesis and X-ray crystallographic analysis. *Chem Pharm Bull* 2001; 49: 236-238.
24. Natarajan K, Singh S, Burke TR Jr, Grunberger D, Aggarwal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcriptionfactor NFkappaB. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996, 20;93(17):9090-5.
25. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-421.
26. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15:539-53.
27. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607, 1988.
28. Grundy SM. Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 629-36.
29. Zimmet P, Magliano D, Matsuzawa Y, Alberti G, Shaw J. and a new definition. *J Atheroscler Thromb* 2005; 12: 295-300.
30. Mehmet Ali Nahit Şendur, Gülay Sain Güven, Metabolik Sendroma Güncel Bakış, İç Hastalıkları Dergisi 2011; 18: 125-131.
31. Park YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB. The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Intern Med* 2003;163:427-36.
32. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1999.
33. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome 2005. Available at: URL:http://www.idf.org/webdata/docs/Metsyndrome_Final.pdf
34. Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Derneği, Metabolik Sendrom Kılavuzu 2009.
35. Lu KH, Chan YL, Chan WB, Chan JC, Chu CW. Mesenteric fat thickness is an independent determinant of metabolic syndrome and identifies subjects with increased carotid intima-media thickness. *Diabetes Care* 2006; 29: 379-84.
36. Matsuzawa Y. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett* 2006; 80: 2917-21.
37. Aytekin Oğuz, Mehmet Uzunlulu, Aysun Sevük, Yaşlıda Metabolik Sendrom ve Önemi, Akademik Geriatri,2011;3(2).

38. Hajjar I, Kotchen TA. Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the United States, 1988-2000. *JAMA* 2003;290:199-206.
39. Oğuz A, Metabolik Sendrom, Ed.Özata M,Yönem A, Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet, 1. baskı. İstanbul: İstanbul Medical yayıncılık;2006:550-65.
40. Balcı M.K, Metabolik Sendrom, Türkiye Klinikleri J Med Sci 2008;28:102-106.
41. Bhosale SH, Rao MB, Deshpande VV. Molecular and industrial aspects of glucose isomerase. *Microbiol Rev* 1996; 60: 280-300.
42. Mayes PA. Intermediary metabolism of fructose. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 754-65.
43. Wolf A, Bray GA, Popkin BM. A short history of beverages and how our body treats them. *Obes Rev* 2008; 9: 151-64.
44. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr* 2004; 79:537-43.
45. Macdonald I, Keyser A, Pacy D. Some effects, in man, of varying the load of glucose, sucrose, fructose, or sorbitol on various metabolites in blood. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: 1305-11.
46. Levi B, Werman MJ Long-term fructose consumption accelerates glycation and several age-related variables in male rats. *J Nutr* 1998; 128: 1442-9.
47. Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005; 63: 133-57.
48. Hallfrisch J. Metabolic effects of dietary fructose. *FASEB J* 1990; 4: 2652-60.
49. Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Soto V, Avila-Casado C, Franco M, Wessale JL, Zhao L, Johnson RJ. Effect of febuxostat on the progression of renal disease in 5/6 nephrectomy rats with and without hyperuricemia. *Nephron Physiol* 2008; 108:p6978.
50. Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O, Ouyang X, Feig DI, Block ER, Herrera-Acosta J, Patel JM, Johnson RJ. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: F625-31.
51. Stirpe F, Della Corte E, Bonetti E, Abbondanza A, Abbati A, De Stefano F. Fructose-induced hyperuricaemia. *Lancet* 1970; 2: 1310-1.
52. Rutledge AC, Adeli K. Fructose and the metabolic syndrome: pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutr Rev* 2007; 65: 13-23.
53. Stanhope KL, Havel PJ. Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. *Curr Opin Lipidol* 2008; 19: 16-24.
54. Gao X, Qi L, Qiao N, Choi HK, Curhan G, Tucker KL, Ascherio A. Intake of added sugar and sugar-sweetened drink and serum uric acid concentration in US men and women. *Hypertension* 2007; 50: 306-12.
55. Peredo HA, Mayer MA, Rodriguez Fermepin M, Grinspon D, Puyo AM. Oral treatment and in vitro incubation with fructose modify vascular prostanoid production in the rat. *Auton Autacoid Pharmacol* 2006; 26: 15-20.
56. Raben A, Vasilaras TH, Moller AC, Astrup A. Sucrose compared with artificial sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subjects. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 721-9.
57. Mazzali M, Hughes J, Kim YG, Jefferson JA, Kang DH, Gordon KL, Lan HY, Kivlighn S, Johnson RJ. Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism. *Hypertension* 2001; 38: 1101-6.
58. Alderman MH, Cohen H, Madhavan S, Kivlighn S. Serum uric acid and cardiovascular events in successfully treated hypertensive patients. *Hypertension* 1999; 34: 144-150.

59. Vaccarino V, Krumholz HM. Risk factors for cardiovascular disease: one down, many more to evaluate. *Ann Intern Med* 1999; 131: 62-3.
60. Nyby MD, Abedi K, Smutko V, Eslami P, Tuck ML. Vascular Angiotensin type 1 receptor expression is associated with vascular dysfunction, oxidative stress and inflammation in fructose-fed rats. *Hypertens Res* 2007; 30: 451-7.
61. Busserolles J, Gueux E, Rock E, Demigne C, Mazur A, Rayssiguier Y: Oligofructose protects against the hypertriglyceridemic and pro-oxidative effects of a high fructose diet in rats. *J Nutr* 2004; 133: 1903-8.
62. Shinozaki K, Ayajiki K, Nishio Y, Sugaya T, Kashiwagi A, Okamura T. Evidence for a causal role of the renin-angiotensin system in vascular dysfunction associated with insulin resistance. *Hypertension* 2004; 43: 255-62.
63. Bell RC, Carlson JC, Storr KC, Herbert K, Sivak J: Highfructose feeding of streptozotocin-diabetic rats is associated with increased cataract formation and increased oxidative stress in the kidney. *Br J Nutr* 2000; 84: 575-82.
64. Miatello R, Risler N, Castro C, Gonzalez S, Ruttler M, Cruzado M: Aortic smooth muscle cell proliferation and endothelial nitric oxide synthase in fructose-fed rats. *Am J Hypertens* 2001; 14: 1135-141.
65. Cirillo P, Gersch MS, Mu W, Scherer PM, Kim KM, Gesualdo L, Henderon GN, Johnson RJ, Sautin YY: Ketoheokinase-dependent metabolism of fructose induces proinflammatory mediators in proximal tubular cells. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 545-53.
66. Kanbay M, Sánchez-Lozada LG, Franco M, Madero M, Solak Y, Rodriguez-Iturbe B, Covic A, Johnson RJ. Microvascular disease and its role in the brain and cardiovascular system: a potential role for uric acid as a cardiorenal toxin. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 430-7.
67. Kang DH, Nakagawa T, Feng L, Watanabe S, Han L, Mazzali M, Truong L, Harris R, Johnson RJ. A role for uric acid in the progression of renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2888-97.
68. Wang X, Jia X, Chang T, Desai K, Wu L. Attenuation of Hypertension Development by Scavenging Methylglyoxal in Fructose-Treated Rats. *J Hypertens* 2008; 26: 765-72.
69. Yu MA, Sanchez-Lozada LG, Johnson RJ, Kang DH. Oxidative stress with an activation of the renin-angiotensin system in human vascular endothelial cells as a novel mechanism of uric acid-induced endothelial dysfunction. *J Hypertens* 2010; 28: 1234-42.
70. Chen L, Caballero B, Mitchell DC, Loria C, Lin PH, Champagne CM, Elmer PJ, Ard JD, Batch BC, Anderson CA, Appel LJ. Reducing consumption of sugar-sweetened beverages is associated with reduced blood pressure: a prospective study among United States adults. *Circulation* 2010; 121: 2398-406.
71. Tran LT, Yuen VG, McNeill JH. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Mol Cell Biochem* 2009; 332: 145-59.
72. Jiang J, Tran L, Vasudevan H, Xia Z, Yuen VG, McNeill JH. Endothelin-1 blockade prevents COX2 induction and TXA2 production in the fructose hypertensive rat. *Can J Physiol Pharmacol* 2007; 85: 422-9.
73. Manitius J, Baines AD, Roszkiewicz A. The effect of high fructose intake on renal morphology and renal function in rats. *J Physiol Pharmacol* 1995; 46: 179-83.
74. Palanisamy N, Viswanathan P, Anuradha CV. Effect of genistein, a soy isoflavone, on whole body insulin sensitivity and renal damage induced by a high-fructose diet. *Ren Fail* 2008; 30: 645-54.
75. Gersch MS, Mu W, Cirillo P, Reungjui S, Zhang L, Roncal C, Sautin YY, Johnson RJ, Nakagawa T. Fructose, but not dextrose, accelerates the progression of chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F1256-61.

76. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
77. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 9265-9.
78. Murad F. Nitric oxide signaling: Would you believe that a simple free radical could be a second messenger, autacoid, paracrine substance, neurotransmitter, and hormone? *Recent Prog Horm Res* 1998; 53: 43-59.
79. Forstermann U, Closs EI, Pollock JS, et al. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* 1994; 23: 1121-31.
80. Vanhoutte PM. Endothelium and control of vascular function. State of the Art Lecture. *Hypertension* 1989; 13: 658-67.
81. Buga GM, Gold ME, Fukuto JM, et al. Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 1991; 17: 187-93.
82. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986; 250: 1145-9.
83. Amezcua JL, Dusting GJ, Palmer RM, et al. Acetylcholine induces vasodilatation in the rabbit isolated heart through the release of nitric oxide, the endogenous nitrovasodilator. *Br J Pharmacol* 1988; 95: 830-4.
84. Newby DE, Boon NA, Webb DJ. Comparison of forearm vasodilatation to substance P and acetylcholine: Contribution of nitric oxide. *Clin Sci (Colch)* 1997; 92: 133-8.
85. Bogle RG, Coade SB, Moncada S, et al. Bradykinin and ATP stimulate L-arginine uptake and nitric oxide release in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 180: 926-32.
86. Kuga T, Mohri M, Egashira K, et al. Bradykinin-induced vasodilation of human coronary arteries in vivo: Role of nitric oxide and angiotensin-converting enzyme. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 108-12.
87. Namiki A, Hirata Y, Ishikawa M, et al. Endothelin-1-and endothelin-3-induced vasorelaxation via common generation of endothelium-derived nitric oxide. *Life Sci* 1992; 50: 677-82.
88. Pollock DM. Chronic studies on the interaction between nitric oxide and endothelin in cardiovascular and renal function. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999; 26: 258-61.
89. Whittle BJ, Lopez-Belmonte J, Rees DD. Modulation of the vasodepressor actions of acetylcholine, bradykinin, substance P and endothelin in the rat by a specific inhibitor of nitric oxide formation. *Br J Pharmacol* 1989; 98: 646-52.
90. Kelm M, Feelisch M, Krebber T, et al. Mechanisms of histamine-induced coronary vasodilatation: H1-receptor-mediated release of endothelium-derived nitric oxide. *J Vasc Res* 1993; 30: 132-8.
91. Lantone F, Iouzaen L, Devynck MA, et al. Nitric oxide production in human endothelial cells stimulated by histamine requires Ca²⁺ influx. *Biochem J* 1998; 330: 695-9.
92. Russ RD, Walker BR. Role of nitric oxide in vasopressinergic pulmonary vasodilatation. *Am J Physiol* 1992; 262: 743-7.
93. Tagawa T, Imaizumi T, Endo T, et al. Vasodilatory effect of arginine vasopressin is mediated by nitric oxide in human forearm vessels. *J Clin Invest* 1993; 92: 1483-90.
94. Chen LY, Mehta JL. Further evidence of the presence of constitutive and inducible nitric oxide synthase isoforms in human platelets. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27: 154-8.
95. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5193-7.

96. Yilmaz HR, Uz E, Yucel N, Altuntas I, Ozcelik N. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Mol Toxicol* 2004; 18: 234-238.
97. Gokalp O, Uz E, Cicek E, Yilmaz HR, Ozer MK, Altunbas A, Ozcelik N. Ameliorating role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against isoniazid-induced oxidative damage in red blood cells. *Mol Cell Biochem* 2006; 290: 55-59.
98. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
99. Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987; 10: 512-516.
100. Reaven GM, Ho H, Hoffmann BB. Somatostatin inhibition of fructose-induced hypertension. *Hypertension* 1989; 14: 117-120.
101. Vasudevan H, Xiang H, McNeill JH. Differential regulation of insulin resistance and hypertension by sex hormones in fructose-fed male rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289: H1335-1342.
102. Verma S, Bhanot S, McNeill JH. Antihypertensive effects of metformin in fructose-fed hyperinsulinemic, hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271: 1334-1337.
103. Dai S, McNeill JH. Fructose-induced hypertension in rats is concentration- and duration-dependent. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1995; 33: 101-107.
104. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607.
105. Verma S. Insulin resistance and hypertension: pharmacological and mechanistic studies. *Can J Diabetes Care* 2000; 23: 23-42.
106. Cosenzi A, Bernobich E, Plazzotta N, Seculin P, Bellini G. Bosentan reduces blood pressure and the target-organ damage induced by a high-fructose diet in rats. *J Hypertens* 1999; 17: 1843-1848.
107. Iimura O, Shimamoto K, Matsuda K, Masuda A, Takizawa H, Higashiura K et al. Effects of angiotensin receptor antagonist and angiotensin converting enzyme inhibitor on insulin sensitivity in fructose-fed hypertensive rats and essential hypertensives. *Am J Hypertens* 1995; 8: 353-357.
108. Katakam PV, Ujhelyi MR, Hoenig ME, Miller AW. Endothelial dysfunction precedes hypertension in diet-induced insulin resistance. *Am J Physiol* 1998; 275: R788-792.
109. Aljada A, Ghanim H, Assian E, Dandona P. Tumor necrosis factor alpha inhibits insulin-induced increase in endothelial nitric oxide synthase and reduces insulin receptor content and phosphorylation in human aortic endothelial cells. *Metabolism* 2002; 51: 487-491.
110. Freitas RR, Lopes KL, Carillo BA, Bergamaschi CT, Carmona AK, Casarini DE et al. Sympathetic and renin-angiotensin systems contribute to increased blood pressure in sucrose-fed rats. *Am J Hypertens* 2007; 20: 692-698.
111. Hassan NA, El-Bassossy HM, Mahmoud MF, Fahmy A. Caffeic acid phenethyl ester, a 5-lipoxygenase enzyme inhibitor, alleviates diabetic atherosclerotic manifestations: effect on vascular reactivity and stiffness. *Chem Biol Interact.* 2014 Apr 25;213:28-36. doi: 10.1016/j.cbi.2014.01.019. Epub 2014.
112. H. Mollaoglu, A. Gokcimen, F. Ozguner, F. Oktem, A. Koyu, A. Kocak, H. Demirin, O. Gokalp, E. Cicek, Caffeic acid phenethyl ester prevents cadmium-induced cardiac impairment in rat, *Toxicology* 227 (2006) 15-20.
113. Félétou M, Köhler R, Vanhoutte PM. Nitric oxide: orchestrator of endothelium-dependent responses. *Ann Med.* 2012 Nov;44(7):694-716. doi: 10.3109/07853890.2011.585658. Epub 2011 Review.

114. Kamata K, Kanie N, Inose A. Mechanisms underlying attenuated contractile response of aortic rings to noradrenaline in fructose-fed mice. *Eur J Pharmacol.* 2001; 428(2):241-9.
115. McLean WG, Pekiner C, Cullum NA, Casson IF. Posttranslational modifications of nerve cytoskeletal proteins in experimental diabetes. *Mol Neurobiol.* 1992; 6(2-3):225-37.
116. Pekiner C, Cullum NA, Hughes JN, Hargreaves AJ, Mahon J, Casson IF, McLean WG. Glycation of brain actin in experimental diabetes. *J Neurochem.* 1993; 61(2):436-42.
117. Pfaffman MA, Hilman R, Darby A. Contractile and relaxing activity of arterial smooth muscle from streptozotocin-diabetic rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1980; 30(2):283-99.
118. Longhurst PA, Head RJ. Responses of the isolated perfused mesenteric vasculature from diabetic rats: the significance of appropriate control tissues. *J Pharmacol Exp Ther.* 1985; 235(1):45-9.
119. Ramanadham S, Lyness WH, Tenner TE Jr. Alterations in aortic and tail artery reactivity to agonists after streptozotocin treatment. *Can J Physiol Pharmacol.* 1984; 62(4):418-23.
120. Turlapaty PD, Lum G, Altura BM. Vascular responsiveness and serum biochemical parameters in alloxan diabetes mellitus. *Am J Physiol.* 1980; 239(6):E412-21.
121. Jackson CV, Carrier GO. Influence of short-term experimental diabetes on blood pressure and heart rate in response to norepinephrine and angiotensin II in the conscious rat. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1983; 5(2):2605.
122. Lucas PD. Effects of streptozotocin-induced diabetes and noradrenaline infusion on cardiac output and its regional distribution in pithed rats. *Diabetologia.* 1985; 28(2):108-12.
123. Hebden RA, Bennett T, Gardiner SM. Pressor sensitivities to vasopressin, angiotensin II, or methoxamine in diabetic rats. *Am J Physiol.* 1987; 253(5 Pt 2):R726-34.
124. Heijnis JB, Mathy MJ, Pfaffendorf M, van Zwieten PA. Differential effects of alpha 1- and alpha 2-adrenoceptor agonists on peripheral vasoconstriction in pithed diabetic rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1992; 20(4):554-8.
125. Fortes ZB, Garcia Leme J, Scivoletto R. Vascular reactivity in diabetes mellitus: role of the endothelial cell. *Br J Pharmacol.* 1983; 79(3):771-81.
126. Head RJ, Longhurst PA, Panek RL, Stitzel RE. A contrasting effect of the diabetic state upon the contractile responses of aortic preparations from the rat and rabbit. *Br J Pharmacol.* 1987; 91(2):275-86.
127. Wakabayashi I, Hatake K, Kimura N, Kakishita E, Nagai K. Modulation of vascular tonus by the endothelium in experimental diabetes. *Life Sci.* 1987; 40(7):643-8.
128. Mulhern M, Docherty JR. Effects of experimental diabetes on the responsiveness of rat aorta. *Br J Pharmacol.* 1989; 1007-12.
129. Harris KH¹, MacLeod KM. Influence of the endothelium on contractile responses of arteries from diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 1988; 153(1):55-64.
130. Longhurst PA, Head RJ. Responses of the isolated perfused mesenteric vasculature from diabetic rats: the significance of appropriate control tissues. *J Pharmacol Exp Ther.* 1985; 235(1):45-9.

6.ÖZGEÇMİŞ

05.07.1986 tarihinde Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2008 yılında İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden mezun oldum. 2010 Ocak-2011 Temmuz tarihleri arasında serbest eczacı olarak çalıştım. 2011 Temmuz'dan bu yana Elazığ Harput Devlet Hastanesinde eczacı olarak çalışmaktayım. 2011-2012 Bahar Dönemin'de yüksek lisans eğitimime başladım.