

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

**METABOLİK SENDROM OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
ALFA LİPOİK ASİT VE KOENZİM Q10 UYGULAMANIN
OKSİDATİF STRES VE ENDOTELYAL DİSFONKSİYON
BELİRTEÇLERİNE ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Arş. Gör. Dr. Mahmut Serhat ÖZDOĞAN**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Dilara KAMAN**

**ELAZIĞ
2011**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Nevin İLHAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. Dilara KAMAN

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

**Rahmetle andığım Babama,
Sevgili Eşime, Kızım Belinay'a
Anneme, Kardeşlerime...**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmalarım sırasında benden gerekli her türlü desteği ve yardımı esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Dilara KAMAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında ve eğitimim süresince yardım ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Nevin İLHAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Anabilim dalımızın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Necip İLHAN'a Prof. Dr. İhsan HALİFEOĞLU'na, Prof. Dr. Ferit GÜRSU'ya, Prof. Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ'a, Doç. Dr. Süleyman AYDIN'a ve Doç. Dr. Bengü Çobanoğlu'na teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında yardımını gördüğüm asistan arkadaşlarıma ve Biyokimya Anabilim Dalında görevli bütün personele teşekkür ederim.

Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Biriminde (FÜDAM) tezimin deneysel çalışmalarını gerçekleştirmemde bana yardımcı olan personele teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasını 1905 no'lu proje ile destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelendirme (FÜBAP) fonuna teşekkür ederim.

ÖZET

Metabolik sendrom (MS) insülin direnci, abdominal obezite, hipertansiyon ve dislipidemi ile karakterize, kardiyovasküler hastalık ve tip 2 diabetes mellitus riskinin arttığı bir halk sağlığı problemidir. Bu çalışmada, metabolik sendrom oluşturulan ratlarda alfa lipoik asit ve koenzim Q10 uygulanmasının bazı oksidatif stres ve endotelial disfonksiyon belirteçleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda Sprague Dawley ratlar kullanılarak 4 grup oluşturuldu. Kontrol grubu; standart rat yemi ile beslendi. MS grubu; 8 hafta içme sularına % 10 fruktoz katılarak metabolik sendrom oluşturuldu. ALA grubu; metabolik sendrom oluşturulduktan sonra 5 hafta i.p. olarak 100mg/kg/gün ALA uygulandı. CoQ10 grubu; metabolik sendrom oluşturulduktan sonra 5 hafta i.p. olarak 10mg/kg/gün CoQ10 uygulandı. Uygulamaların sonunda ratlar dekapite edilerek biyokimyasal parametreler için kan örnekleri alındı.

Metabolik sendrom grubunda kontrol grubuna göre MDA (%62) ve ADMA (%164) düzeyleri daha yüksek, total glutasyon (%15) ve redükte glutasyon düzeyleri (%21) daha düşük tespit edildi. ALA veya CoQ10 uygulanmasıyla metabolik sendromlu ratlarda MDA (%17,21) ve ADMA (%35,44) düzeylerinin azaldığı, total glutasyon (%2,5) ve redükte glutasyon (%7) düzeylerinin arttığı görüldü. Serum glukoz, insülin düzeyleri ve HOMA-IR değerleri metabolik sendrom grubunda tedavi verilen gruplara kıyasla daha yüksek bulundu. ALA ve CoQ10 tedavisinin lipid parametreleri üzerine olumlu etkiler gösterdiği görüldü. Aortun histopatolojik incelemelerinde tedavi gruplarında perivasküler lenfositik infiltrasyonunun azaldığı tespit edildi.

Sonuç olarak, bu çalışmanın sonuçları metabolik sendromda ALA ve CoQ10 desteklerinin oksidatif stresi azaltmada, endotel disfonksiyonu ve insülin direncini düzeltmede faydalı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Metabolik sendrom, alfa lipoik asit, koenzim Q10, oksidatif stres.

ABSTRACT

THE EFFECTS OF ALPHA LIPOIC ACID AND COENZYME Q10 ADMINISTRATIONS ON THE MARKERS OF OXIDATIVE STRESS AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN METABOLIC SYNDROME INDUCED RATS.

Metabolic syndrome (MS) is a public health problem characterized by insulin resistance, abdominal obesity, hypertension and dyslipidemia and associated with increased risk of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. In the present study, we aimed to investigate the effects of ALA and CoQ10 administrations on some oxidative and endothelial dysfunction markers in metabolic syndrome induced rats.

In our study, 4 groups were formed by using Sprague Dawley rats. The experimental groups were as follows: control group; this group was fed with standart diet. MS group; metabolic syndrome was induced by adding %10 fructose to drinking water for 8 weeks. ALA group; after developing MS, this group received ALA (100 mg/kg/day) i.p. for 5 weeks. CoQ10 group; after developing MS, this group received CoQ10 (10 mg/kg/day) i.p. for 5 weeks. After all administrations, rats were decapitated and blood samples were obtained for biochemical parameters.

ADMA (%164) and MDA levels (%62) were higher and total glutathione (%15) and reduced glutathione levels (%21) were lower in the MS group compared with the control group. ALA or CoQ10 administrations were found to reduce ADMA (%35,44) and MDA levels (%17,21) and increase total glutathione (%2,5) and reduced glutathione levels (%7) in the metabolic syndrome induced rats. Serum glucose, insulin levels and HOMA-IR were increased in the metabolic syndrome group compared to treatment groups. ALA and CoQ10 treatments were found to have positive effects on lipid paremeters. Histopathological examination of the aorta revealed decrease in perivascular lymphocytic infiltration in the treatment groups.

In conclusion, the results of present study indicate that ALA and CoQ10 supplementions in metabolic syndrome can be useful to reduce oxidative stress and improve endothelial dysfunction and insulin resistance.

Key words: Metabolic syndrome, alpha lipoic acid, coenzyme Q10, oxidative stress

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK	i
DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ	xii
KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Metabolik Sendrom	1
1.1.1. Metabolik Sendromun Etiyolojisi	1
1.1.2. Metabolik Sendromun Tanısı	2
1.1.3. Metabolik Sendromun Prevalansı	4
1.1.4. Metabolik Sendromun Tedavisi	4
1.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma	5
1.2.1. Serbest Radikaller	5
1.2.1.1. Süperoksit	7
1.2.1.2. Hidrojen Peroksit	8
1.2.1.3. Hidroksil Radikali	8
1.2.1.4. Hipokloröz Asit	9
1.2.1.5. Singlet Oksijen	9
1.2.1.6. Nitrik Oksit	9
1.2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri	11
1.2.2.1. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri	11
1.2.2.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri	13
1.2.2.3. Serbest Radikallerin Karbohidratlar Üzerine Etkileri	14
1.2.2.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkileri	15
1.2.3. Antioksidanlar	15
1.2.3.1. Enzimatik Antioksidanlar	16

1.2.3.1.1. Sitokrom oksidaz	16
1.2.3.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)	17
1.2.3.1.3. Katalaz	17
1.2.3.1.4. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	17
1.2.3.1.5. Glutasyon Redüktaz (GSH-R)	18
1.2.3.1.6. Glutasyon S-Transferaz (GST)	18
1.2.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	18
1.2.3.2.1. Vitamin C	18
1.2.3.2.2. Vitamin E	18
1.2.3.2.3. Beta-Karoten	18
1.2.3.2.4. Glutasyon	19
1.2.3.2.5. Melatonin	19
1.2.3.2.6. Ürik asit	19
1.2.3.2.7. Koenzim Q10 (CoQ10)	20
1.2.3.2.8. Alfa Lipoik Asit (ALA)	23
1.3. Metabolik Sendromda Oksidatif Stres	24
1.4. Metabolik Sendromda Endotel Disfonksiyon	26
1.4.1. Normal Endotelyum	26
1.4.2. Endotel disfonksiyonu	28
2. GEREÇ ve YÖNTEM	34
2.1. Deney Hayvanları	34
2.2. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması	35
2.3. Serum İnsülin Düzeylerinin Ölçümü	36
2.4. Malondialdehit Tayini	36
2.5. Glutasyon Tayini	37
2.6. ADMA, SDMA ve Arjinin Tayini	38
2.7. Nitrik Oksit Düzeylerinin Ölçülmesi	39
2.8. Diğer Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü	41
2.9. İstatistiksel Analizler	41
3. BULGULAR	42
3.1. Gruplara ait vücut ağırlığı değerleri	42
3.2. Serum Glukoz, İnsülin düzeyleri ve HOMA-IR değerleri	42

3.3. Serum Lipid Düzeyleri	44
3.4. Serum Ürik Asit Düzeyleri	46
3.5. Plazma NO düzeyleri	46
3.6. Plazma MDA düzeyleri	47
3.7. Total ve Redükte Glutasyon Düzeyleri	48
3.8. Plazma Arjinin, ADMA ve SDMA Düzeyleri	50
3.9. HOMA-IR Değerleri ile ADMA, MDA, NO, Total Glutasyon, Redükte Glutasyon Düzeyleri Arasındaki Korelasyon Analizi	52
3.10. Tüm Gruplarda Aort, Karaciğer ve Böbrek Yapısının Histopatolojik Değerlendirilmesi	55
4. TARTIŞMA	64
5. KAYNAKLAR	76
6. ÖZGEÇMİŞ	90

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu	6
Şekil 2. Oksidatif stres oluşumu	7
Şekil 3. Süperoksit radikali oluşumu	7
Şekil 4. NO sentezi	10
Şekil 5. Çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu	14
Şekil 6. MDA'nın moleküler yapısı	14
Şekil 7. Glutasyonun oksidasyon-redüksiyon siklusu	19
Şekil 8. Ubikinon ve ubikinolun yapısı	20
Şekil 9. Lipoik asit ve dihidrolipoik asitin yapısı	24
Şekil 10. Lipoik asitin dihidrolipoik asite redüksiyonu ve sistein biyoyararlanımında artma ile hücresele glutasyon biyosentezinin artışı	25
Şekil 11. Arjinin ve endojen metilarjininlerin yapısı	29
Şekil 12. Gruplara ait HOMA-IR değerleri	44
Şekil 13. Gruplara ait ürik asit düzeyleri	46
Şekil 14. Gruplara ait plazma NO düzeyleri	47
Şekil 15. Gruplara ait plazma MDA düzeyleri	48
Şekil 16. Gruplara ait total glutasyon düzeyleri	49
Şekil 17. Gruplara ait redükte glutasyon düzeyleri	49
Şekil 18. Gruplara ait plazma arjinin düzeyleri	51
Şekil 19. Gruplara ait plazma ADMA düzeyleri	51
Şekil 20. Gruplara ait plazma SDMA düzeyleri	52
Şekil 21. ADMA VE HOMA-IR değerleri arasındaki ilişki	53
Şekil 22. MDA ve HOMA-IR değerleri arasındaki ilişki	53
Şekil 23. NO ve HOMA-IR değerleri arasındaki ilişki	54
Şekil 24. Total Glutasyon ve HOMA-IR değerleri arasındaki ilişki	54
Şekil 25. Redükte glutasyon ve HOMA-IR değerleri arasındaki ilişki	55
Şekil 26. Kontrol grubundan alınan aort damar yapısının ışık mikroskopisinde histopatolojik olarak görünümü (x200).	56
Şekil 27. Metabolik sendrom grubunda aort damar yapısındaki inflamasyonun histopatolojik görünümü (x400).	56

Şekil 28. Metabolik sendrom grubunda aort damar yapısındaki düz kas hipertrofisinin histopatolojik görünümü (x200).	57
Şekil 29. Metabolik sendrom grubunda aort damar yapısındaki ödemin histopatolojik görünümü (x200).	57
Şekil 30. ALA grubunda MS grubuna göre damar duvarında lenfositik infiltrasyon ve ödemde azalmanın histopatolojik görünümü (x100)	58
Şekil 31. ALA grubunda MS grubuna göre damar duvarında lenfositik infiltrasyon ve ödemde azalmanın histopatolojik görünümü (x200)	58
Şekil 32. CoQ10 grubunda MS grubuna göre damar duvarında lenfositik infiltrasyon ve ödemde azalmanın histopatolojik görünümü (x100)	59
Şekil 33. CoQ10 grubunda MS grubuna göre damar duvarında lenfositik infiltrasyon ve ödemde azalmanın histopatolojik görünümü (x200)	59
Şekil 34. Kontrol grubundan alınan karaciğer örneklerinin ışık mikroskopisinde histopatolojik olarak görünümü (x200).	60
Şekil 35. MS grubunda karaciğer sinüzoidlerinde genişlemenin histopatolojik görünümü (x400)	60
Şekil 36. MS grubunda karaciğerde portal alanda lenfositik infiltrasyonun histopatolojik görünümü (x400)	61
Şekil 37. MS grubunda karaciğer damarlarında belirgin konjesyon ve dilatasyonun histopatolojik görünümü (x200)	61
Şekil 38. ALA grubunda karaciğerde portal alanda lenfositik infiltrasyonun histopatolojik görünümü (x400)	62
Şekil 39. ALA grubunda MS grubuna göre karaciğerde damarda dilatasyonda ve konjesyonda azalmanın histopatolojik görünümü (x400)	62
Şekil 40. CoQ10 grubu ratların karaciğerlerinde portal alanda lenfositik infiltrasyonda belirgin azalma ve metabolik sendromlu rat karaciğerlerine göre konjesyon ve sinüzoid genişlemesinde gerilemenin histopatolojik görünümü (x400)	63
Şekil 41. Kontrol grubundan alınan böbrek örneklerinin ışık mikroskopisinde histopatolojik olarak görünümü (x200)	63

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Metabolik sendrom için WHO tanı kriterleri	2
Tablo 2. Metabolik sendrom için NCEP-ATP III tanı kriterleri	3
Tablo 3. Metabolik sendrom için AACE tanı kriterleri	3
Tablo 4. Metabolik sendrom için IDF tanı kriterleri	4
Tablo 5. Oksijen kaynaklı reaktif bileşikler.	6
Tablo 6. Nitrik oksit sentazın izoenzimleri	10
Tablo 7. Nitrojen oksitler	11
Tablo 8. Serbest radikal kaynakları	12
Tablo 9. Antioksidanlar	16
Tablo 10. Normal endotel fonksiyonu ve vasküler hemostazı sağlamak için salınan mediatörler	27
Tablo 11. Standart rat yemi	34
Tablo 12. Rat Grupları ve Uygulanan Metodlar	35
Tablo 13. Nitrat çalışma şeması	40
Tablo 14. Gruplara ait vücut ağırlığı ortalamaları	42
Tablo 15. Gruplara ait serum glukoz, insülin düzeyleri ve HOMA-IR değerleri	43
Tablo 16. Gruplara ait serum lipid düzeyleri	45

KISALTMALAR LİSTESİ

AACE	: Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği
ADMA	: Asimetrik dimetilarjinin
AGE	: İleri glikasyon son ürünleri
ALA	: Alfa Lipoik Asit
AMPK	: Adenozin monofosfat aktive protein kinaz
CoQ10	: Koenzim Q10
DDAH	: Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz
DHLA	: Dihidrolipoik asit
DM	: Diabetes mellitus
ED	: Endotel disfonksiyon
ELISA	: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
FMD	: Akım aracılı dilatasyon
GSH	: Redükte glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon Peroksidaz
GSH-R	: Glutatyon Redüktaz
GSSG	: Okside glutatyon
GST	: Glutatyon S-Transferaz
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HDL-K	: Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
HOCl	: Hipokloröz asit
HOMA-IR	: İnsülin direncinin deđerlendirildiđi homeostatik model
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IRS	: İnsülin reseptör substrat
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
LDL-K	: Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
L-NMMA	: N ^G -Monometil-L-arjinin
MAPK	: Mitojenle aktive protein kinaz
MDA	: Malondialdehit
METSAR	: Türkiye Metabolik Sendrom Sıklığı Araştırması

MS	: Metabolik sendrom
NADPH	: Nikotin amid Adenin Dinükleotid Fosfat
NCEP	: Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
NF-kappa-B	: Nükleer faktör kappa B
NO	: Nitrik oksit
O₂⁻	: Süperoksit
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
OH[•]	: Hidroksil radikali
PRMT	: Protein arjinin metil transferaz
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SDMA	: Simetrik dimetilarjinin
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler
TEKHARF	: Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması
TG	: Trigliserid
T-glutasyon	: Total glutasyon
T-Kolesterol	: Total kolesterol
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Metabolik sendrom; abdominal obezite, glukoz-insülin metabolizması bozukluğu, dislipidemi ve yüksek kan basıncı ile seyreden ve genellikle Tip 2 diabetes mellitus (DM) ve kardiyovasküler hastalık riskiyle karakterize olan önemli bir halk sağlığı problemidir. Metabolik sendrom (MS) aynı zamanda protrombotik ve proinflamatuvar bir durumdur (1).

Hiperglisemi, hipertansiyon ve dislipidemi gibi sık görülen durumların birlikteliğine 1988'de Gerald Reaven tarafından dikkat çekilmiş ve Sendrom X olarak isimlendirilmiştir. Reaven, Sendrom-X'i, kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olarak kabul etmiştir (2). 1989 yılında, Kaplan ve arkadaşları tarafından obezite, hipertansiyon, dislipidemi, insülin rezistansı veya tip 2 DM'den oluşan benzer bulguları taşıyan hastalardaki bu klinik durum "Öldüren Dörtlü" (Deadly Quartet) olarak tanımlanmıştır (3).

Sonraki yıllarda sendrom anlaşılmaya başlandıktan sonra metabolik sendrom, polimetabolik sendrom, insülin rezistansı sendromu gibi isimlerle adlandırılmıştır (4).

1.1. Metabolik Sendrom

1.1.1. Metabolik Sendromun Etiyolojisi

Metabolik sendromun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Obezite ve insülin direnci yanında yaşlanma, proinflamatuvar durum, hormonal değişiklikler gibi diğer faktörler de metabolik sendromun sebebi olarak ileri sürülmüşlerdir. Bazı hipotezlere göre insülin direnci birincil neden iken, bir başka hipoteze göre de asıl etken hormonal değişikliklerin neden olduğu abdominal obezitedir. Diğer taraftan genetik nedenler de sendromu tetikleyici olarak göz önüne alınmaktadır (5).

Obezite; hiperglisemi, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi ve düşük HDL kolesterol düzeylerine neden olur. Bu nedenle obezite, metabolik sendromun iyi bilinen risk faktörüdür. Ayrıca yağ dokusu; glukoz ve yağ metabolizması üzerine etkili olan, insülin sentezini etkileyen ve insülin direncine neden olan tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interlökin-6 (İL-6) ve plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAİ-1) gibi adipokinleri salgılar (6).

İnsülin direnci veya hiperinsülinemi metabolik sendroma yol açan önde gelen faktörlerden bir diğeridir. İnsülin direnci obeziteyle sıkıca ilişkili olmasına

rağmen obez olmayan insanlarda da görülebilir. İnsülin lipolizin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığından insülin direnci adipoz dokuda serbest yağ asitlerinin üretiminin artmasına yol açar (7).

1.1.2. Metabolik Sendromun Tanısı

Metabolik sendrom tanısı için kullanılan çeşitli tanı kriterleri vardır. Bu kriterler; Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Ulusal Kolesterol Eğitim Programı-Yetişkin Tedavi Paneli III (NCEP-ATP III), Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği (AACE) ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından tanımlanmıştır (Tablo 1-4) (8, 9).

WHO kriterlerine göre metabolik sendrom tanısı için insülin direncini gösteren en az bir kriter ile eşlik eden kriterlerden en az ikisinin varlığı gerekmektedir. WHO kriterlerine göre, ATP III'ten daha yüksek kan basıncı değerleri gerekli görülmüş, bel çevresi yerine vücut kitle indeksi (VKİ) veya artmış bel/kalça oranı kullanılmıştır. Ayrıca mikroalbuminüri ayrı bir kriter olarak yer almıştır (8) (Tablo1).

Tablo 1. Metabolik sendrom için WHO tanı kriterleri (8).

Aşağıdaki kriterlerden bir tanesinin varlığı ile insülin direnci tanısı	Aşağıdakilerden en az ikisinin insülin direncine eşlik etmesi
Tip 2 Diyabet	-Kan basıncı: sistolik ≥ 140 mm Hg, diastolik ≥ 90 mm Hg veya antihipertansif tedavi
Bozulmuş açlık glukozu	-Trigliserid ≥ 150 mg/dl
Bozulmuş glukoz toleransı	-HDL-K: erkekte < 35 mg/dl, kadında < 39 mg/dl
Glukoz uptake'inin incelenen popülasyondaki en düşük yüzdesinin altında olması	-Vücut kitle indeksi > 30 kg/m ² veya bel-kalça oranının erkekte > 0.9 , kadında > 0.85 olması
	-İdrarda albumin atılım oranı > 20 μ g/dk veya albumin /kreatinin oranının > 30 mg/g olması

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı-Yetişkin Tedavi Paneli III, 2001 yılında yetişkinlerde yüksek kan kolesterolü tespiti, değerlendirme ve tedavisi raporunu hazırlamıştır. Bu raporda, metabolik sendrom tanısı için tablo 2'de belirtilen beş kriterden üçünün varlığının yeterli olduğu bildirilmiştir (10).

Tablo 2. Metabolik sendrom için NCEP-ATP III tanı kriterleri (10).

Risk faktörü	Değerler
Abdominal obezite	
Erkek	> 102 cm
Kadın	> 88 cm
Trigliserid düzeyi	≥ 150 mg/dl (≥ 1,69 mmol/l)
Düşük HDL-K düzeyleri	
Erkek	< 40 mg/dl (1.04 mmol/l)
Kadın	< 50 mg/dl (1.29 mmol/l)
Artmış kan basıncı	Sistolik ≥ 130 mm Hg veya Diastolik ≥ 85 mm Hg
Artmış açlık kan glukozu	≥ 110 mg/dL (6.1 mmol/l)

NCEP-ATP III tanımı üzerine Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği (AACE) insülin direnci sendromu tanımlamasını geliştirmiştir. AACE, metabolik sendrom tanısı için gerekli kriterlerin sayısını belirlememiş olup klinisyenin yorumuna bırakmıştır (8) (Tablo 3).

Tablo 3. Metabolik sendrom için AACE tanı kriterleri (8).

Risk faktörü	Değerler
Fazla Kilo / Obezite	VKI ≥ 25 kg/m ²
Trigliserid	≥ 150 mg/dl
Düşük HDL - K düzeyi	Erkek: < 40 mg/dl Kadın: < 50 mg/dl
Kan Basıncı	≥ 130/85 mmHg
2 Saatlik OGTT	140 – 200 mg/dl
Diğer Risk faktörleri	
• Ailede tip 2 DM, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık öyküsü.	
• Polikistik over sendromu	
• Sedanter hayat tarzı	
• İleri yaş	
• Tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık için yüksek riskli etnik gruba dâhil olmak.	

Son bir tanımlama da Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından yapılmıştır. Bu tanımlamada da 5 ölçüt mevcut olup bel çevresi uzunluğu daha aşağı çekilmiştir. Bel çevresinin erkeklerde 94 cm, kadınlarda 80 cm'den fazla bulunmasına ek olarak diğer 4 faktörden ikisinin varlığı tanı koymak için yeterli kabul edilmiştir (11) (Tablo 4).

Tablo 4. Metabolik sendrom için IDF tanı kriterleri (11).

Santral obezite:

Bel çevresinin erkekte ≥ 94 cm, kadında ≥ 80 cm olması

Diğer kriterler (ek olarak aşağıdaki en az iki kriterin varlığı)

- Artmış trigliserid düzeyi: ≥ 150 mg/dl
 - HDL-kolesterol: erkekte < 40 mg/dl, kadında < 50 mg/dl
 - Artmış kan basıncı: sistolik kan basıncının ≥ 130 mm Hg veya diastolik kan basıncının ≥ 85 mm Hg olması
 - Açlık kan glukozu: ≥ 100 mg/dl olması
-

1.1.3. Metabolik Sendromun Prevalansı

Metabolik sendrom prevalansı obezite ve diyabete paralel olarak son yıllarda yüksek oranda artmıştır. Farklı tanımların kullanımı nedeniyle, farklı toplumlarda farklı çalışmaları karşılaştırmak zordur. Prevalans çalışma yöntemi, örneklerin karakteristikleri (cinsiyet, yaş, ırk vs.) ve çalışma yılına bağlı olarak değişir (12-14).

2001 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde MS prevalansı yetişkinler arasındaki yaşa göre ayarlanmış yaygınlığı % 23.1 bulunmuş ve kadınlarda daha hızlı olmak üzere artmakta olduğu saptanmıştır. Metabolik sendrom prevalansı ile ilgili ülkemizde yapılan Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması (TEKHARF) çalışmasında metabolik sendrom sıklığı 30 yaş ve üstü erkeklerde % 28, kadınlarda ise % 45 olarak tespit edilmiştir. 2004 yılında yapılan diğer bir çalışma olan Türkiye Metabolik Sendrom Sıklığı Araştırmasına (METSAR) göre 20 yaş ve üzerindeki erişkinlerde metabolik sendrom sıklığı erkeklerde % 28.8, kadınlarda % 41.1 olarak saptanmıştır (12-14).

1.1.4. Metabolik Sendromun Tedavisi

Metabolik sendromlu kişiler daha yüksek kardiyovasküler hastalık (KVH) riski altındadırlar. Bu yüzden tedavide asıl amaç major risk faktörlerini azaltarak KVH ve tip 2 diyabetes mellitus gelişme riskini azaltmaktır (15).

Kilo verme, egzersiz ve diyet modifikasyonunu içeren yaşam tarzı değişiklikleri tüm metabolik risk faktörlerini azaltmak için yapılacak ilk girişimlerdir. Abdominal obeziteli kişiler vücut ağırlıklarını %7 - %10 oranında azaltarak vücut kitle indeksini <25 kg/m²'in altına düşürmelidirler. Fiziksel olarak inaktif kişilerin düzenli olarak orta şiddetde günlük en az 30 dakika aerobik egzersiz

yapması gerekmektedir. Aterojenik diyetlerler değiştirilmelidir; doymuş yağ, trans-yağ ve kolesterol alımı azaltılmalıdır (15).

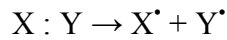
Yaşam tarzı değişikliklerinin yetersiz kaldığı durumlarda farmakolojik tedavi gerekmektedir. Dislipidemiye yönelik tedavide düşük dansiteli lipoprotein kolesterolu (LDL-K) düşürmek birinci hedeftir. Bu amaçla statinler kullanılır. Trigliserid (TG) yüksekliği ve yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K) düşüklüğü için fibrat tedavisi düşünülebilir. Ağır kombine hiperlipidemisi olanlarda statin ve fenofibrat kombinasyonu yapılabilir. Bozulmuş açlık glukozu veya bozulmuş glukoz toleransı olanlarda yaşam tarzı değişiklikleri tedavinin temelini oluşturur. Metformin ve tiazolidindionların insülin direncini azaltıcı etkileri vardır. Glukoz tolerans bozukluğu olan obez kişilerde metformin ile Tip 2 DM gelişimi riskinde azalma sağlandığı gösterilmiştir. Akarboz kullanımının Tip 2 DM gelişiminin önlenmesinde etkili olduğuna dair önemli sonuçlar bulunmaktadır (9, 16-18).

1.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma

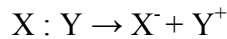
1.2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış yörüngelerinde en az bir adet eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküllerdir. Dış yörüngedeki elektronun ortaklanmasını sağlamak için diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde reaktif bir yapı gösterirler ve bir başka molekül ile elektron alışverişinde bulunarak diğer molekülü kararsız hale getirirler. Serbest radikaller başlıca 3 yolla meydana gelirler:

1-Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birinin kaldığı homolitik bölünme ile;



2- Bir molekülün heterolitik bölünmesi ile;

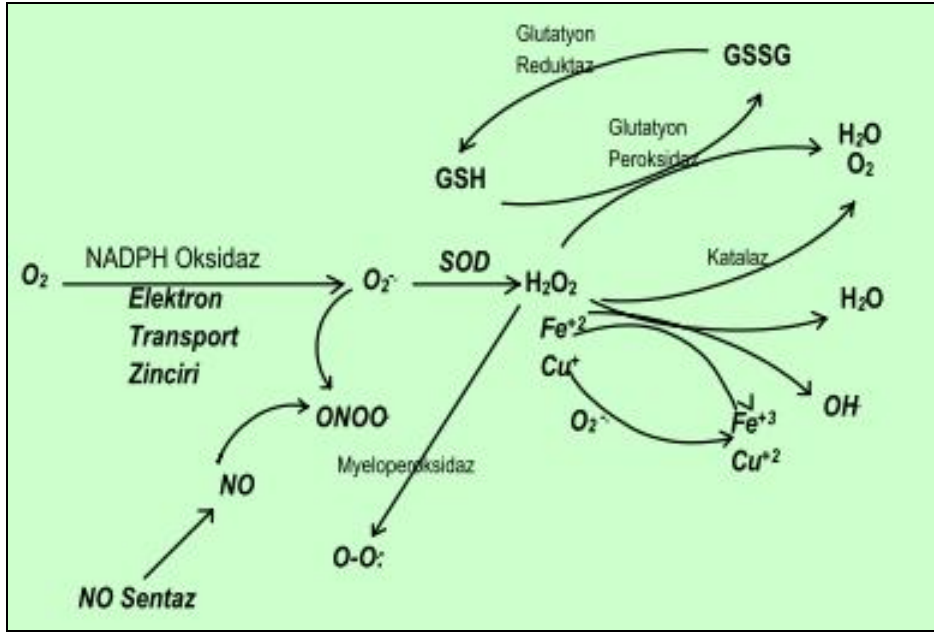


3-Normal bir moleküle tek bir elektron eklenmesi veya bir molekülden tek bir elektronun kaybı ile;



Biyolojik sistemlerde, çeşitli metabolik reaksiyonlar esnasında süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet -}$), nitrik oksit (NO^{\bullet}), peroksil radikali (ROO^{\bullet}) ve hidroksil radikali (OH^{\bullet})

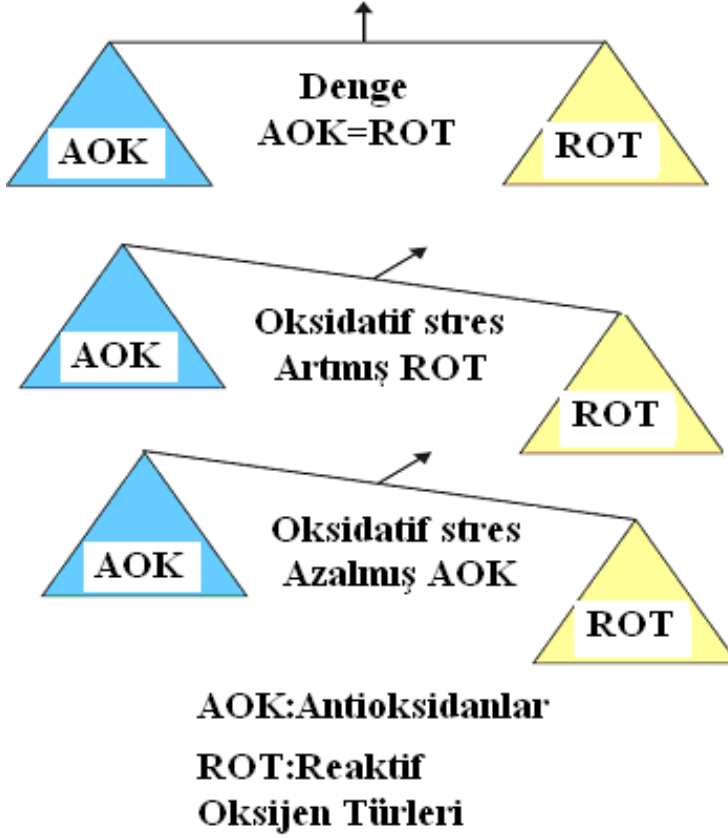
gibi çok sayıda serbest radikaller sürekli oluşmaktadır (Tablo 5). Bununla birlikte, oldukça reaktif özelliğe sahip olan serbest radikaller, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalarla etkisiz hale getirilirler (Şekil 1). Serbest oksijen radikallerinin aşırı artışı ve antioksidan sistemlerde yetersizlik sonucu oksidatif stres oluşmaktadır (Şekil 2) (21-23).



Şekil 1. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu (22)

Tablo 5. Oksijen kaynaklı reaktif bileşikler (21).

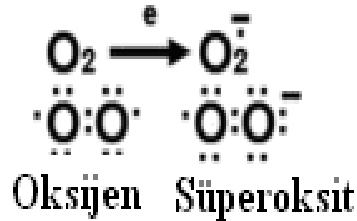
Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit, ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen peroksit, (H_2O_2)
Hidroksil, (OH^{\cdot})	Hipokloröz asit, ($HOCl$)
Peroksil, (ROO^{\cdot})	Singlet oksijen, ($^1O_2^{\cdot}$)
Alkoksil, (RO^{\cdot})	Ozon, (O_3)
Nitrik oksit, (NO^{\cdot})	Peroksinitrit, ($ONOO^-$)
Azot dioksit, (NO_2^{\cdot})	Lipid hidroperoksit, ($LOOH$)



Şekil 2. Oksidatif stres oluşumu (23).

1.2.1.1. Süperoksit

Süperoksit radikali (O_2^-) (Şekil 3) organizmada en çok üretilen radikaldir. İnsan vücudundaki pek çok molekül (örneğin mitokondriyal elektron transport sistemi elemanlarının bir kısmı) oksijenle direkt olarak reaksiyona girerek süperoksit oluşturabilir. Süperoksit radikali bu şekilde fizyolojik olarak oluştuğu gibi yabancı mikroorganizmaları öldürmek üzere aktif fagositler tarafından koruyucu amaçla da üretilir. Süperoksit radikali organizmada en çok üretilen radikal olmasına karşın reaktivitesi çok yüksek değildir (20).

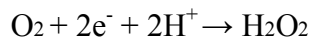
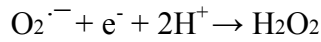


Şekil 3. Süperoksit radikali oluşumu (24).

1.2.1.2. Hidrojen Peroksit

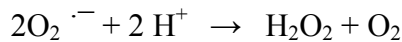
Hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik/nonenzimatik dismutasyonu tepkimeleri sonucu oluşur. Hidrojen peroksidin pK'sı 10.6 olduğundan, nötral ve asidik koşullarda net yük taşımaz, biyolojik zarları kolayca geçebilir. Hidrojen peroksidin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, bakır (Cu), demir (Fe) gibi metal iyonları varlığında hidroksil radikalının öncülü olarak davranmasıdır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki ferril demir (Fe IV) ve perferril demir (Fe V) oluşumuna neden olur. Bu formdaki reaktif demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Belirtilen potansiyel oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin derhal ortamdaki uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi, hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirirler (25).

Moleküler oksijenin iki elektron alması veya $O_2^{\cdot-}$ radikalının bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek H_2O_2 'yi oluşturur.



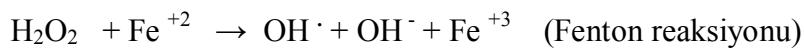
Biyolojik sistemlerde H_2O_2 üretimi süperoksidin süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile dismutasyonu sonucu oluşur (25).

SOD

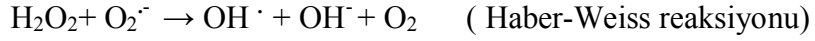


1.2.1.3. Hidroksil Radikali

Biyolojik sistemlerde üretilen en güçlü reaktiviteye sahip radikaldir. Hidroksil radikali hidrojen peroksidin geçiş metalleri varlığında indirgenme reaksiyonu ile oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Bu reaksiyona 'Fenton Reaksiyonu' adı verilir (26).



Hidroksil radikali ayrıca hidrojen peroksidin süperoksit radikali ile Haber-Weiss reaksiyonu sonucunda da meydana gelir (27).



1.2.1.4. Hipokloröz Asit

Nötrofillerdeki primer granüllerde bol bulunan myeloperoksidaz (MPO) enzimi ile hidrojen peroksit ve klor iyonlarından hipokloröz asit (HOCl) oluşumu katalizlenir (28).

MPO



1.2.1.5. Singlet Oksijen

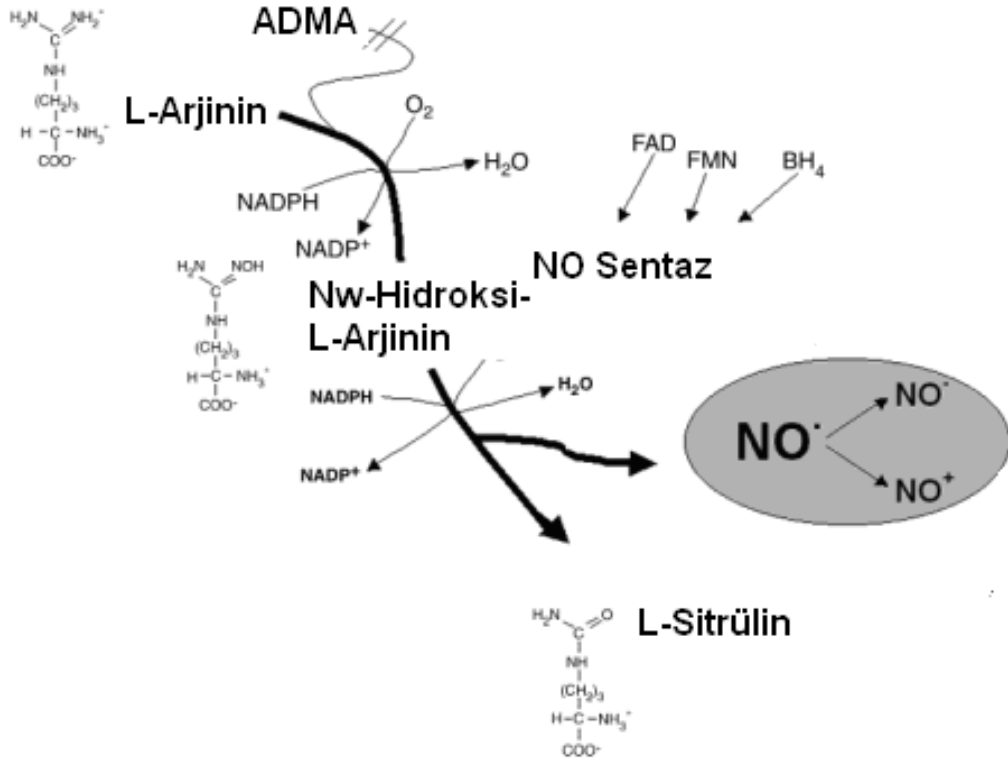
Yapısında ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin yüksek enerjili ve mutajenik formudur. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır.

Singlet oksijen, oksijenin elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünden ters yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi ile oluşabilir (29).

1.2.1.6. Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO) birçok biyolojik olayda görev alan çok kısa yarı ömürlü bir serbest radikaldir. İlk olarak Furchgott ve Zawadzki tarafından 1980 yılında tavşan aortunda sağlam endotelde asetilkolin etkisiyle gevşeme yanıtı oluşturan bir maddenin varlığı fark edilmiştir (30). Bu maddeye ‘endotel kaynaklı gevşetici faktör’ adı verilmiştir. Daha sonra bu maddenin Nitrik Oksit olduğu anlaşılmıştır. NO sentezi için kullanılan öncül molekül, L-arjinin, amino asitidir. NO’in arjinden sentezi Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimi ile gerçekleşir. Bu reaksiyonda O_2 ve NADPH’ya ihtiyaç duyulmaktadır. Hem, Flavin mononükleotid (FMN), Flavin Adenin Dinükleotid (FAD) ve Tetrahidrobiopterin (BH_4) bu enzimin koenzimleri olup, reaksiyon sonucunda Şekil 4’de gösterildiği gibi L-sitrülin ve NO açığa çıkar (31-33).

Nitrik Oksit Sentaz enziminin üç izoformu tanımlanmıştır; nöronal NOS (Tip I NOS, nNOS), indüklenebilir NOS (Tip II NOS, iNOS) ve endotelyal NOS (Tip III, eNOS) (Tablo 6). Endotelyal NOS ve nöronal NOS, yapısal NOS olarak da bilinir ve bunların aktiviteleri hücre içi kalsiyumu tarafından düzenlenir (31, 34).



Şekil 4. NO sentezi (35)

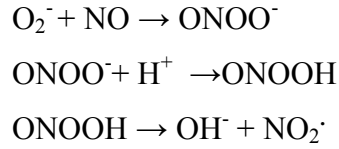
Tablo 6. Nitrik oksit sentazın izoenzimleri (36)

NO izoform	Salınım	Kaynak	Regülasyon	Kromozom
Tip I (nNOS)	Devamlı	Sinir hücreleri	Kalsiyuma bağımlı	12
Tip II (iNOS)	İndüklendiğinde	Makrofaj, damar düz kası, damar endotel, miyokard, endokard, hepatosit, immün hücreler, hava yolu epiteli	Sitokinler, ve oksidanlar tarafından indüklenme	17
Tip III (eNOS)	Devamlı	Vasküler endotel hücreleri, plateletler, miyokard ve endokard, mast hücreleri, nötrofiller	Kalsiyuma bağımlı	7

Nitrik oksitin yarılanma ömrü çok kısadır ve hızla okside olarak nitrit (NO₂) ve nitrata (NO₃) dönüşür. Nitrik oksitin açık formülünde görülen çiftlenmemiş elektronu, azot ve oksijen atomları üzerinde yer değiştirerek 'rezonans stabilitesi' sağlar, reseptörden bağımsız olarak membranlardan kolayca diffüze olabilir (37).

Nitrik oksit, endotel bağımlı vazodilatasyonu anjiyotensin II ve endotelin gibi endotel kaynaklı vazokonstriktörlerin etkisine karşı koyarak sağlar. Aynı zamanda trombosit agregasyonu ve adezyonu, lökosit adezyon ve infiltrasyonu ile vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder. Yüksek LDL, kaveolin-1 ve eNOS arasındaki etkileşimi artırarak NO sentezini azaltır. Süperoksit anyonları NO'yu çabucak inaktive eder ve NO sentezinde kofaktör olan BH₄'ü ortadan kaldırırlar (38, 39).

NO bir dizi nitrojen oksitlere dönüşebilir (Tablo 7). NO'nun süperoksit ile tepkimesiyle oluşan peroksinitritden (ONOO⁻), nitrojen dioksit (NO₂[·]) ile hidroksil (OH[·]) radikali oluşabilir (40, 41).



Tablo 7. Nitrojen oksitler (41).

Nitrojen dioksit. (NO ₂ •)
Nitröz oksit (N ₂ O)
Dinitrojen trioksit (N ₂ O ₃)
Dinitrojen tetraoksit N ₂ O ₄)
Nitrit (NO ₂ ⁻)
Nitrat (NO ₃ ⁻)

1.2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri

Organizmada oluşan serbest radikaller doğal antioksidan sistemlerle ortadan kaldırılamazlarsa hücreler için toksik etki gösterirler. Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat gibi önemli bileşiklerine etki ederler. Serbest radikaller, endojen ve ekzojen kaynaklı olabilir (Tablo 8) (42, 43).

1.2.2.1. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri

Lipidler, serbest radikal hasarına karşı çok hassas yapılar olup biyolojik moleküller içinde reaktif oksijen türlerinin yıkıcı etkilerine en fazla maruz kalan moleküllerdir. Hücre membranı serbest oksijen radikalleri ile hızla reaksiyona girebilen çoklu doymamış yağ asitlerinden oldukça zengindir. Membrandaki

kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) oksidatif yıkımı “lipid peroksidasyonu” olarak adlandırılır (Şekil 5). Bu şekilde meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren bir zincir reaksiyonu şeklinde ilerleyerek serbest radikaller için devamlı bir kaynak sağlar (44-46).

Tablo 8. Serbest radikal kaynakları

Endojen kaynaklar
Mitokondriyal elektron transport zinciri
Oksidan enzimler: ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, galaktoz oksidaz, siklooksijenaz,
Lipooksijenaz, monoamin oksidaz
Nötrofil, makrofaj, monosit, endotelyal hücreler
Otooksidasyon reaksiyonları
Ekzojen kaynaklar
İyonize Radyasyon
Hava Kirliliği
Sigara
Güneş Işığı
Isı Şoku
İlaçlar

Lipid peroksidasyonu tepkimeleri metal katalistlerin varlığında, serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asiti zincirinin alfa-metilen gruplarından bir hidrojen uzaklaştırması ile başlamaktadır. Uzaklaşan hidrojen atomu sebebiyle, karbon atomu üzerinde ortaklaşmamış bir adet elektron kalır ki bu da yağ asidi zinciri üzerinde radikal olmasına neden olur. Oluşan lipid radikali kararsız bir bileşiktir. Molekül, stabil duruma gelebilmek için, molekül içi bağlarını tekrar düzenler ve konjuge dien yapısına dönüşür. Bu konjuge dien, fizyolojik koşullarda oksijen ile birleşmeye eğilimli olduğundan reaksiyon sonucu okside olur ve peroksil radikalini oluşturur (44-46).

Lipid peroksil radikali, membran yapısında bulunan diğer çoklu doymamış yağ asidi zincirlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına yol açarken, kendisi de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperokside dönüşür. Böylece tek bir substrat radikal diğer yağ asitlerini tetikleyerek birden çok lipid hidroperoksit oluşmasına sebebiyet verir. Böylelikle tek bir başlangıç olayı, yağ asit zincirlerinin binlerce lipid hidroperoksit şekline dönüşmesi ile sonuçlanır. Bu tetikleme olayının ne zaman sona ereceği ortamda bulunan oksijen ve antioksidan miktarına bağlıdır (44-46).

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşikler ile etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi halinde sonlanır. Bununla birlikte, ilerleme reaksiyonları zincir reaksiyonlarını kıran bir antioksidan tarafından lipid perokside bir hidrojen atomu verilmesi ile de tamamlanabilir (44-46).

Malondialdehit (MDA)

Lipid peroksidasyonu hücrel komponentlere en çok zarar veren reaksiyonlardan biridir. Reaksiyon sonucunda malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi ürünler oluşur. Peroksidasyona uğramış olan poliansatüre yağ asitlerinden oluşan reaktif bileşiklerden biri olan üç karbonlu MDA bir ketoaldehitdir (47, 48) (Şekil 6).

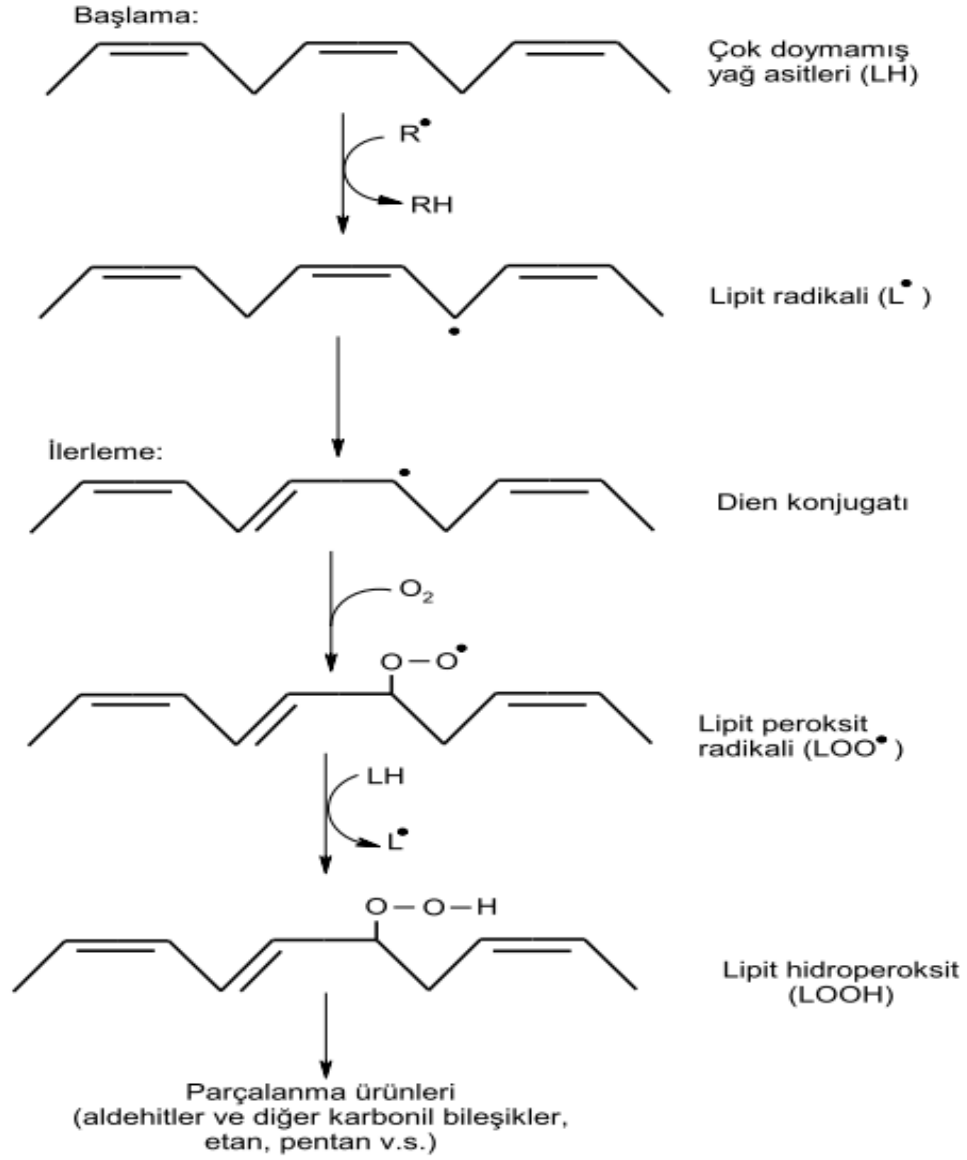
Biyolojik örneklerde lipid peroksidasyonunun ve serbest radikal aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan en kolay ve yaygın yöntem, MDA'nın tiobarbitürik asit (TBA) ile tepkimesidir. Lipid peroksidasyonunun belirlenmesi için kullanılan ve spesifik olmayan bir yöntem olmasına rağmen TBA tepkimesi, MDA üretiminin iyi bir göstergedir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), serbest MDA ölçümünde en güvenilir yöntemdir (47, 48).

1.2.2.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

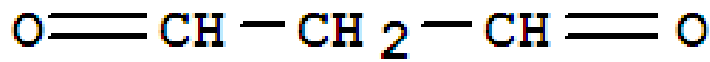
Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit içeriğine bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden (triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenir.

Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları enzim aktivitesindeki azalma, protein fonksiyonlarının kaybı, proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış/azalmış yatkinlık, reseptör aracılı endositozun

bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir (49).



Şekil 5. Çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu (46)



Şekil 6. MDA'nın moleküler yapısı (48)

1.2.2.3. Serbest Radikallerin Karbohidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin karbohidratlar üzerine önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak süperoksit

ve hidrojen peroksidi meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonu, protein çapraz bağlanmalarına yol açarak bazal zar kalınlaşmasına da neden olur. Serbest radikaller, bu etkilerinden dolayı diyabet, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psöriasis, romatoid artrit, kanser gibi birçok hastalığın patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Proteinler yüksek glukoz konsantrasyonları ile karşılaştıklarında, glukoz bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Glikasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur. Glukoz ve proteinlerin amino grupları arasında kendiliğinden gelişen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonları yoluyla önce shiff bazları, sonrasında daha stabil olan amadori ürünleri oluşur. Erken glikasyon ürünleri (amadori ürünleri) aralarında oksidasyonun da yer aldığı ve reaktif oksijen türlerinin olduğu bir seri geri dönüşümsüz reaksiyonla ileri glikasyon son ürünlerine (AGE) dönüşür (50, 51).

1.2.2.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açar. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek değişikliklere neden olur. Hidrojen peroksit hücre zarından kolayca geçerek hücre çekirdeğine ulaşır ve DNA hasarına hatta hücre ölümüne neden olabilir. Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit anyonu, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer (52).

1.2.3. Antioksidanlar

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere antioksidan savunma sistemleri veya kısaca 'antioksidanlar' olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasındaki hassas denge korunamadığı takdirde, hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır. Antioksidanların ilk belirlenen etkileri, zar yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyona karşı korunması olmuştur. Bunun sonucu olarak, başlangıçta antioksidanlar lipid peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışlardır. Günümüzde ise antioksidanların tanımı lipidlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbohidratlar gibi diğer hedef molekülleri koruyucu etkilerini de içerecek şekilde genişletilmiştir. Böylece,

antioksidanlar hedef moleküllerdeki oksidan hasarı engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmakta ve bu tanımla bağlantılı olarak antioksidanların etkileri farklı şekillerde olabilmektedir (53).

Başlıca antioksidan etki çeşitleri şunlardır:

- 1.Reaktif oksijen türlerinin enzim reaksiyonları aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi,
- 2.Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi,
- 3.Metal iyonların bağlanması ve böylece radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi,
- 4.Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi.

Antioksidanlar, endojen ve ekzojen kaynaklı olup enzim veya enzim olmayan yapıda olabilirler (Tablo 9).

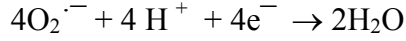
Tablo 9. Antioksidanlar (53)

Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar
Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz Sistemi	Vitamin C (Askorbik asit)
Süperoksit Dismutaz	Vitamin E (α -tokoferol)
Glutasyon Peroksidaz	β -karoten
Katalaz	Bilirubin
Glutasyon S Transferaz	Melatonin
Glukoz 6 Fosfat Dehidrojenaz	Koenzim Q10
	Alfa lipoik asit
	Ürik asit
	Glutasyon
	Ferritin
	Transferrin
	Seruloplazmin
	Albümin
	Haptoglobin

1.2.3.1. Enzimatik Antioksidanlar

1.2.3.1.1.Sitokrom oksidaz

Solunum zincirinin bir enzimi olan sitokrom oksidaz aşağıdaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eden enzimdir.

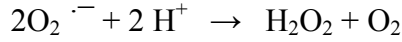


Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda normal bir fonksiyon olup, sürekli devam ederek yakıt maddelerinin oksidasyonunu tamamlar ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır (54).

1.2.3.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit Dismutaz bir süperoksit molekülünü O_2 molekülüne yükseltgeyip, diğer süperoksit molekülünü H_2O_2 'ye indirger.

SOD



İnsan vücudunda 3 farklı SOD enzimi vardır;

CuZn-SOD: Sitoplazmada lokalizedir. Aktif bölgesinde kofaktör olarak bakır ve çinko bulunur. Disülfit köprüsü ile bağlanan birbirinin aynı iki alt üniteden oluşmuştur.

EC-SOD: Vasküler endotele bağlı olarak bulunan ekstrasellüler SOD'un kofaktörleri bakır ve çinkodur.

Mn-SOD: Mitokondride bulunur. Kofaktörü mangandır (22, 55).

1.2.3.1.3. Katalaz

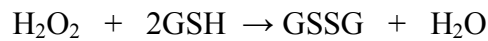
H_2O_2 , biyolojik sistemler için zararlıdır ve OH^\cdot oluşumunu arttırmaktadır. Bu nedenle oluşan H_2O_2 'nin uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla hücre içinde H_2O_2 'yi yıkan enzimlerden birisi katalazdır. H_2O_2 'nin moleküler oksijen ve suya dönüşümünü katalizler (56).

Katalaz



1.2.3.1.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Redükte glutatyonu (GSH) yükseltgerken H_2O_2 'yi de suya çevirir ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif strese karşı korur. Glutatyon peroksidaz, E vitamini yetersiz olursa, membranı peroksidasyona karşı korur. Glutatyon peroksidaz yetersizliği selenyum eksikliği sonucu olabilir. Çünkü selenyum bu enzimin bir integral parçasıdır. GSH-Px, aşağıdaki reaksiyonları katalizler (22, 57).



1.2.3.1.5. Glutatyon Redüktaz (GSH-R)

Okside glutasyonu (GSSG) redükte hale çevirir. Glutatyonun indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH'dan FAD'ye transfer edilir. Daha sonra GSH'ın iki sisteini arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutatyona aktarılmış olur (22, 57).



1.2.3.1.6. Glutatyon S-Transferaz (GST)

Toksik metabolitlerle glutatyonun konjugasyonunu katalizleyen GST enzimi de toksik metabolitlerin detoksifikasyonunu sağlayan başka bir antioksidan enzimdir (22, 57).

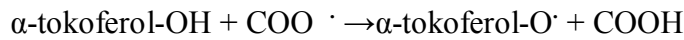
1.2.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1.2.3.2.1. Vitamin C

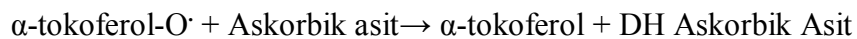
C vitamini bir ketolaktondur. Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. O₂⁻ ve OH⁻ ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Tokoferoksil radikalinin alfa-tokoferole redüklenmesini sağlar (58, 59).

1.2.3.2.2. Vitamin E

Membranlarda oksijen radikallerinin ana temizleyicisidir. En aktif formu α-tokoferoldür. Zincir kırıcı antioksidan olarak fonksiyon gösterir. Hidrofobik kısmına hidrojenini kolaylıkla verebilen –OH grubu bağlıdır. Bu yüzden lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri yağ asidi yerine α-tokoferolle birleşerek reaksiyon zinciri kırılmış olur.



Böylece α-tokoferol yeni bir radikal olan α-tokoferol-O[·] 'e dönüştürülmüş olur. Bu radikalın ise başka bir yağ asidiyle birleşebilme aktivitesi düşüktür. Sonuçta zincir reaksiyonunu durdurur. Oluşan bu tokoferoksil radikali membran yüzeyinde askorbik asitle (C vitamini) reaksiyona girerek tekrar tokoferole dönüşmektedir (22).

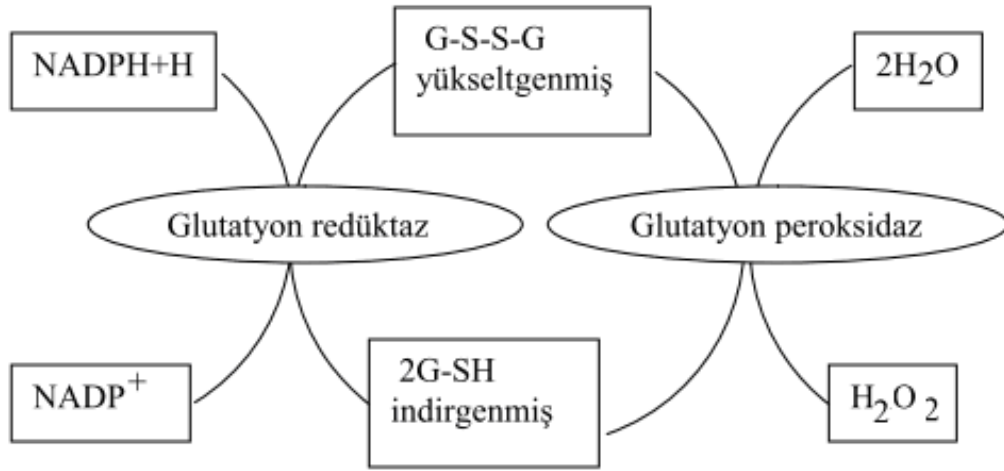


1.2.3.2.3. Beta-Karoten

A vitamininin metabolik ön maddesi olan beta-karoten, singlet oksijen ve hidroksil radikalini temizler; peroksi ve alkoksi radikallerinin dokularda tutulmasından sorumludur (60).

1.2.3.2.4. Glutatyon

Glutatyon hücre için önemli antioksidan molekülüdür ve serbest radikallerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen bir tripeptiddir ve sülfidril grupları açısından oldukça zengindir. GSH-Px, GSH-R ve GST gibi enzimlerin fonksiyonu için gereklidir (Şekil 7). Ayrıca hücrenin protein yapısındaki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. Glutatyon, amino asitlerin hücre içine transportunda da rol alır (61).



Şekil 7. Glutatyonun oksidasyon-redüksiyon siklusu (62)

1.2.3.2.5. Melatonin

Melatoninin güçlü antioksidan kapasitesi genellikle elektron verme potansiyeline sahip olma özelliğine bağlanır. Melatonin hidroksil radikallerini nötralize eder ve hidrokسيمelatonin oluşur. Ayrıca, melatoninin peroksil radikaller, singlet oksijen ve hidrojen peroksit ile etkileştiği gösterilmiştir. Melatoninin metabolitleri olan 6-hidrokسيمelatonin, N-asetil-N-formil-5-metoksikinuramin ve N-asetil-5-metoksikinuraminin serbest radikalleri detoksifiye edebilme özelliği vardır. Melatonin reaktif oksijen türleriyle direk etkileşmesine ek olarak glutatyon, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktazın aktivitelerini up-regüle eder. Buna ek olarak, nitrik oksit sentaz ve lipoksijenaz gibi prooksidan enzimleri down-regüle edebilir (63).

1.2.3.2.6. Ürik asit

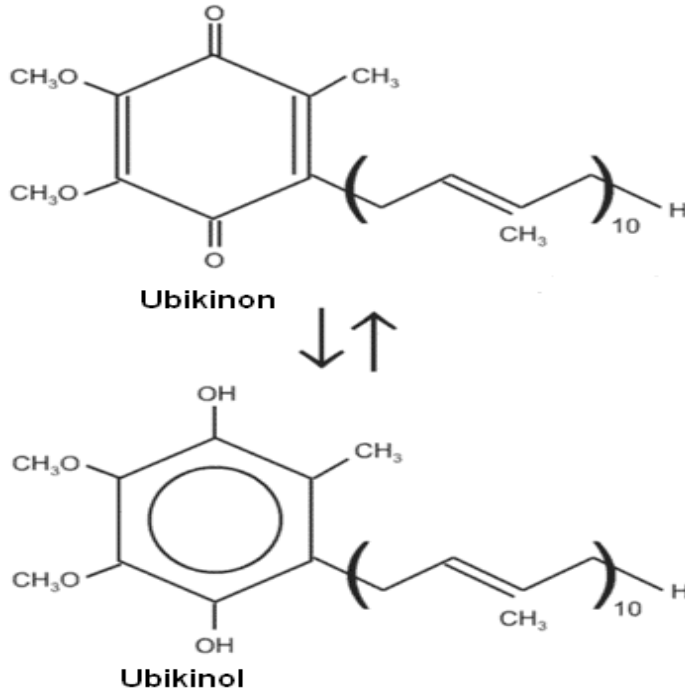
Ürik asit, pK'sı 5.75 olan zayıf bir organik asittir. Fizyolojik pH değerlerinde monosodyum urat olarak bulunur. İnsanlarda purin yıkımının son ürünüdür. Ürik asit

singlet oksijen ve peroksinitriti temizler ve geçiş metalleriyle şelat oluşturur. Ürik asit peroksinitrit kaynaklı protein nitrozasyonunu, lipid peroksidasyonunu ve NOS sentezinde gerekli tetrahidrobiopterinin inaktivasyonunu önler. Ayrıca, ürik asit LDL'yi Cu^{+2} aracılı oksidasyondan korur (64).

1.2.3.2.7. Koenzim Q10 (CoQ10)

Koenzim Q10 (2,3-dimetoksi-5-metil-6-dekaprenil benzokinon) hücredeki enerji üretimi sırasında kilit enzimatik reaksiyonlarda koenzim olarak görev yapan, her hücrede bulunabilen, yağda çözünen, vitamin benzeri bir bileşiktir. CoQ10 ilk defa 1957 yılında Dr. Frederick Crane tarafından Winconsin'de sığır kalbinin mitokondrisinden izole edilmiştir. Koenzim Q biyolojik dokularda hem redükte formda (ubikinol) hem de okside formda (ubikinon) bulunan bir redoks molekülüdür (65-67) (Şekil 8).

Memelilerde ubikinon, yan ünitelerine 1,4 benzokinon bağlı 10 izoprene sahip ve vitamin K'ya yapısal olarak benzeyen CoQ10 şeklinde bulunmaktadır. Ubikinonlar, yan zincirlerinde yer alan izoprenoid birim sayısına (n) göre farklılık gösterirler. Yan zincir 10 izoprenoid ünitesinden oluşursa, bu yapıya CoQ10 ismi verilir (65-67).



Şekil 8. Ubikinon ve ubikinolun yapısı (68)

Memeli hücrelerinde ubikinon sentezi iki metabolik yolla gerçekleşir; poliprenil yan zincirinin sentezi ve 6 karbonlu kinon halkasının oluşumu şeklindedir. Tirozin ve fenil alanin, kinon halkasının öncül amino asitleridir. Bu amino asitler bazı basamakların sonucunda 4-hidroksi benzoata dönüştürülür. Poliprenil yan zincir ise farnezipirofosfat oluşumu ile sonuçlanan ve mevalonat yolu olarak adlandırılan bir reaksiyon dizisi sonunda asetil CoA'dan meydana gelir. Farnezil pirofosfat dekaprenil pirofosfata dönüştükten sonra 4-hidroksibenzoat ile birleşerek dekaprenil 4-OH benzoatı ve birkaç basamak sonra koenzim Q'yu oluşturur. Farnezil pirofosfat, aynı zamanda kolesterol ve dolikolün de ön maddesidir. Koenzim Q sentezi endoplazmik retikulumda başlar ve golgide tamamlanır. Koenzim Q en çok mitokondride bulunur. Hayvan hücrelerinde koenzim Q'un mitokondriye ek olarak endoplazmik retikulum, golgi, lizozom, peroksizom ve plazma membranında da yer aldığı gösterilmiştir (67, 69).

Koenzim Q10 mitokondride solunum zincirinin elektron taşıyıcısı olarak görev alır. CoQ10 elektron transfer zincirinde yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinde görev yapan kompleks I, II ve III olarak isimlendirilen enzim sistemlerinin aktiviteleri için gerekli bir koenzimdir. Yapısındaki kinon grubu CoQ10'a elektron taşıyıcısı özelliğini kazandırır. Redoks özelliği ile elektronların kompleks I (nikotinamid adenin dinükleotid dehidrogenaz) ve kompleks II'den (süksinat dehidrogenaz) kompleks III'e (ubikinon - sitokrom c redüktaz) taşınmasını sağlar. Bu yüzden, CoQ10 hücrel enerji üretmesinde önemli bir rol oynar (69, 70).

Koenzim Q10'un Antioksidan Fonksiyonu:

CoQ10'un hücre ve organellerin membranlarında özellikle indirgenmiş formu (ubikinol) yerleşmiştir. Ubikinol antioksidan özelliği ile lipid peroksidasyonunu engeller. CoQ10 hücrenin, tüm intraselüler bölgelerinde NADH sitokrom-b5 redüktaz, NADH/NADPH oksidoredüktaz (DT diaforaz), NADPH CoQ redüktaz enzimleri sayesinde redükte halde tutulmaktadır. Endomembrandaki enzimler özellikle bir radikal ile reaksiyon sonucu oluşan herhangi bir semikinonun bir elektron ile tekrar redüklenmesi için önemlidir. DT diaforaz herhangi bir kinonu ara madde olmadan iki elektron transferi ile direk redükleyebilir. Ubikinol, lipid peroksil radikallerinin oluşumunu engeller (69, 71).

Membran proteinlerinin oksidasyonu da ubikinol tarafından önlenebilir. Selenyum ve alfa-tokoferolun besinsel yetersizliği sonucu oluşan oksidatif stres durumunda, membranlardaki CoQ10 miktarında yüksek bir artış gözlenir. Aynı zamanda membranlarda bulunan DT diaforaz miktarı da belirgin olarak artar. Membranlarda CoQ10 yetersizliğinde tokoferolun rejenarasyonu çok yavaş olur (71).

CoQ10 miyokard hücrelerinde adenin nükleotid havuzunun tükenmesine engel olarak da ATP miktarının azalmasına engel olur. Hücre içi kalsiyum kanallarını stabilize ederek kalsiyum döngüsünü kontrol eder. Lenfosit ve monositler üzerine, endotel fonksiyonuna, hücre sinyali ve gen ekspresyonuna etkisi bulunmaktadır (67).

CoQ10, vitamin E'den daha güçlü bir antioksidandır ve LDL oksidasyonunu inhibe eder. CoQ10'un apolipoprotein E geni eksik farelerde lipid peroksidasyon belirteçlerini azalttığı ve tavşanlarda ateroskleroz oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (72).

CoQ10 antioksidan enzim düzeylerini artırır. CoQ10 uygulanmasının plazma SOD seviyelerini ve karaciğer GSH-Px ve SOD aktivitelerini artırdığı tespit edilmiştir (73).

CoQ10 destekli diyet alan yaşlı ratlarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında izoprenaline karşı mezenterik arter gevşeme yanıtında düzelme olduğu tespit edilmiştir (72).

CoQ10, NADPH oksidaz gen ekspresyonunu baskılayarak reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltır ve serbest radikal reaksiyonları sırasında lipid peroksidasyonu ürünlerini temizler. Yapılan bir çalışmada insan umbilikal ven endotel hücrelerinde yüksek glukoz ile indüklenen oksidatif strese karşı CoQ10'un koruyucu etkisi araştırılmıştır. Yüksek glukoz (30 mM) maruz kalan hücrelerde apoptozisin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri, reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi, protein kinaz C β 2 aktivasyonu ve endotelial nitrik oksit sentaz ekspresyon artışı görülmüştür. CoQ10 uygulanması bu değişiklikleri inhibe etmiştir. Bu sonuçlara göre, CoQ10'un mitokondriyal kaspaz-3 yolunu inhibe ederek reaktif oksijen türlerine bağlı apoptozisi engellediği ileri sürülmüştür. Ayrıca, yüksek glukoz, intersellüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM-1) upregülasyonu artırmış ve CoQ10'un bu endotel

anormalliklere karşı güçlü inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlarla, CoQ10'un yüksek glukozaya bağlı oksidatif stres ile oluşan endotel disfonksiyona karşı koruyucu bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (74).

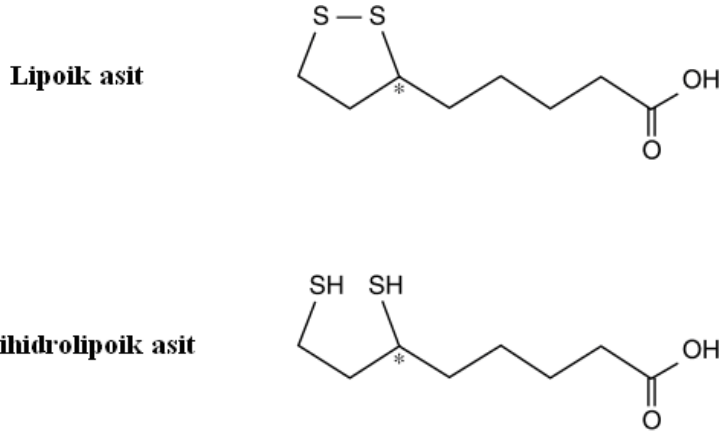
1.2.3.2.8. Alfa Lipoik Asit (ALA)

Alfa lipoik asit (1,2 dithiolan-3 pentanoik asit; 6,8 dithio-oktanoik asit) yükseltgenmiş formunda intramoleküler disülfid bağı oluşturan, oktanoik asitin bir disülfid türevidir. Serbest ALA hücreler tarafından hızla alınır ve intraselüler olarak dihidrolipoik asite (DHHLA) indirgenir. Mitokondriyi olan hücrelerde, ALA NADH bağımlı reaksiyon ile lipoamid dehidrogenaz tarafından DHHLA'ya indirgenir. Mitokondriyi olmayan hücrelerde, ALA NADPH yoluyla glutatyon ve tiyoredoksin redüktaz ile DHHLA'ya indirgenebilir. ALA okside veya redükte olabilen iki sülfür molekülü içerir (Şekil 9). Bu özelliği ALA'ya güçlü bir antioksidan özellik yanında bazı önemli enzimler için kofaktör olma özelliği sağlar. Pirüvat dehidrogenaz ve α -ketoglutarat dehidrogenaz gibi mitokondriyal anahtar enzimlerin kofaktörü olarak görev yapar ve pirüvatın asetil-CoA'ya oksidatif dekarboksilasyonunda gereklidir. ALA ve indirgenmiş formu DHHLA, güçlü antioksidanlardır. ALA'nın önemli bazı fonksiyonları; reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi, C, E vitaminleri, glutatyon gibi ekzojen ve endojen antioksidanların rejenerasyonu, metal iyonları şelasyonu, membran lipid peroksidasyonunun önlenmesi ve okside proteinlerin onarımıdır. Antioksidan özellikleri nedeniyle, ALA'nın oksidatif stresin önlenmesinde ve tedavisinde etkili olduğu bilinmektedir. ALA ve DHHLA 0.05-1 mM konsantrasyonlarında hidroksil radikal, hipoklorik asit ve singlet oksijeni inaktive eder, Fe^{+2} ile şelat oluşturur (75).

İnsülin direncinin oksidatif stres ve endotel disfonksiyon ile ilişkili olması nedeniyle alfa-lipoik asitin insülin direnci görülen durumlarda faydalı olduğu ileri sürülmüştür. Metabolik sendromda alfa lipoik asit tedavisinin kan basıncını azalttığı, insülin direnci ve dislipidemiye düzelttiği gösterilmiştir (76). Lipoik asitin obez ratlarda AMP-Aktive Protein Kinazın aktivasyonu yoluyla endotel disfonksiyonu engellediği gösterilmiştir (77).

Yaşlı ratlarda ALA uygulanmasının aortta asetilkoline bağımlı vazorelaksasyonu normale getirdiği ve yaşa bağımlı nitrik oksit sentaz ve Akt'nin fosforilasyonunda azalmayı düzelttiği gösterilmiştir. ALA'nın endotel seramid

düzeylerinde azalmaya neden olduğu ve bunun protein fosfataz 2A'nın aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (78).



Şekil 9. Lipoik asit ve dihidrolipoik asitin yapısı (75)

ALA ve DHLA'nın NF-kappa B sinyal iletimini düzenlediği, ICAM-1 ve VCAM-1'in ekspresyonunu downregüle ettiği gösterilmiştir (79).

Yaşlı ratlara ALA uygulanmasının MDA düzeylerini azalttığı ve karaciğerde glutasyon düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (80).

ALA *in vivo* ve *in vitro* olarak glutasyon düzeylerini artırır. Sistein kullanılabilirliği glutasyon sentezinde hız kısıtlayıcı faktör olarak bilinmektedir. ALA'nın DHLA'ya dönüşümünde sistin sisteine indirgenir. Sistein nötral amino asit taşıma sistemiyle alınır ve glutasyon sentezi için kullanılır (81) (Şekil 10).

Albumin, transferrin, laktoferrin, seruloplazmin enzimatik olmayan diğer antioksidanlar arasında yer almaktadır.

1.3. Metabolik Sendromda Oksidatif Stres

Metabolik sendromlu hastalar diyabet gelişimi açısından yüksek risk altındadırlar. Lipid hidroperoksitler, konjuge dienler ve isoprostanlar gibi oksidatif stres belirteçlerin düzeylerinin arttığı diyabetik hastalarda; E ve C vitaminleri, glutasyon, süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz gibi antioksidan parametrelerin azalması metabolik sendromda da oksidatif stresin önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir (22, 82, 83).

Artmış glukoz düzeyleri; otooksidasyon, oksidatif fosforilasyon, glikozilasyon ve glukozamin yolları ile mitokondriyal reaktif oksijen türleri (ROT) üretimi sonucu oksidatif strese neden olur. Yükselmiş serbest yağ asitleri oksidatif fosforilasyonun mitokondriyal ayrışması ve β -oksidasyon nedeniyle ROT üretiminde

Metabolik sendromda glukotoksisite yanında lipotoksisite de oksidatif hasara neden olmaktadır. Obezitenin hiperglisemiden bağımsız olarak oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunu predispoze ettiği konusunda kanıtlar vardır. Obezlerde NADPH oksidaz ekspresyonun daha yüksek olduğu ve yükselmiş serbest yağ asidi düzeylerinin NADPH oksidazı aktive ederek serbest radikal üretimini artırdığı gösterilmiştir (85).

Aterosklerozun önemli bir nedeni olan sistemik oksidatif stresin metabolik sendromda arttığı gösterilmiştir. Okside düşük yoğunluklu lipoprotein, 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) ve lipid peroksitler gibi oksidatif stres belirteçlerinin metabolik sendromlu ratlarda artmış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca serum 3-klorotirozin ve 3-nitrotirozin düzeylerinin de arttığı gösterilmiştir (86).

MS'de antioksidan enzim aktivitelerinin azalması ile E ve C vitamini düzeylerinde azalma sonucu total antioksidan kapasitesinde düşme görülebilir. MS komponentleriyle orantılı olarak total antioksidan düzeyleri azalır, peroksitler ve oksidatif stresin diğer belirteçleri artar (87).

Aşırı fruktoz alımının oksidatif stresi artırdığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda ratlarda yüksek fruktozlu diyetin insülin direnci ve serbest radikal savunma sisteminde bozukluğa yol açtığı gösterilmiştir (88). Aşırı fruktoz alımına bağlı insülin direnci ve artmış serbest radikaller endotel hücreler üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir (89).

Yüksek fruktozlu diyet ile beslenen ratlarda antioksidan enzimlerin aktiviteleri ve mRNA sentezinin azaldığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Cavarepe ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yüksek fruktoz ile beslenen ratlarda karaciğerde ve kalpte katalaz mRNA ve Cu-ZnSOD mRNA ekspresyonun belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir (90).

1.4. Metabolik Sendromda Endotel Disfonksiyon

1.4.1. Normal Endotelyum

Endotelyum, vasküler düz kas ile damar lümeni arasında uzanan bazal membran üzerinde yerleşmiş tek sıralı yassı epitel hücrelerden oluşan bir dokudur. Damar endoteli sadece bir bariyer değildir, aynı zamanda otokrin, parakrin ve endokrin özellikleri olan çok fonksiyonlu eşsiz bir organdır. Endotelin anahtar rolü damar homeostazisidir (91).

Çeşitli vazodilatör ve vazokonstriktör ajanlar damar endoteli üzerine olan etkileri ile damar tonusunu düzenlerler. Nitrik oksit, prostasiklin ve bradikinin damar duvarını dilate ederken endotelin, anjiyotensin II ve tromboksan ise konstriksiyona yol açarlar. Bu ajanlar sadece arter tonusunu düzenlemekle kalmayıp ateroskleroza yol açan diğer parametreleri de etkilemektedirler (91).

Endotelyum fiziksel ve kimyasal değişikliklere yanıt verir ve vasküler tonus, hücre adezyonu, düz kas hücresi proliferasyonu ve damar duvarı inflamasyonunu düzenleyen birçok faktör salgılar (91, 92) (Tablo 10).

Tablo 10. Normal endotel fonksiyonu ve vasküler hemostazı sağlamak için salınan mediatörler (92)

Vasküler tonusu dengeleyenler

- Nitrik oksit
- Prostaglandinler (prostasiklin, tromboksan A2)
- Endotelial hiperpolarize edici faktör
- Endotelin I
- Anjiyotensin II
- C- tip natriüretik peptid

Koagulasyon sürecini dengeleyenler

- Nitrik oksit
- Doku plazminojen aktivatörü
- Heparin
- Trombomodulin
- Prostaglandin
- Plazminojen aktivatör inhibitörü 1
- Doku faktörü
- Von Willibrand faktörü

Vasküler inflamatuvar süreci kontrol edenler

- Monosit kemotaktik faktör I
 - İnterlökin 1,6 ve 18
 - Tümör nekrozis faktör
-

1.4.2. Endotel disfonksiyonu

Endotel disfonksiyonu (ED) normal endotel fonksiyonunun kaybı ile karakterize olup prokoagulan ve antikoagulan, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar mediatörler, gevşeme ve kasılma faktörleri arasındaki dengenin bozulması ile ortaya çıkar. Vazodilatör maddelerin biyoyararlanımındaki azalma veya vazokonstriktörlerde artma sonucunda, endotel bağımlı vazodilatasyonda azalma ve ED meydana gelir. Bu durum proinflamatuvar, proliferatif ve prokoagulan ortama yol açmaktadır (38, 82, 91).

Endotel disfonksiyonu, ateroskleroz gelişiminin öncüsü olarak kabul edilmektedir. Vasomotor disfonksiyon olarak ifade edilen ED, aterosklerozun yapısal değişikliklerinden oldukça önce oluşur ve gelecekteki kardiovasküler olayları öngörmeye yardım eden bağımsız bir faktördür. (38, 82, 91).

Yaş, erkek cinsiyet, sigara içme, yüksek kolesterol, düşük HDL-K düzeyi, hipertansiyon, yüksek homosistein düzeyi, DM, obezite ED ile ilişkili olup, L-arjinin, östrojen, antioksidanlar, düşük kolesterol ve egzersiz ED'ye karşı koruyucudur (38, 82, 91).

Metabolik sendromun endotel disfonksiyonuna hangi mekanizmayla neden olduğu tam olarak açıklığa kavuşturulmamasına rağmen bu hastalarda damar endotel hasarı ve kardiyovasküler risk artışının birçok nedeni bulunmaktadır. Metabolik sendromlu hastalarda endotel disfonksiyonuna katkıda bulunabilen en sık metabolik, hormonal ve hemostatik anormallikler hiperinsülinemi, hiperglisemi, yağ asidi düzeyleri artışı, hipertrigliseridemi, HDL-kolesterol azalması, küçük yoğun LDL-kolesterol artışı, apolipoprotein B artışı, doku anjiyotensin II düzeylerinde artış, plazminojen aktivatör inhibitör-1 artışı, C-reaktif protein artışı ve oksidatif stres artışıdır (93).

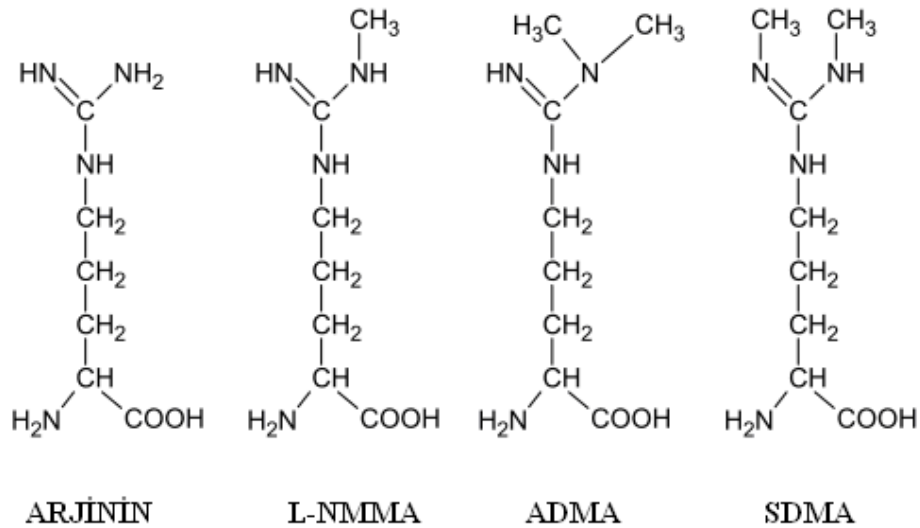
Çeşitli çalışmalarda MS'nin tip 2 diabetes mellitus ve vasküler olaylar riskinin artışı ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Metabolik sendromun bütün bileşenlerinin endotel üzerinde olumsuz etkileri vardır. Endotel disfonksiyonu ateroskleroz patogenezinde rol oynar ve insülin direnci ve Tip 2 Diyabet riskini artırabilir (94).

Dislipidemi, hipertansiyon, diyabet ve sigara içimi gibi risk faktörleri ile oluşan oksidatif stres, endotel disfonksiyonuna ve damarda inflamasyona yol açar,

vazodilatör etkili maddelerin etkinliği azalır, oksidatif stres daha da artar, diğer biyolojik mediyatörler aktifleşir ve böylece vasküler komplikasyonlara yol açan çeşitli patobiyolojik olaylar başlatılmış olur. İnflamasyonu takiben damar düz kas hücreleri intima tabakasına göç ederler, çoğalırlar ve hücre dışı matriks proteinlerinin yapımını arttırırlar. Tüm bu olaylar aterosklerotik plakların oluşumu ile sonuçlanır (38, 82, 91).

Nitrik oksitin endotel disfonksiyonu ile ilişkili olduğu pek çok çalışmada rapor edilmiştir (91-95). Bu durum endotelial NO sentaz (eNOS) enziminin aktivitesinin azalmasından veya NO'nun biyolojik aktivitesinde azalmandan kaynaklanabilir. Serbest oksijen radikallerinin NO ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşumuna neden olduğu, bu sitotoksik oksidanın da proteinlerin nitrasyonu yoluyla hücresel proteinlerin fonksiyonunu bozarak endotel disfonksiyonuna yol açtığı bilinmektedir. Nitrik oksit azalmasına yol açan bir diğer mekanizma eNOS enziminin endojen kompetitif inhibitörü olan asimetrik dimetilarjinin (ADMA) düzeylerindeki artıştır (96).

1992 yılında Vallance ve arkadaşları insan plazma ve idrarında endotelial nitrik oksit sentazın endojen inhibitörü olarak ADMA'nın varlığını tanımlamışlardır. ADMA, metilarjininler grubunda yer almaktadır. Metilarjininler Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), Simetrik dimetilarjinin (SDMA), N^G-Monometil-L-arjinin (L-NMMA) olmak üzere üç şekilde bulunur (95, 96) (Şekil 11).



Şekil 11. Arjinin ve endojen metilarjininlerin yapısı (97)

ADMA, nitrik oksit biyosentezinin major inhibitörüdür. ADMA ve L-NMMA sentezi için arjinin rezidülerini metilleyen, protein arjinin metiltransferaz tip I (PRMT-I) enzimi gereklidir. Metil grubu vericisi olarak S-adenozil metiyonin (SAM) kullanılır. Damar duvarında ADMA oluşum hızı, PRMT ekspresyonundaki değişikliklerle düzenlenmektedir. Protein arjinin metil transferaz tip II (PRMT-II) SDMA'nın oluşumunda görevlidir. SDMA, ADMA'nın stereoizomeridir ve NO sentezi üzerine direkt inhibitör etkisi yoktur (95, 96).

İnsülin direcinin temel mekanizma olduğu metabolik sendromda, ADMA artışının metabolik sendrom komponentleriyle olan yakın ilişkisi ADMA'nın metabolik sendrom patogenezinde önemli bir nokta olduğu görüşünü ön plana çıkarmaktadır. Bununla birlikte, Garcia ve arkadaşları tarafından metabolik sendromlu hastalarla yapılan çok yeni bir çalışmada ADMA'nın metabolik sendrom patofizyolojisinde rolünün olmadığı fakat bu sonucun çalışma popülasyonunun etnik ve çevresel özelliklerine bağlı olabileceği bildirilmiştir. Metabolik sendromun bileşenleri olan hipertansiyon, hiperlipidemi ve obezitede ADMA düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (98). Çeşitli deneysel hayvan modellerinde ve insanlarda artmış ADMA düzeyiyle artmış oksidatif stres ve endotel disfonksiyonu arasında anlamlı ilişkiler saptanmıştır (99). Xiong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada streptozosinle diyabet oluşturulan ratlarda serum MDA ve ADMA düzeylerinin kontrollere kıyasla yükseldiği tespit edilmiştir (100).

Endotel hücre kültürlerinde veya endotel disfonksiyonu olan hastalarda artmış ADMA düzeylerinin artmış reaktif oksijen türlerinin üretimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Oksidatif stres, ADMA yıkımında görevli enzim olan Dimetilarginin dimetilaminohidrolazın (DDAH) aktivitesini azaltır. Okside LDL, inflamatuvar sitokinler, hiperhomosisteinemi, hiperglisemi, hipertansiyon süperoksit oluşumunu arttırarak oksidatif stresin artışına neden olur. DDAH enziminin aktif merkezindeki reaktif sistein rezidülerinin varlığı, bu enzimi süperoksit gibi reaktif oksijen türleri tarafından oksidasyona veya S-nitrozilasyona uygun hale getirir. Oksidasyon ve S-nitrozilasyon sonucu enzim aktivitesi azalır. Oksidatif stres etkisiyle DDAH aktivitesinin bozulması ve ardından artmış ADMA düzeyleri, antioksidanlar tarafından inhibe edilebilir. ADMA ile insülin direnci arasındaki ilişki oldukça kompleksdir. Oksidatif stres gibi çeşitli nedenlerle ADMA düzeylerinin yükselmesi,

nöronal NOS'u inhibe ederek postprandiyal insülin duyarlılığını bozmaktadır. ADMA tarafından eNOS'un da inhibisyonu, endotel disfonksiyonuna ve ateroskleroza yol açmakta, böylece vasküler değişikliklerin eşlik ettiği insülin direnci gelişmektedir. İnsülin direncine bağlı oluşan hiperglisemi, hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemi oksidatif stresi arttırarak, ADMA yıkımında görevli enzim DDAH'ı inhibe etmektedir. Tüm bu olaylar sonucunda bir kısır döngü oluşmaktadır (95-97).

Hiperglisemi, dislipidemi, hipertansiyon, inflamasyon, insülin direnci ve yüksek plazma asimetrik dimetilarjinin konsantrasyonu metabolik sendromda endotel disfonksiyonun gelişimine katkıda bulunur (72).

İnsülin, bir yandan fizyolojik konsantrasyonlarında NO salınımını arttırarak vazodilatör ve anti-inflamatuvar etki gösterirken öte yandan hiperinsülinemi, endotel ve damar düz kas hücrelerine direk etki ile aterosklerozun ortaya çıkmasına katkıda bulunur. İnsülin direnci ve hiperinsülinemi endotel fonksiyonları bozarak vasküler hasar gelişmesine yol açar. İnsülin direnci, NO aracılı vazodilatasyonu bozar. İnsülin direnci aynı zamanda adipoz dokudan serbest yağ asitlerinin salınımını uyararak reaktif oksijen radikallerinin artışına yol açar. NO biyoyararlanımı azalmasına, endotelin ve anjiyotensin II artışı eşlik eder. Oksidatif stres, NO biyoyararlanımı azalması ve dislipidemi beraberliği TNF- α ve IL-1 gibi inflamatuvar mediyatörlerin sentezini arttırır (101).

İnsülin, reseptörüne bağlanır ve İnsülin reseptör substrat tip 1'i (IRS-1) fosforile eder, fosforile IRS-1 adipoz dokuda insülin aracılı glukoz alımında ve endotel hücrelerinde NO üretiminde önemli bir rol oynayan PI (fosfatidilinositol)-3 kinazı aktive eder. PI-3 kinazın insülinle stimülasyonu obez bireylerde azalır ve tip 2 diyabette hemen hemen hiç yoktur. Bu seçici insülin direnci artmış vasküler düz kas hücresi büyümesi ve göçü ile mitojenik yolağın artmasına yol açar. Yükselmiş plazma yağ asitleri endotel bağımlı NO üretimini ve vazodilatasyonu azaltır. Santral obezite ve insülin direncinde görülen yükselmiş yağ asitleri endotel disfonksiyonuna NO üretimini bozarak ve mitotik aktiviteyi arttırarak katkıda bulunur (85).

İnsülin direnci ve sistolik kan basıncı metabolik sendromda endotel disfonksiyonunun belirleyicileridir. Hipertansiyon mekanik hasar, endotel hücrelerden artmış serbest radikal üretimi, NO biyoyararlanımında azalma veya

vasküler düz kas hücrelerine proinflamatuvar etki ile endotel fonksiyon bozukluğuna neden olabilir (85).

Adipositler, hepatik C-reaktif proteinin sentezini etkileyen ve in vitro eNOS sentezini down regüle eden IL-6 ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinleri eksprese ederek çeşitli yollarla endotel disfonksiyonuna katkıda bulunur. TNF- α 'nın adiposit ekspresyonu endotel hücreleri doğrudan etkileyebilir (85).

Endotel fonksiyon testleri

Endotel fonksiyonu ölçmek için farklı yöntemler bulunmaktadır. Bunlar arasında, bazı biyokimyasal belirteçlerin ölçümü ve vasküler reaktivite değerlendirilmesi klinik uygulamada en yaygın kullanılan yöntemlerdir. İdeal test güvenilir, invaziv olmayan, kolayca ulaşılabilecek, subklinik ateroskleroza tespit edebilen, kardiyovasküler riski belirleyebilen ve tedaviye cevabı değerlendirebilen özelliklerde olması gerekir. Çalışmalar, endotel bağımlı vazoaktivite ile endotelial fonksiyonun dolaşımdaki belirteçleri üzerine yoğunlaşmıştır. ADMA, endotelin 1, von willebrand faktörü (vWF), doku plazminojen aktivatör inhibitörü (t-PAI) ve adezyon molekülleri üzerinde en çok çalışılan belirteçlerdir (91).

Bu çalışmamızda metabolik sendrom oluşturmak için ratlara %10'luk fruktoz içme sularına katılmak suretiyle verilmiştir. Fruktoz glikolizin düzenleyici basamağı olan ve fosfofruktokinaz tarafından kontrol edilen basamağı by-pass etme yeteneğine sahiptir. Glukoz metabolizması fosfofruktokinaz ile negatif olarak düzenlenirken, fruktoz sürekli glikolitik yola girer. Bu nedenle, fruktoz kontrolsüz olarak, açıl-gliserol moleküllere hem açıl hem de gliserol sağlar. Bu substratlar ve kontrolsüz fruktoz metabolizması sonucunda açığa çıkan fazla enerji TG'nin aşırı üretimini artıracaktır. Yüksek fruktozlu diyetin lipogenez yolunu up-regüle ederek TG üretimini artırdığına dair kanıtlar vardır. Kronik fruktoz maruziyeti hiperinsülinemi ve obeziteye çeşitli mekanizmalarla neden olmaktadır. Obez ratlarda zayıflara göre fruktoz taşıyıcı glukoz transporter 5 (GLUT 5)'in daha fazla eksprese edildiği gösterilmiştir. Ratlar yaşlandıkça ve diyabetik oldukça, GLUT 5'in miktarı ve aktivitesi azalması ve insülin direncinin belirginleşmesi fruktoza bağlı metabolik sendromun oluşumunda GLUT 5'in olası rolünü göstermektedir. Yapılan bir çalışmada 2 hafta %66'luk fruktoz diyeti ile beslenen ratlarda standart diyet ile beslenen ratlara göre, iskelet kas ve karaciğerde insülin reseptör mRNA ve daha

sonra insülin reseptör sayıları anlamlı olarak daha düşük tespit edilmiştir. Farklı bir çalışmada 28 gün fruktoz ile beslenmede insülin reseptör yoğunluğunda değişiklik bulunmamış, ancak insülinin etkisi için gerekli insülinle uyarılmış otofosforilasyonun karaciğerde % 72 oranında azalmış olduğu gösterilmiştir. Gruplar arasında IRS proteinin seviyeleri benzer bulunmuş ama fruktoz verilen grupta hem karaciğer hem kasda insüline bağlı IRS 1/2 fosforilasyonunda anlamlı azalmalar görülmüştür. Kronik fruktoz maruziyeti heksozamin yolunun en önemli düzenleyici enzimi glutamin: fruktoz-6-fosfat amidotransferazın ekspresyonunun artmasına ve karaciğerde aşırı yağ asitleri üretilmesine, iskelet kasının insülin dirençli hale gelmesine ve hiperinsülinemi oluşmasına neden olur (102).

Bu çalışmamızın amacı, yüksek fruktoz diyeti ile metabolik sendrom oluşturulmuş ratlara alfa lipoik asit ve koenzim Q10 uygulanmasının bazı oksidatif stres ve endotelial disfonksiyon belirteçleri üzerine etkilerini araştırmak ve bu etkileri ayrıca histopatolojik olarak da göstermektir. Böylece metabolik sendrom tedavisinde alfa lipoik asit ve koenzim Q10'un etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi'nde (FÜDAM) ve Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Çalışmada, 210-235 gram ağırlığında Sprague Dawley cinsi 37 rat kullanıldı ve çalışma sürecinde 3 rat ex oldu. Ratlar deney öncesi ve deney sırasında standart şartlarda (22-24 C° sabit ısı ve havalandırılmalı odalarda) gruplar halinde özel kafeslerde bekletildi. Ratların beslenmesinde Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen 8 mm'lik standart rat pellet yemi ve çeşme suyu kullanıldı. Ratların beslenmesinde kullanılan yemin bileşimi Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. Standart rat yemi

Yem Bileşimi

Su (en çok)	%12
Ham protein (en az)	% 24
Ham selüloz (en çok)	% 7
Ham kül (en çok)	% 8
HCl'de çözünmeyen kül (en çok)	% 2
NaCl (en çok)	% 1
Mineral karması*	% 1,25
Vitamin karması **	%1,25
Metabolik enerji	2650 kcal/kg

* Mineral Karması: Kalsiyum (% 1.0-2.8), Fosfor (% 0.9), Sodyum (%0.5-0.7), Mangan (10 mg/kg), Çinko (4 mg/kg).

** Vitamin Karması: Vitamin A (300 IU/kg), Vit. D₃ (1000 IU/kg), Vit. E (60 mg/kg), Vit. B₂ (4 mg/kg).

Deney hayvanlarının seçimi ve yapılan uygulamalar sırasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu (10.06.2009 / Toplantı Sayısı:22; Karar No: 41) onayı alınarak; çalışma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapıldı. Çalışma süresi 18 ay olarak belirlendi.

Ratlar 4 gruba ayrıldı. Çalışmada gruplar ve uygulanan metodlar Tablo 12'de gösterildiği gibi belirlendi:

ALA hazırlanması: ALA (Sigma-Aldrich Co. St Louis, MO, A.B.D) %0.5 NaOH içeren serum fizyolojikte çözdürülüp HCl ile pH:7.4'e ayarlandı (104, 105).

CoQ10 hazırlanması: CoQ10 (abc GmbH & Co. KG Im Schleht Karlsruhe – Germany) zeytinyağında çözüldü ve intraperitoneal uygulandı (106, 107, 108).

Vücut ağırlığı takibi: Ratlar çalışma sürecinde haftada bir kez olmak üzere hassas ölçebilen tartı cihazı ile sabah 08.00-09.00 saatleri arasında tartılarak sonuçlar kaydedildi.

Tablo 12. Rat Grupları ve Uygulanan Metodlar

Grup 1(Kontrol grubu; n=7):

8 hafta süreyle standart rat yemi ile beslenecek olan ve sonrasında 5 hafta intraperitoneal 0.5 ml/gün serum fizyolojik uygulanarak dekapitasyonu takiben alınacak örneklerin inceleneceği grup.

Grup 2 (MS grubu; n=9):

8 hafta süreyle içme suyuna katılan % 10'luk fruktozlu diyet sonrası metabolik sendrom oluşturulacak olan ve sonrasında diyetle birlikte 5 hafta intraperitoneal 0.5 ml/gün serum fizyolojik uygulanarak dekapitasyonu takiben alınacak örneklerin inceleneceği grup (103).

Grup 3 (ALA grubu; n=9):

Metabolik sendrom oluşturulan ratlarda diyetle birlikte 5 hafta intraperitoneal 100 mg/kg/gün ALA uygulanacak olan ve dekapitasyonu takiben alınacak örneklerin inceleneceği grup (104, 105).

Grup 4 (CoQ10 grubu; n=9):

Metabolik sendrom oluşturulan ratlarda diyetle birlikte 5 hafta intraperitoneal 10mg/kg/gün CoQ10 uygulanacak olan ve dekapitasyonu takiben alınacak örneklerin inceleneceği grup (84, 106).

2.2. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Tüm bu uygulamalar sonunda ratlar dekapite edilerek, plazma ve serum örnekleri analizler için uygun olacak şekilde EDTA'lı ve düz biyokimya tüplerine alındı. Alınan kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek (Heraeus Biofuge Stratos; Kendo Laboratory Products, Osterode-Germany) serum ve plazmaları ayrıldı. Çalışmada birçok parametreye bakılacağı için, elde edilen serum ve

plazmalar küçük porsiyonlar halinde polipropilen tüplere konuldu ve analiz yapılana kadar -20°C'de saklandı.

2.3. Serum İnsülin Düzeylerinin Ölçümü

Serum insülin düzeyleri, rat insülin ELISA kiti (Millipore, katalog no: EZRMI-13K, A.B.D) kullanılarak ve kit kullanım klavuzuna uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 kullanıldı. Test sonuçları ng/ml olarak belirtildi. Ölçüm aralığı: 0,2-10 ng/mL, intra-assay CV: < %1,17-3,22 ve inter-assay CV değeri: < %6,95-9,23'di.

2.4. Malondialdehit Tayini

Lipid peroksidasyonu, lipid peroksidasyonunun plazmadaki son yıkım ürünü olan malondialdehit miktarları tespit edilerek ölçülmüştür. MDA düzeyleri, HPLC cihazında (Shimadzu 20A prominence) ImmuChrom kitleri aracılığı ile plazma örneklerinde tayin edilmiştir. Plazma MDA ölçüm yönteminde aşağıdaki basamaklar takip edilmiştir:

1. 1.5 ml reaksiyon tüplerine 20 mikrolitre numune (plazma), kalibratör ve 1 ml türevlendirme solusyonu eklendi ve iyice karıştırıldı (vorteksde 15 saniye)
2. 95 °C'de 60 dakika inkübe edildi; Örnekler 2-8 °C'de soğutuldu ve 5 dakika 10.000g'de santrifüj edildi.
3. 500 µl süpernatant 500 µl reaksiyon solusyonu ile karıştırıldı.
4. 20 µl süpernatant HPLC sistemine kromatografi için enjekte edildi.
5. Sonuçlar µmol/l cinsinden ifade edildi. .

Plazma MDA ölçümü için kromatografik koşullar ise;

Kolon: ODS 2 C18 (5 µm partikül boyutu, 125 µX4 mm).

Akım hızı: 0.8-1.0 ml / dak

Floresan tespiti: Eksitasyon 515 nm

Emisyon 553 nm

Enjeksiyon hacmi: 20 µl

Çalışma süresi: 4 dk

Sıcaklık: 30 °C

Intra-Assay CV: % 9.0 (0.86 µmol/l) [n = 6]

% 6,4 (2,55 µmol/l) [n = 6]

Inter-Assay CV: % 10.9 (0.89 µmol/l) [n = 6]

% 7,5 (2,50 µmol/l) [n = 6]

Linearite 50 µmol/l 'e kadar

Tespit limiti 0.01 µmol/l

Geri kazanım % 95.7

2.5. Glutasyon Tayini

Total ve redükte glutasyon düzeyleri, HPLC cihazında (Shimadzu 20A prominence) ImmuChrom kitleri aracılığı ile EDTA'lı tam kan örneklerinde tayin edilmiştir. Glutasyon ölçüm yönteminde aşağıdaki basamaklar takip edilmiştir:

1. 1.5 ml reaksiyon tüpleri içine 100 mikrolitre numune, kalibratör ve 200 mikrolitre dilüsyon solusyonu eklendi ve vortekslendi.
2. Total glutasyon ölçümü için 50 mikrolitre seyreltilmiş numune, 100 mikrolitre internal standart, 20 mikrolitre redüksiyon solusyonu, 100 mikrolitre türevlendirme solusyonu karıştırıldı.
3. Redükte glutasyon ölçümü için 50 mikrolitre seyreltilmiş numune, 100 mikrolitre reaksiyon tamponu ve 100 mikrolitre türevlendirme solusyonu karıştırıldı.
4. İki karışım da 60 °C'de 20 dakika inkübe edildi.
5. İki karışıma da 100 mikrolitre presipitasyon solusyonu eklendi.
6. 2-8 °C'de 10 dakika inkübe edildi ve 10.000 g'de 10 dakika santrifüj edildi.
7. 200 mikrolitre reaksiyon tamponuna 100 mikrolitre süpernatant eklendi.
8. HPLC sistemine reaksiyon için 20 mikrolitre enjekte edildi

Glutasyon ölçümü için kromatografik koşullar ise;

Kolon: ODS C18, 5 µm partikül boyutu, 125 µX4 mm.

Akım hızı: 0,75-1,0 ml / dk

Floresan tespiti: Eksitasyon 385 nm

Emisyon 515 nm

Enjeksiyon hacmi: 20 mikrolitre

Çalışma süresi: 4 dk

Sıcaklık: 30 °C

Analiz sonuçlarının hesaplanması

Total glutatyon

Örnek konsantrasyonu = $\frac{\text{Hasta Pik Alanı} \times \text{Kalibratör Konsantrasyonu} \times F}{\text{Hasta Pik Alan İnternal Standartı (IS)}}$

$F = \frac{\text{Kalibratörün Pik Alan IS}'_1}{\text{Kalibratörün Pik Alanı}}$

Redükte glutatyon

Örnek konsantrasyonu = $\frac{\text{Hasta Pik Alanı} \times \text{Kalibratör Konsantrasyonu}}{\text{Kalibratör Pik Alanı}}$

Intra-Assay CV: Total GSH: % 1.2 (551 mikromol/l) [n = 6]

Redükte GSH : % 1.2 (286 mikromol/l) [n = 6]

Inter-Assay CV: GSH total: % 2.8 (554 mikromol/l) [n = 6]

Redükte GSH: % 3.5 (271 mikromol/l) [n = 6]

Linearite: Total GSH: 15 mmol/l'a kadar

Redükte GSH: 15 mmol/l'a kadar

Tespit limiti: Total GSH: 2 mikromol/l

Redükte GSH: 0,4 mikromol/l

2.6. ADMA, SDMA ve Arjinin Tayini

ADMA, SDMA ve Arjinin düzeyleri, HPLC cihazında (Hewlett Packard 1100) EUREKA (Italy) kitleri aracılığı ile plazma örneklerinde tayin edilmiştir. Plazma ADMA, SDMA ve Arjinin ölçüm yönteminde aşağıdaki basamaklar takip edilmiştir:

1. 1.5 ml'lik cam bir tüpe 200 µl Test Solüsyonu, 200 µl Tampon Solüsyonu 1, 200 µl Tampon Solüsyonu 2, 30 µl Başlangıç Solüsyonu, 30 µl Türevlendirme solüsyonu konularak 5 saniye karıştırıldı.

2. 20 °C' de (oda ısısında) 20 dk bekletildi.

3. Stabilizasyon solüsyonundan 100µl eklendi ve bu solüsyondan standartların kromatogramdaki yerlerinin belirlenmesi için 100 µl alınarak HPLC cihazına enjekte edildi.

4. Örneklerin Dilüsyonu: Örneklerden (numune veya standart) 400 µl alındı, dilüsyon solüsyonundan da 1000 µl alınarak karıştırıldı.

5. Dilüsyon yapılan örneklerden 1 ml alınarak ön kolondan geçirilirdi ve elüent atıldı.

6.Ön kolonlardan 1.0 ml elüsyon solüsyonu ayırıcı geçirildi, elüent toplandı ve 5 sn karıştırıldı.

7. Örneklerin Türevlendirilmesi: 1.5 ml'lik cam veya plastik bir tüpe 200 µl elüent, 200 µl Tampon solüsyonu 1, 200 µl Tampon solüsyonu 2, 30 µl Başlangıç solüsyonu, 30 µl Türevlendirme solüsyonlardan konularak 5 sn karıştırıldı ve 20 °C' de (oda ısısında) 20 dk bekletildi. Daha sonra Stabilizasyon solüsyonundan 100 µl eklendi ve 5 sn karıştırılarak HPLC cihazında 100 µl enjeksiyon yapılarak kromotogramlar değerlendirildi.

ADMA, SDMA ve Arjinin ölçümü için kromatografik koşullar ise;

Kolon: Phenyl column (SPHERISORB 250 mm x 4,6 mm, 5 µ).

Akım hızı: 1,0 ml / dk

Floresan tespiti: Eksitasyon 420 nm

Emisyon 483 nm

Enjeksiyon hacmi: 100 mikrolitre

2.7. Nitrik Oksit Düzeylerinin Ölçülmesi

Nitrik oksit 2-30 sn içinde nitrit ve daha sonra da nitrate oksitlenir. Nitrik oksit ölçümü, Cortas ve ark.'nın (109) modifiye metoduna göre spektrofotometrik yöntemle ölçüldü (109).

Kullanılan Reaktifler:

1) Sülfanilamid: 66.2 ml 3M HCl alınıp bir mezür içerisinde hacmi 250 ml'ye tamamlandı. Bu çözelti içine 2.5 gr sülfanilamid eklendi. Sülfanilamid HCl içinde iyice çözüldü.

2) Glisin-NaOH Tamponu: 7.5 gr glisin 100 ml distile suda çözüldü. 3.2 gr NaOH ise 40 ml distile suda çözüldü. Hazırlanan bu NaOH solüsyonu ile glisin tamponunun pH'ı 9.7'ye ayarlandı. Daha sonra çözelti 500 ml'ye tamamlandı.

3) N-Naftiletilen diamin (NNDA): 50 mg NNDA tartıldı, 250 ml distile suda çözüldü.

4) Sodyum hidroksit (NaOH): 55 mmol/L'lik NaOH çözeltisi (1.1 gr NaOH, 500 ml distile su)

5) **Bakır sülfat (CuSO₄):** 5 mmol/L'lik CuSO₄ çözeltisi (250 mg CuSO₄, 200 ml distile su)

6) **Çinko sülfat (ZnSO₄) :** 75 mmol/L'lik ZnSO₄ çözeltisi (10.8 gr ZnSO₄, 500 ml distile su)

7) **Kadmiyum Granülleri:** 20-40 mg'lık kadmiyum granülleri, 810 µl H₂SO₄ alınıp 150 ml distile suya tamamlanarak hazırlanan 0.1 mol/L'lik H₂SO₄ çözeltisi içinde muhafaza edildi.

Nitrik Oksit Deneyinin Yapılışı

Deproteinizasyon: Numuneler deproteinizasyon işlemine tabii tutuldu. Bu işlem için her bir numuneden 200 µl alınıp üzerine 800 µl ZnSO₄ çözeltisi ve 1000 µl NaOH çözeltisi eklendi. Karışım vortekslenip iyice karışması sağlandı. 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi, 3500 rpm'de 40 dakika santrifüj edildi. Proteinler çöktürülerek, süpernatant kısmı ayrıldı. Bu süpernatantlar deneyin bir sonraki aşamasında numune olarak kullanıldı.

Kadmiyum Granüllerinin Deneye Hazırlanması: Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu için 12 saat süreyle 0.1 mol/L'lik H₂SO₄ içinde muhafaza edilen kadmiyum granülleri rejenere edildi. Asitten çıkarıp deiyonize su ile 3 kere yıkanarak asidi uzaklaştırıldı. Üzerine 2 ml CuSO₄ çözeltisi konulup 2 dakika bekletildi. Glisin-NaOH tamponu ile 3 kere durulandı. Kurutma kağıdı kullanılarak kurutuldu. Nitrik oksit deneyinde kullanmaya hazır duruma getirildi.

Hazırlanmış kadmiyumlu tüplere 1 ml glisin tamponu, 1 ml numune, 2 ml distile su eklendi ve 90 dakika inkübasyona bırakıldı. 90 dakika sonrasında tüplere tablo 13'deki şekilde pipetleme yapıldı.

Tablo 13. Nitrat çalışma şeması

	Kör Tüpü	Numune Tüpü
Kadmiyumlu tüplerden alınan (ml) numune	-	2
H ₂ O (ml)	2.5	2.5
Sülfanilamid (ml)	1	1
NNDA çözelt. (ml)	1	1

Tüpler vortekslendi, 45 dakika oda sıcaklığında bekletildi, 545 nm'de kör tüpüne karşı optik dansiteleri okundu, sonuçlar $\mu\text{mol/mL}$ cinsinden verildi.

2.8. Diğer Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Diğer biyokimyasal analizler olan serumda glukoz, trigliserit, total kolesterol, HDL-K, LDL-K ve ürik asit düzeyleri Olympus AU 2700 (Olympus Optical Co. Ltd, Tokyo-Japan) otoanalizöründe Olympus marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. VLDL-K düzeyleri ise yine aynı otoanalizörde hesaplama ile elde edildi.

Açlık kan şekeri ve insülin değerleri, HOMA testi yardımıyla insülin direncinin saptanması amacıyla kullanıldı. İnsülin rezistansının tespitinde kullanılan HOMA-IR için açlık serum insülin düzeyleri 24,15 sabiti ile açlık serum glukoz düzeyleri 0,055 sabiti ile çarpıldı.

$$\text{HOMA-IR} = [\text{Açlık glukozu (mmol/L)} \times \text{Açlık insülini (mU/ml)}] / 22,5$$

2.9. İstatistiksel Analizler

Gruplar arasında parametrelerin karşılaştırılmasında One-way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ve Tukey testi kullanıldı. Parametreler arasındaki korelasyonun saptanmasında Pearson's korelasyon analizinden yararlanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ($\pm\text{SD}$) olarak ifade edildi ve $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Gruplara ait vücut ağırlığı değerleri

Çalışma sonunda ölçülen vücut ağırlığı ortalamaları MS grubunda (362.11±20.03 gr) kontrol grubuna (312.71±6.15 gr) göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0.0001$). Tedavi gruplarından ALA (345.22±13.31 gr) ve CoQ10 gruplarının (342.11±12.46 gr) vücut ağırlığı ortalamaları kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0.0001$). MS grubu ALA ve CoQ10 gruplarıyla karşılaştırıldığında vücut ağırlığı ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edildi (sırasıyla $p<0.05$ ve $p<0.01$).

Gruplara ait vücut ağırlığı ortalamaları Tablo 14’de gösterilmektedir.

Tablo 14. Gruplara ait vücut ağırlığı ortalamaları (gr)

	Grup1 (Kontrol) n:7	Grup 2 (MS) n:9	Grup 3 (ALA) n:9	Grup 4 (CoQ10) n:9
İlk ağırlık	212.57±11.04	218.66±9.65	219.44±15.28	220.55±13.21
Son ağırlık	312.71±6.15	362.11±20.03 ^{a,b,c}	345.22±13.31 ^a	342.11±12.46 ^a

^a $p<0.0001$, kontrol ile karşılaştırıldığında ^b $p<0.05$, ALA ile karşılaştırıldığında

^c $p<0.01$, CoQ10 ile karşılaştırıldığında

3.2. Serum Glukoz, İnsülin düzeyleri ve HOMA-IR değerleri

Glukoz düzeyleri, MS grubunda (147.88±8.97 mg/dl) ve tedavi gruplarından ALA (115.44±6.98 mg/dl) ve CoQ10 uygulanan gruplarda (109.66±4.58 mg/dl) kontrol grubuna (98.57±6.42 mg/dl) göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edildi (sırasıyla $p<0.0001$, $p<0.0001$ ve $p<0.005$). ALA ve CoQ10 uygulanan grupların glukoz düzeyleri MS grubu ile karşılaştırıldığında ise anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.0001$). Ancak tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında serum glukoz düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı.

Serum insülin düzeyleri, MS grubunda (0.93±0.14 ng/ml) kontrol grubuna (0.41±0.14 ng/ml) göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p<0.0001$). Tedavi gruplarından ALA (0.68±0.11 ng/ml) ve CoQ10 grubu (0.67±0.12 ng/ml) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında insülin düzeylerinin daha yüksek ($p<0.0001$), ancak MS grubu ile karşılaştırıldığında insülin düzeylerinde anlamlı şekilde düşüklük tespit edildi ($p<0.0001$). Tedavi gruplarından ALA ve

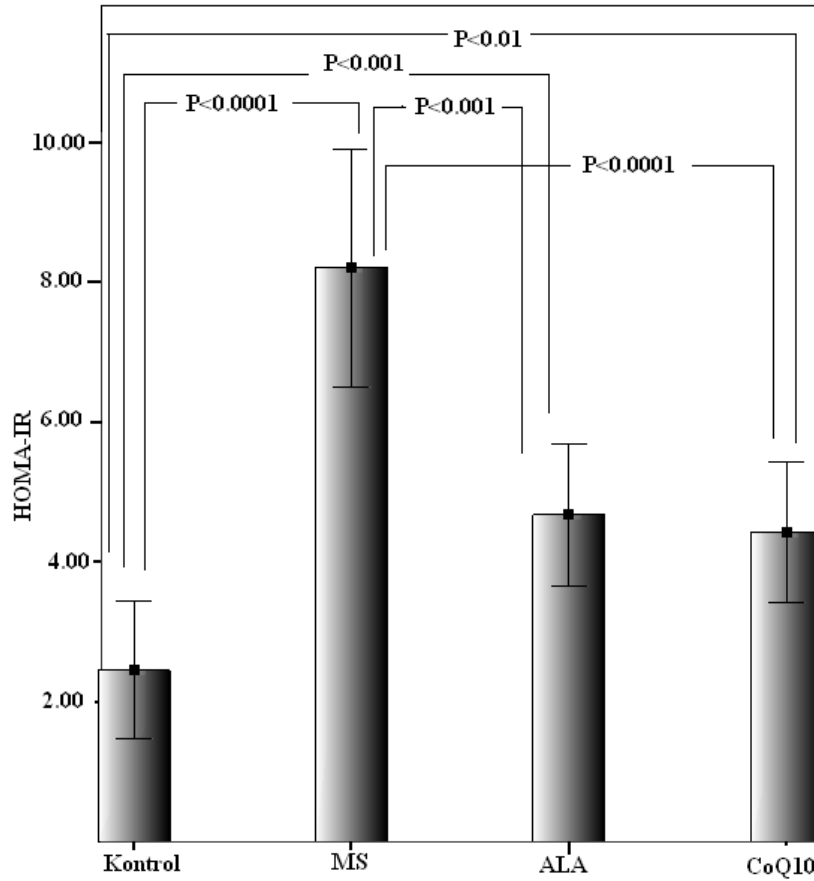
CoQ10 grubu arasında serum insülin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi.

HOMA-IR değerleri, MS grubunda (8.19±1.69) kontrol grubuna (2.44±0.98) göre anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p<0.0001$). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tedavi gruplarından ALA (4.67±1.01) ve CoQ10 grubu (4.41±1.00) HOMA-IR değerleri daha yüksek bulundu (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.01$). ALA ve CoQ10 grubu MS grubu (8.19±1.69) ile karşılaştırıldığında ise HOMA-IR değerleri anlamlı olarak düşük tespit edildi (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.0001$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında HOMA-IR değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı (Şekil 12).

Gruplara ait serum glukoz, insülin düzeyleri ve HOMA-IR değerleri Tablo 15’de gösterilmektedir.

Tablo 15. Gruplara ait serum glukoz, insülin düzeyleri ve HOMA-IR değerleri

	Grup1 (Kontrol) n:7	Grup 2 (MS) n:9	Grup 3 (ALA) n:9	Grup 4 (CoQ10) n:9
Glukoz (mg/dl)	98.57±6.42	147.88±8.97 ^a	115.44±6.98 ^{a,b}	109.66±4.58 ^{c,b}
İnsülin (ng/ml)	0.41±.14	0.93±0.14 ^a	0.68±0.11 ^{a,b}	0.67±0.12 ^{a,b}
HOMA-IR	2.44±0.98	8.19±1.69 ^a	4.67±1.01 ^{d,e}	4.41±1.00 ^{f,b}
	^a $p<0.0001$, kontrol ile karşılaştırıldığında		^b $p<0.0001$, MS ile karşılaştırıldığında	
	^c $p<0.005$, kontrol ile karşılaştırıldığında		^d $p<0.001$, kontrol ile karşılaştırıldığında	
	^e $p<0.001$, MS ile karşılaştırıldığında		^f $p<0.01$, kontrol ile karşılaştırıldığında	



Şekil 12. Gruplara ait HOMA-IR değerleri

3.3. Serum Lipid Düzeyleri

LDL-K düzeylerinin MS grubunda (59.88 ± 3.68 mg/dl), ALA (38.55 ± 6.10 mg/dl) ve CoQ10 uygulanan gruplarda (34.22 ± 4.43 mg/dl) kontrol grubuna (28.28 ± 3.19 mg/dl) göre anlamlı şekilde yüksek olduğu bulundu (sırasıyla, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$ ve $p < 0.05$). ALA ve CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında ise LDL-K düzeylerinde anlamlı olarak düşüklük tespit edildi ($p < 0.0001$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında serum LDL-K düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi.

VLDL-K düzeyleri, MS grubunda (33.97 ± 1.68 mg/dl) kontrol grubuna (20.48 ± 1.37 mg/dl) göre anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p < 0.0001$). ALA (25.26 ± 1.54 mg/dl) ve CoQ10 uygulanan gruplarda (24.82 ± 1.36 mg/dl) VLDL-K düzeyleri de yine kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p < 0.0001$). ALA ve CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında ise VLDL-K düzeyleri anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p < 0.0001$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında serum VLDL-K düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

Trigliserid düzeyleri, MS oluşturulan grupta (169.88±8.44 mg/dl) ve tedavi olarak ALA (126.33±7.71 mg/dl) ve CoQ10 (124.11±6.80 mg/dl) uygulanan gruplarda kontrol grubuna (102.42±6.87 mg/dl) göre anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p<0.0001$). ALA ve CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında trigliserid düzeyleri anlamlı olarak düşük tespit edildi ($p<0.0001$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında serum trigliserid düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

Total kolesterol düzeyleri, MS grubunda (118.22±3.89 mg/dl), ALA (97.22±8.52 mg/dl) ve CoQ10 uygulanan gruplarda (96.00±6.63 mg/dl) kontrol grubuna (82.57±4.15 mg/dl) göre daha yüksek tespit edildi ($p<0.0001$). ALA ve CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında ise T-Kolesterol düzeylerinde anlamlı olarak azalma tespit edildi ($p<0.0001$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında serum T-kolesterol düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

HDL-K düzeyleri, MS grubunda (25.11±4.13 mg/dl) kontrol grubuna (34.14±2.79 mg/dl) göre anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p<0.0001$). Tedavi gruplarından ALA (35.77±5.09 mg/dl) ve CoQ10 grubu (37.11±4.07 mg/dl) ile kontrol grubu arasında HDL-K düzeyleri açısından anlamlı bir bulunamadı. ALA ve CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında HDL-K düzeyleri anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p<0.0001$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında serum HDL-K düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

Gruplara ait serum lipid düzeyleri Tablo 16'da gösterilmektedir.

Tablo 16. Gruplara ait serum lipid düzeyleri

	Grup 1 (Kontrol) n:7	Grup 2 (MS) n:9	Grup 3 (ALA) n:9	Grup 4 (CoQ10) n:9
LDL-K (mg/dl)	28.28±3.19	59.88±3.68 ^a	38.55±6.10 ^{a,b}	34.22±4.43 ^{c,b}
VLDL-K (mg/dl)	20.48±1.37	33.97±1.68 ^a	25.26±1.54 ^{a,b}	24.82±1.36 ^{a,b}
Trigliserid (mg/dl)	102.42±6.87	169.88±8.44 ^a	126.33±7.71 ^{a,b}	124.11±6.80 ^{a,b}
T-kolesterol (mg/dl)	82.57±4.15	118.22±3.89 ^a	97.22±8.52 ^{a,b}	96.00±6.63 ^{a,b}
HDL-K (mg/dl)	34.14±2.79	25.11±4.13 ^a	35.77±5.09 ^b	37.11±4.07 ^b

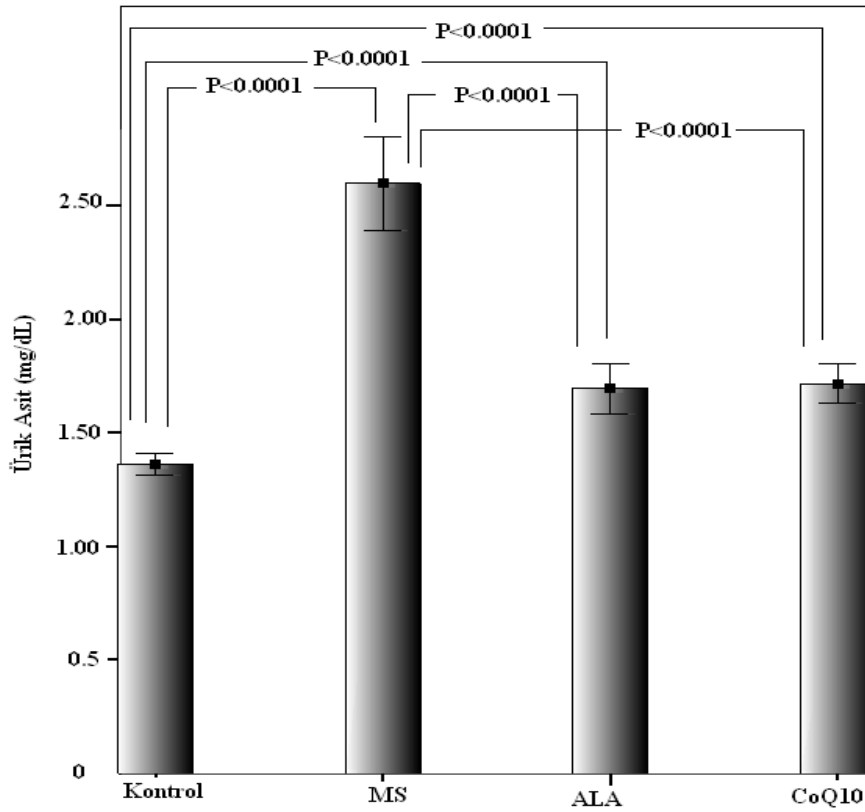
^a $p<0.0001$, kontrol ile karşılaştırıldığında

^b $p<0.0001$, MS ile karşılaştırıldığında

^c $p<0.05$, kontrol ile karşılaştırıldığında

3.4. Serum Ürik Asit Düzeyleri

Ürik asit düzeyleri, MS grubunda (2.59 ± 0.20 mg/dl) ve tedavi gruplarından ALA (1.69 ± 0.11 mg/dl) ve CoQ10 grubunda (1.71 ± 0.08 mg/dl) kontrol grubuna (1.36 ± 0.04 mg/dl) göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p<0.0001$). ALA ve CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında ise ürik asit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azalma bulundu ($p<0.0001$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında serum ürik asit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (Şekil 13).

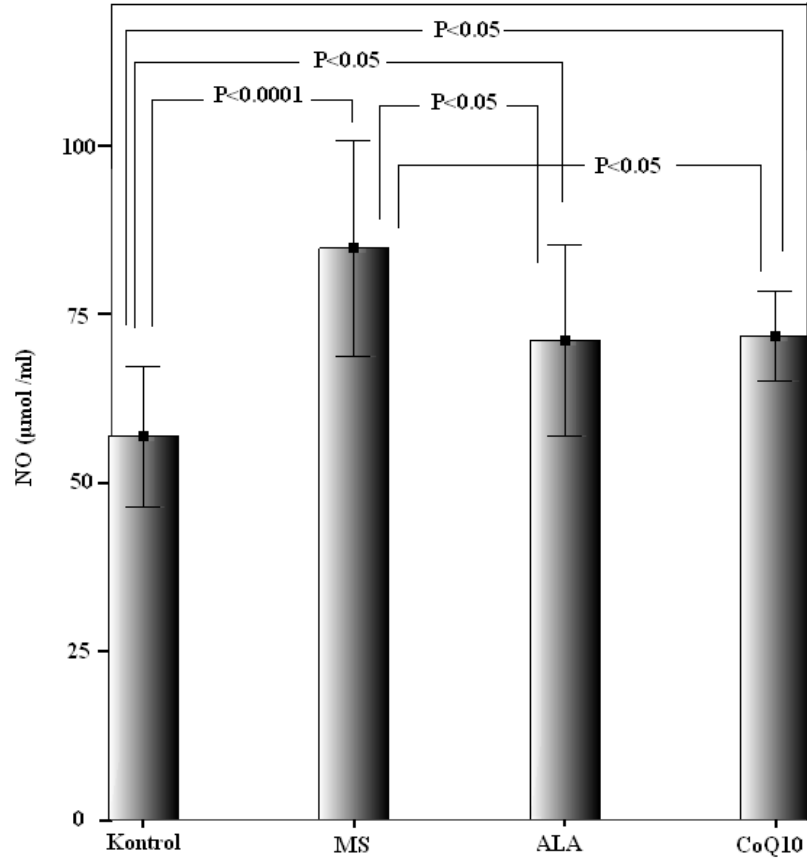


Şekil 13. Gruplara ait ürik asit düzeyleri

3.5. Plazma NO düzeyleri

NO düzeyleri, kontrol grubuna (56.82 ± 10.39 $\mu\text{mol/ml}$) göre MS grubunda (84.67 ± 15.93 $\mu\text{mol/ml}$), ALA (71.01 ± 14.12 $\mu\text{mol/ml}$) ve CoQ10 grubunda (71.71 ± 6.64 $\mu\text{mol/ml}$) daha yüksek bulundu (sırasıyla, $p<0.0001$, $p<0.05$ ve $p<0.05$). ALA ve CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında ise NO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi ($p<0.05$). Tedavi gruplarından ALA

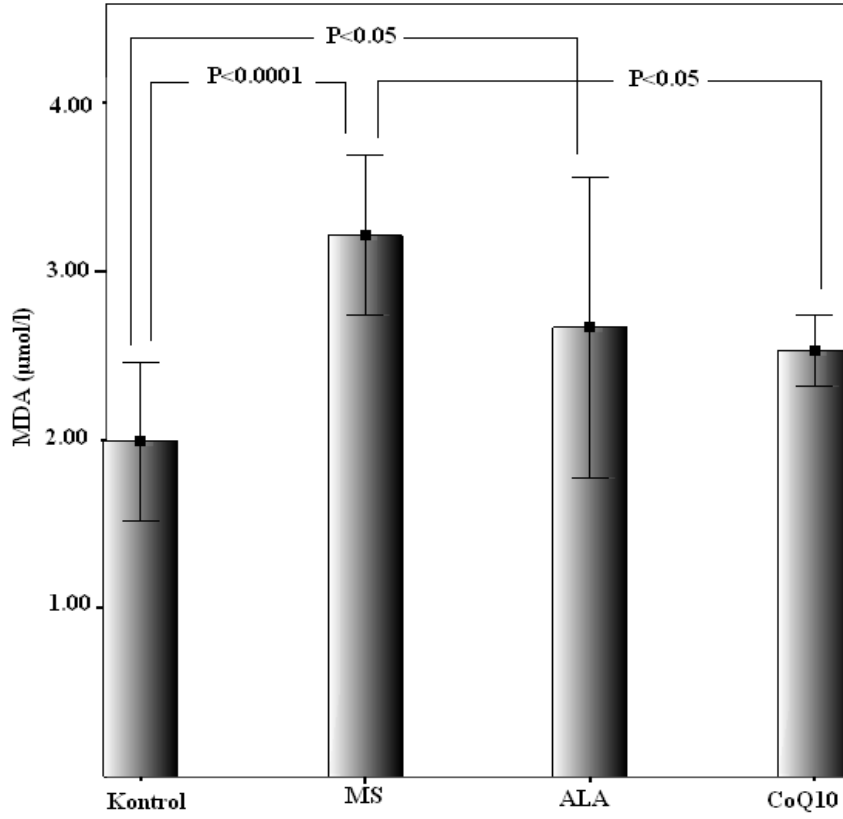
ve CoQ10 grubu arasında plazma NO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (Şekil 14).



Şekil 14. Gruplara ait plazma NO düzeyleri

3.6. Plazma MDA düzeyleri

MDA düzeyleri, MS grubunda (3.21 ± 0.47 µmol/l) kontrol grubuna (1.98 ± 0.47 µmol/l) göre anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p < 0.0001$). Kontrol grubuyla tedavi gruplarından ALA (2.66 ± 0.88 µmol/l) karşılaştırıldığında MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmesine rağmen ($p < 0.05$), CoQ10 grubuyla (2.52 ± 0.21 µmol/l) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0.05$). ALA grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında MDA düzeyleri düşük tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında MDA düzeyleri anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p < 0.05$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında plazma MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (Şekil 15).



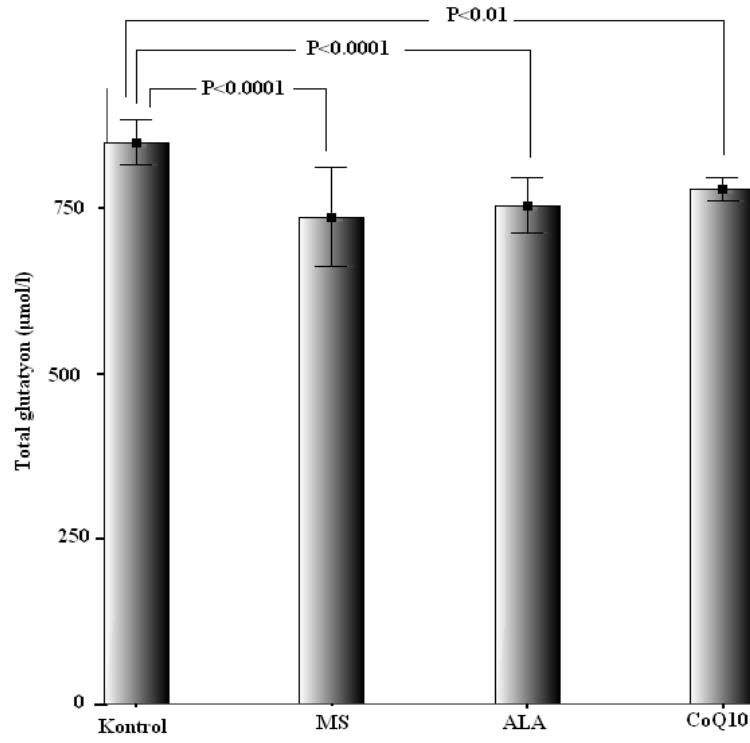
Şekil 15. Gruplara ait plazma MDA düzeyleri

3.7. Total ve Redükte Glutasyon Düzeyleri

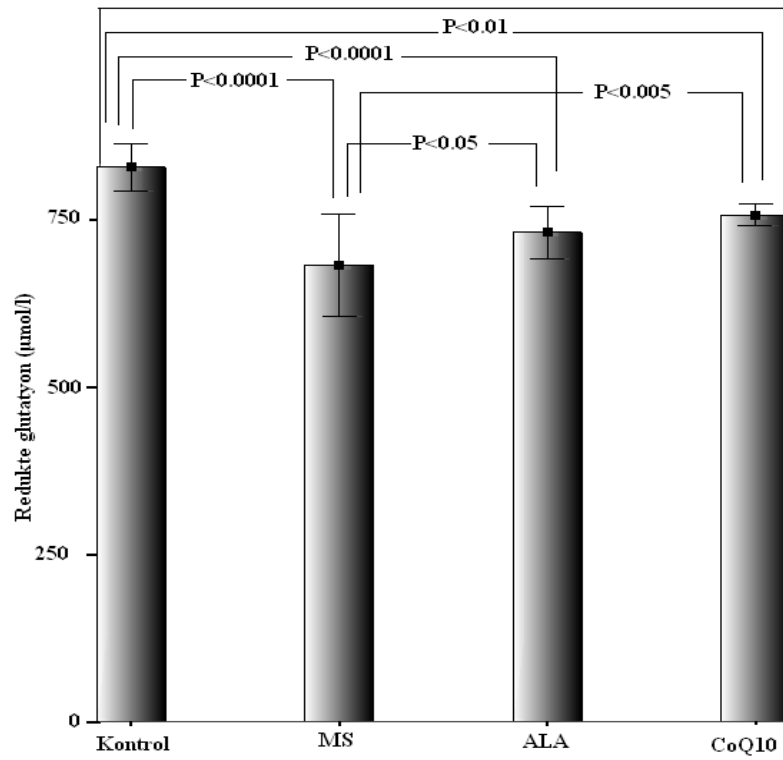
Total glutasyon düzeyleri, MS grubunda (736.11 ± 74.70 µmol/l), ALA (753.66 ± 42.06 µmol/l) ve CoQ10 (778.66 ± 17.08 µmol/l) uygulanan gruplarda kontrol grubuna (848.57 ± 34.23 µmol/l) göre daha düşük bulundu (sırasıyla, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$ ve $p < 0.01$). ALA ve CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında ise total glutasyon düzeyleri yüksek, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında total glutasyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (Şekil 16).

Redükte glutasyon düzeyleri, MS grubunda (682.44 ± 76.61 µmol/l) kontrol grubuna (829.42 ± 35.00 µmol/l) göre anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p < 0.0001$). Tedavi gruplarından ALA (732.11 ± 38.72 µmol/l) ve CoQ10 grubu (757.88 ± 16.03 µmol/l) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında redükte glutasyon düzeyleri yine daha düşük bulundu (sırasıyla, $p < 0.0001$ ve $p < 0.01$). Ancak ALA ve CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında redükte glutasyon düzeyleri anlamlı olarak artmış tespit edildi (sırasıyla, $p < 0.05$ ve $p < 0.005$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu

arasında plazma redükte glutatyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (Şekil 17).



Şekil 16. Gruplara ait total glutatyon düzeyleri



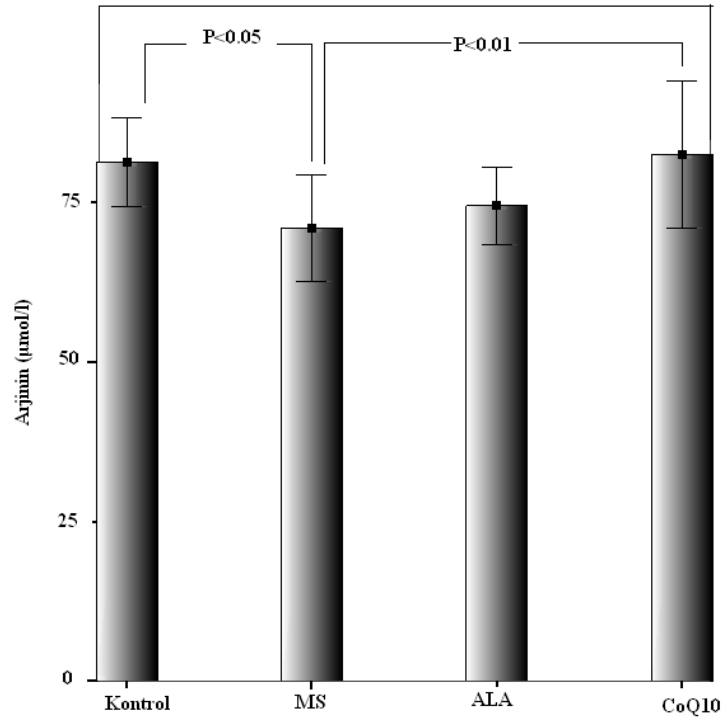
Şekil 17. Gruplara ait redükte glutatyon düzeyleri

3.8. Plazma Arjinin, ADMA ve SDMA Düzeyleri

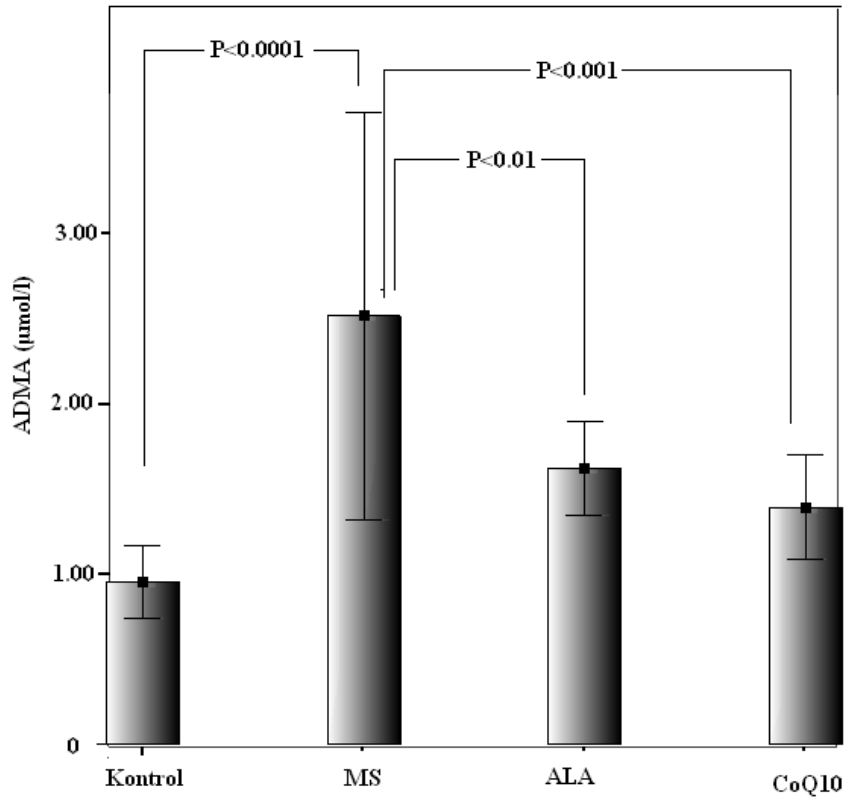
Arjinin düzeyleri, MS grubunda ($71.08 \pm 8.35 \mu\text{mol/l}$) kontrol grubuna ($81.39 \pm 6.92 \mu\text{mol/l}$) göre anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p < 0.05$). Tedavi gruplarından ALA ($74.54 \pm 6.08 \mu\text{mol/l}$) ve CoQ10 grubu ($82.54 \pm 11.56 \mu\text{mol/l}$) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında arjinin düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. ALA uygulanan grup MS grubu ile karşılaştırıldığında arjinin düzeylerinde anlamlı fark tespit edilmezken, CoQ10 uygulanan grup MS grubu ile karşılaştırıldığında arjinin düzeyleri anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p < 0.01$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında plazma arjinin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (Şekil 18).

ADMA düzeyleri, MS grubunda ($2.51 \pm 1.19 \mu\text{mol/l}$) kontrol grubuna ($0.95 \pm 0.21 \mu\text{mol/l}$) göre anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p < 0.0001$). ALA ($1.61 \pm 0.27 \mu\text{mol/l}$) ve CoQ10 grubu ($1.39 \pm 0.30 \mu\text{mol/l}$) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ADMA düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. ALA ve CoQ10 grubu MS grubu ($2.51 \pm 1.19 \mu\text{mol/l}$) ile karşılaştırıldığında ADMA düzeyleri anlamlı düşük tespit edildi (sırasıyla, $p < 0.01$) ve $p < 0.001$). Tedavi gruplarından ALA ve CoQ10 grubu arasında plazma ADMA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (Şekil 19)

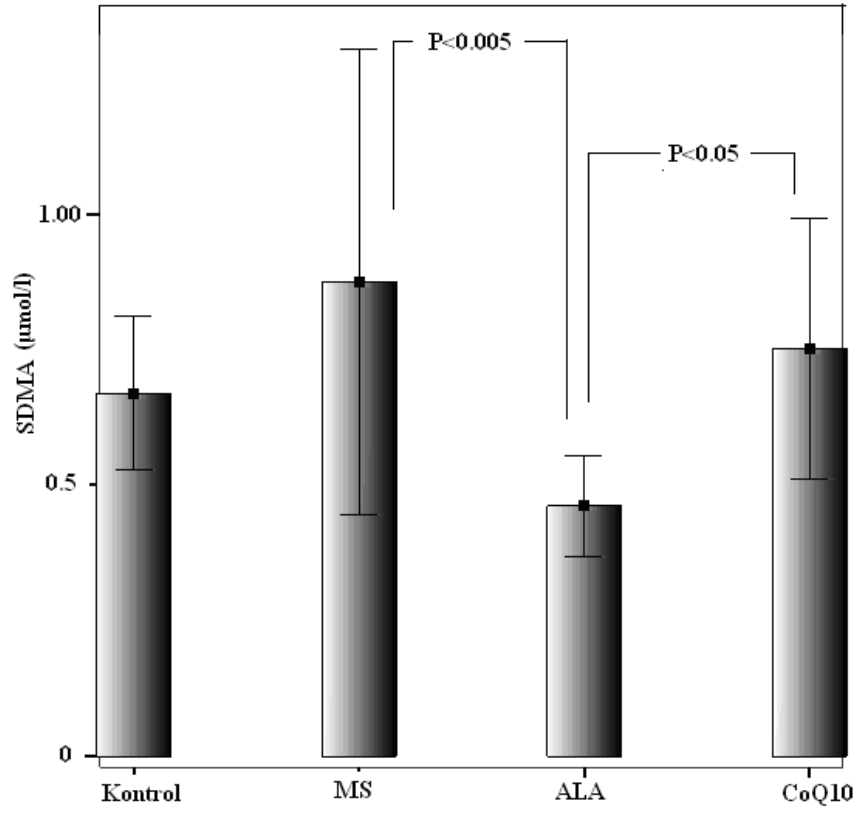
MS grubu ($0.87 \pm 0.42 \mu\text{mol/l}$), kontrol grubuyla ($0.66 \pm 0.14 \mu\text{mol/l}$) karşılaştırıldığında SDMA düzeylerinde anlamlı fark tespit edilmedi. Yine tedavi gruplarından ALA ($0.46 \pm 0.09 \mu\text{mol/l}$) ve CoQ10 grubu ($0.75 \pm 0.24 \mu\text{mol/l}$) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında SDMA düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. ALA grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında SDMA düzeyleri anlamlı düşük tespit edildi ($p < 0.005$). CoQ10 grubu MS grubu ile karşılaştırıldığında SDMA düzeylerinde anlamlı fark tespit edilmedi. ALA grubu CoQ10 grubu ile karşılaştırıldığında SDMA düzeyleri anlamlı düşük tespit edildi ($p < 0.05$) (Şekil 20).



Şekil 18. Gruplara ait plazma arjinin düzeyleri



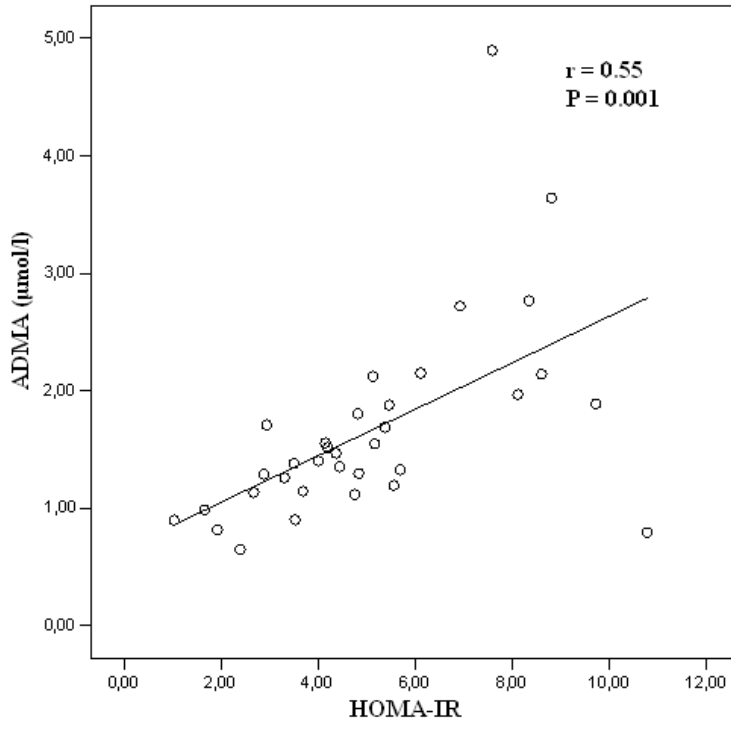
Şekil 19. Gruplara ait plazma ADMA düzeyleri



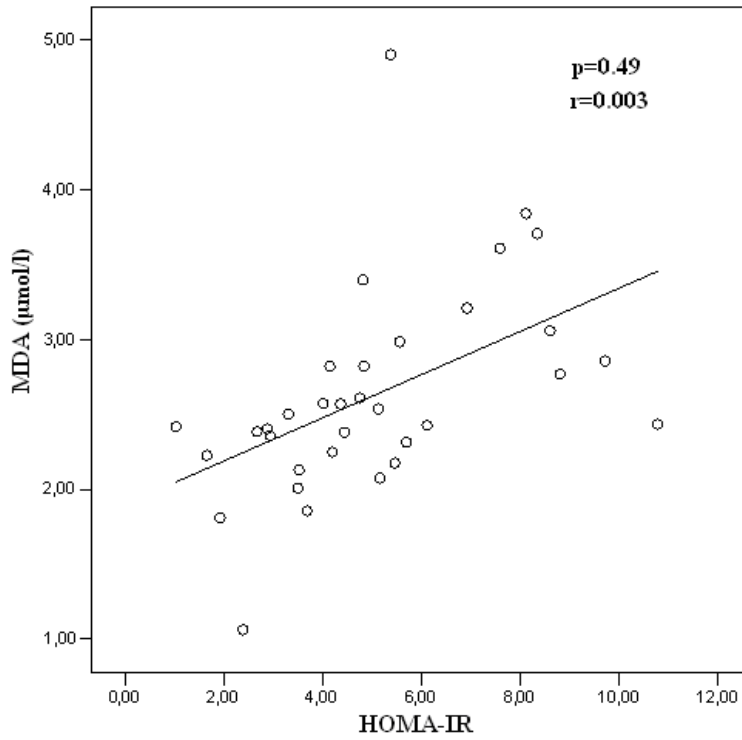
Şekil 20. Gruplara ait plazma SDMA düzeyleri

3.9. HOMA-IR Değerleri ile ADMA, MDA, NO, Total Glutasyon, Redükte Glutasyon Düzeyleri Arasındaki Korelasyon Analizi

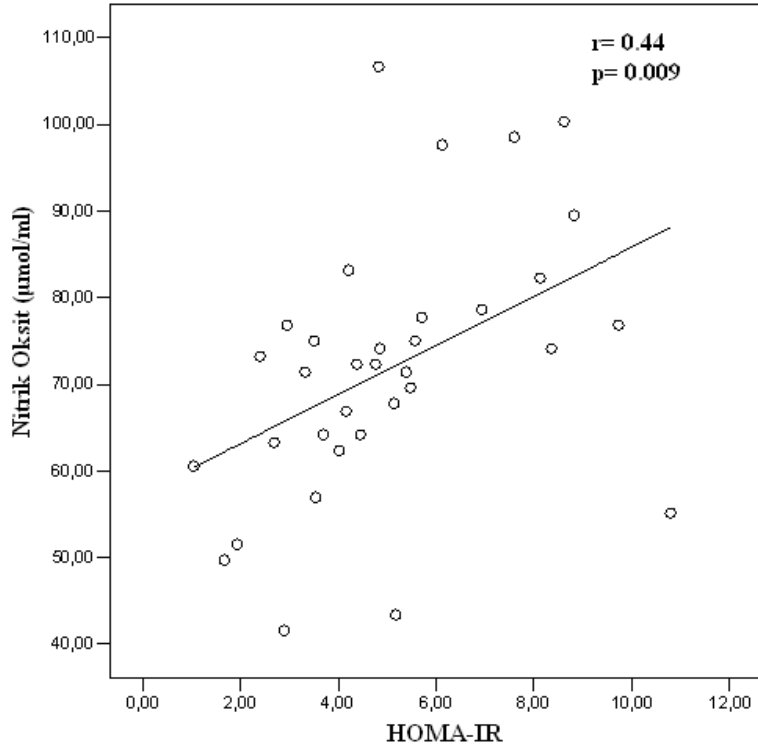
Tüm gruplar total olarak ele alındığında, HOMA-IR ile ADMA, MDA ve NO arasında pozitif bir korelasyon bulunurken HOMA-IR ile total ve redükte glutasyon düzeyleri arasında negatif bir korelasyon tespit edildi ve bu korelasyonlar istatistiksel olarak da anlamlıydı (Şekil 21-25).



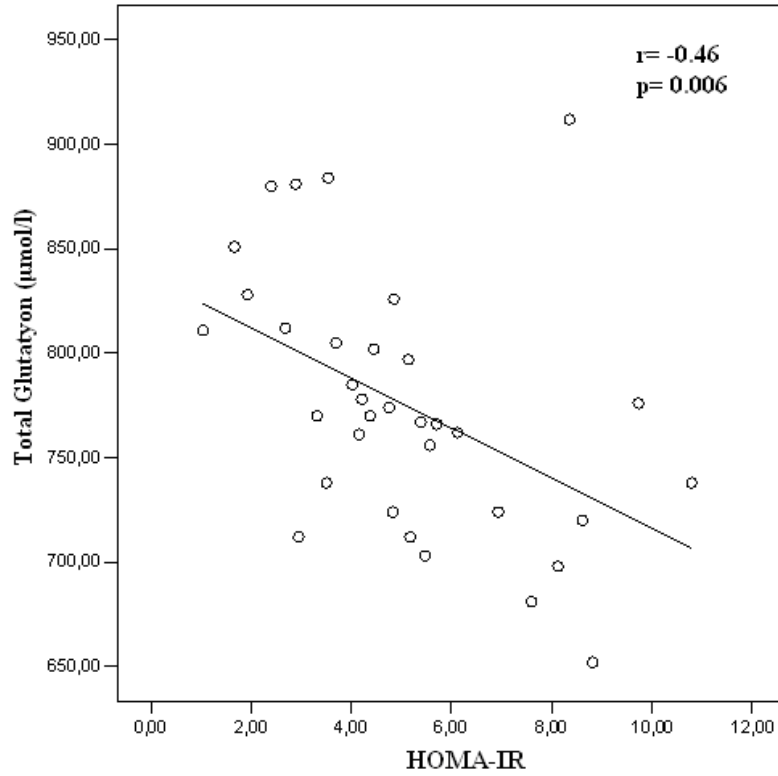
Şekil 21. ADMA VE HOMA-IR değerleri arasındaki ilişki



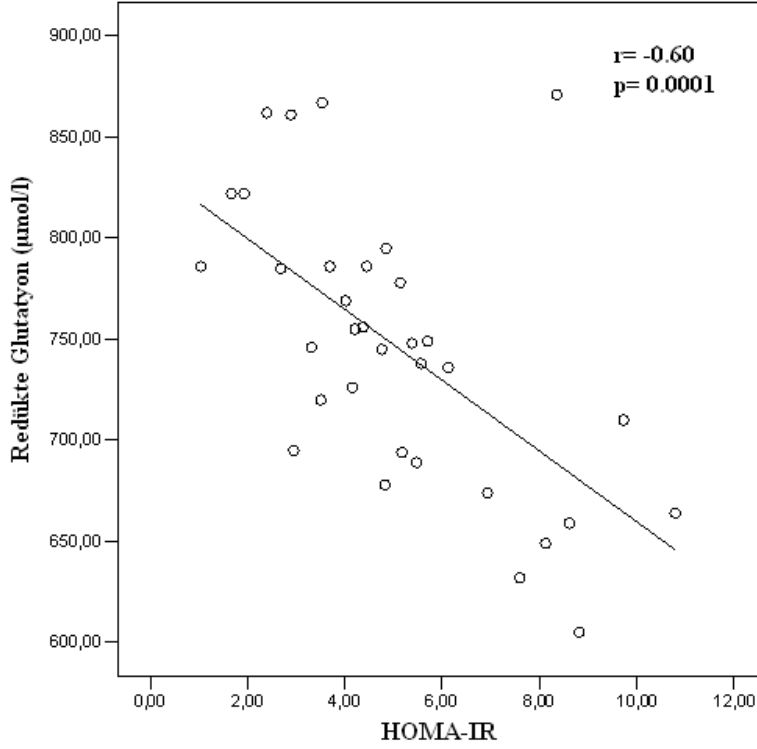
Şekil 22. MDA ve HOMA-IR değerleri arasındaki ilişki



Şekil 23. NO ve HOMA-IR değerleri arasındaki ilişki



Şekil 24. Total Glutasyon ve HOMA-IR değerleri arasındaki ilişki

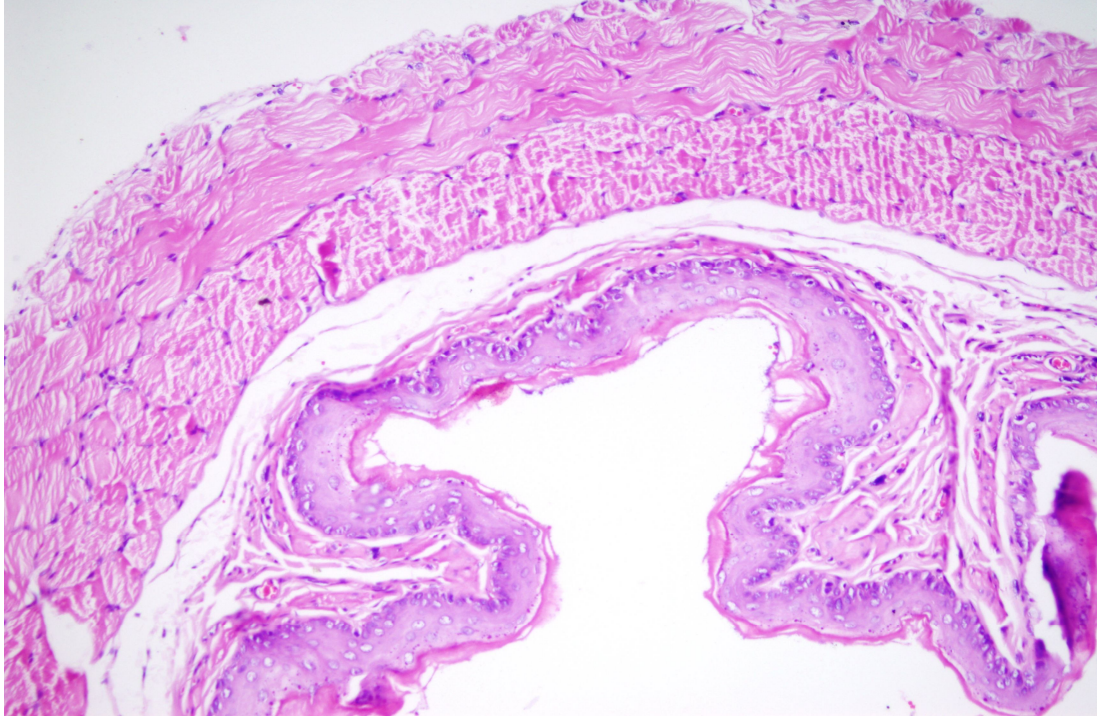


Şekil 25. Redükte glutasyon ve HOMA-IR değerleri arasındaki ilişki

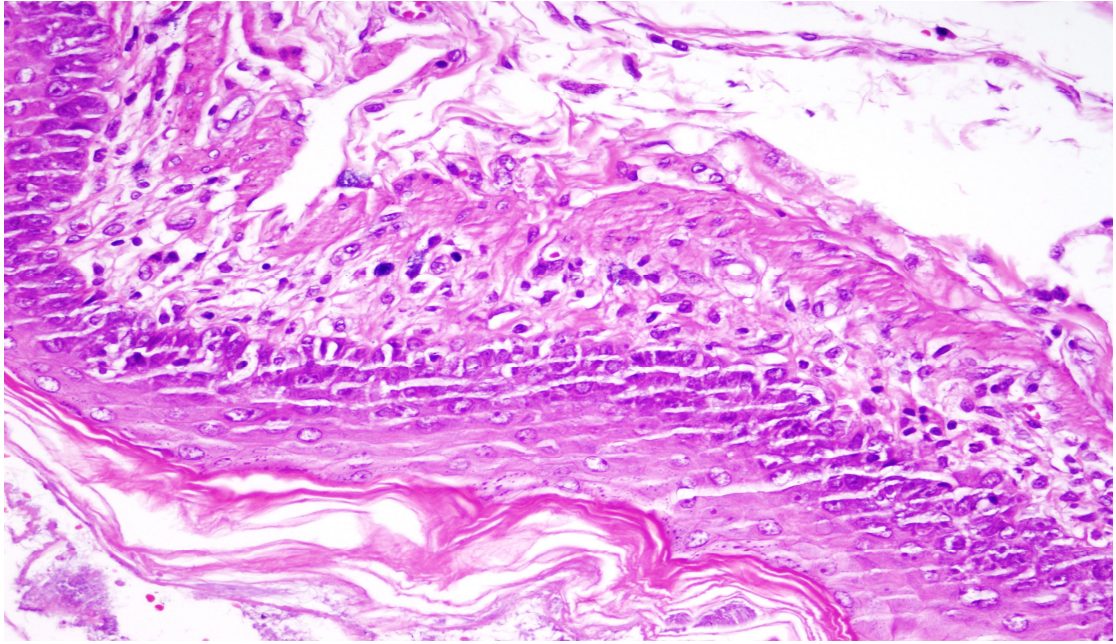
3.10. Tüm Gruplarda Aort, Karaciğer ve Böbrek Yapısının Histopatolojik Değerlendirilmesi

Kontrol grubu ve diğer gruplardan karaciğer, böbrek ve damar duvarına ait örnekler elde edilerek %10 formolde tespit edildi. Daha sonra rutin patolojik işlemlerden geçirilerek elde edilen 4 µ kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eozin boyası ile boyanarak ışık mikroskopide incelendi.

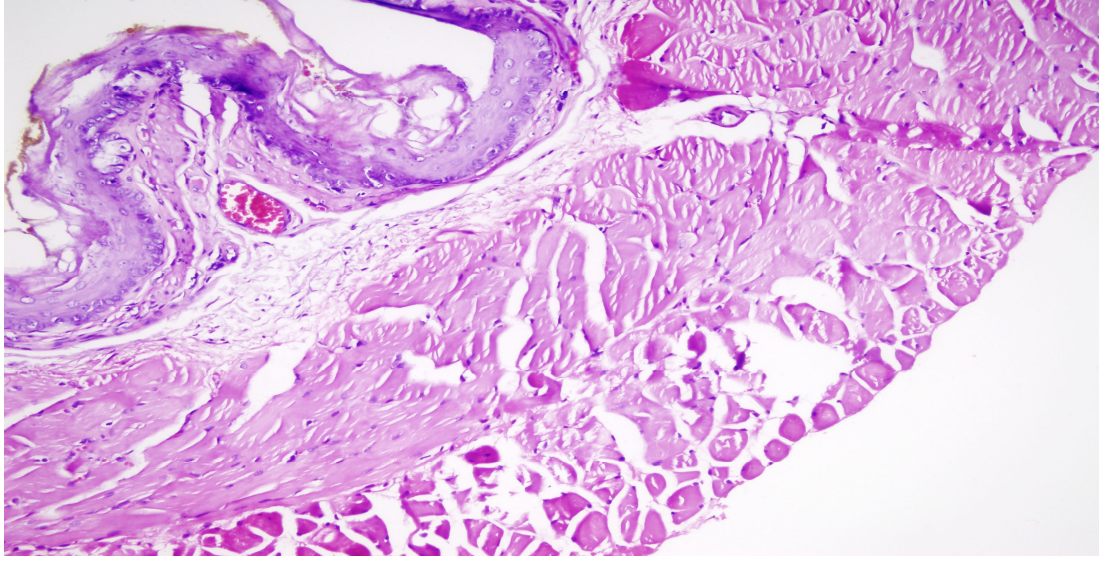
Kontrol grubu (Şekil 26) ile karşılaştırıldığında metabolik sendrom oluşturulan ratların aort damarlarının histopatolojik olarak incelenmesinde; yer yer perivasküler lenfositik infiltrasyon, düz kaslarda hipertrofi ve ödem görüldü (Şekil 27-29).



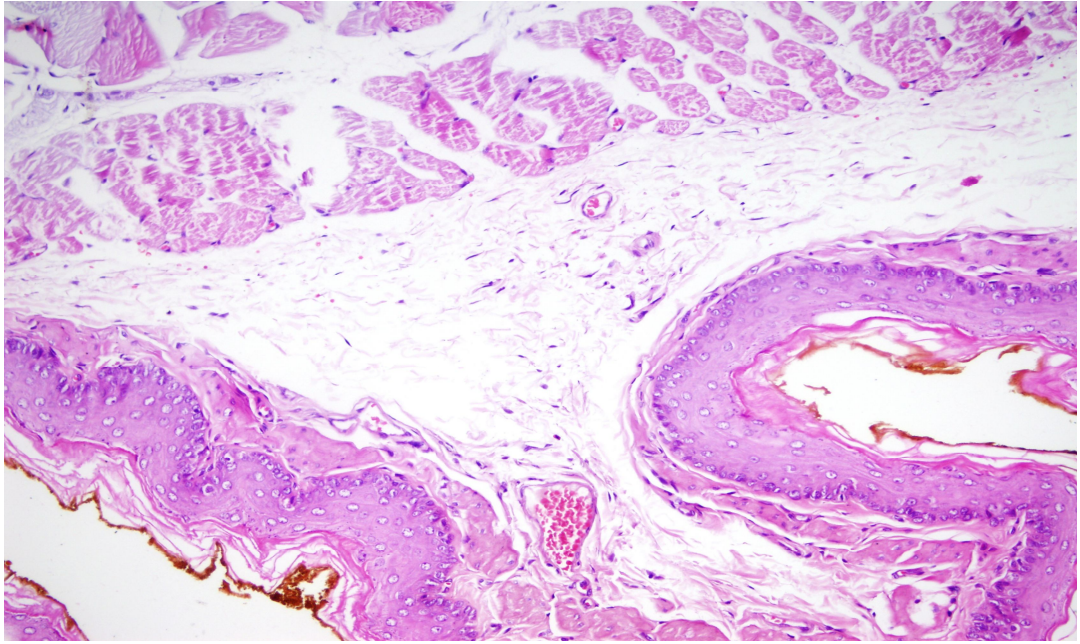
Şekil 26. Kontrol grubundan alınan aort damar yapısının ışık mikroskopisinde histopatolojik olarak görünümü (x200).



Şekil 27. Metabolik sendrom grubunda aort damar yapısındaki inflamasyonun histopatolojik görünümü (x400).

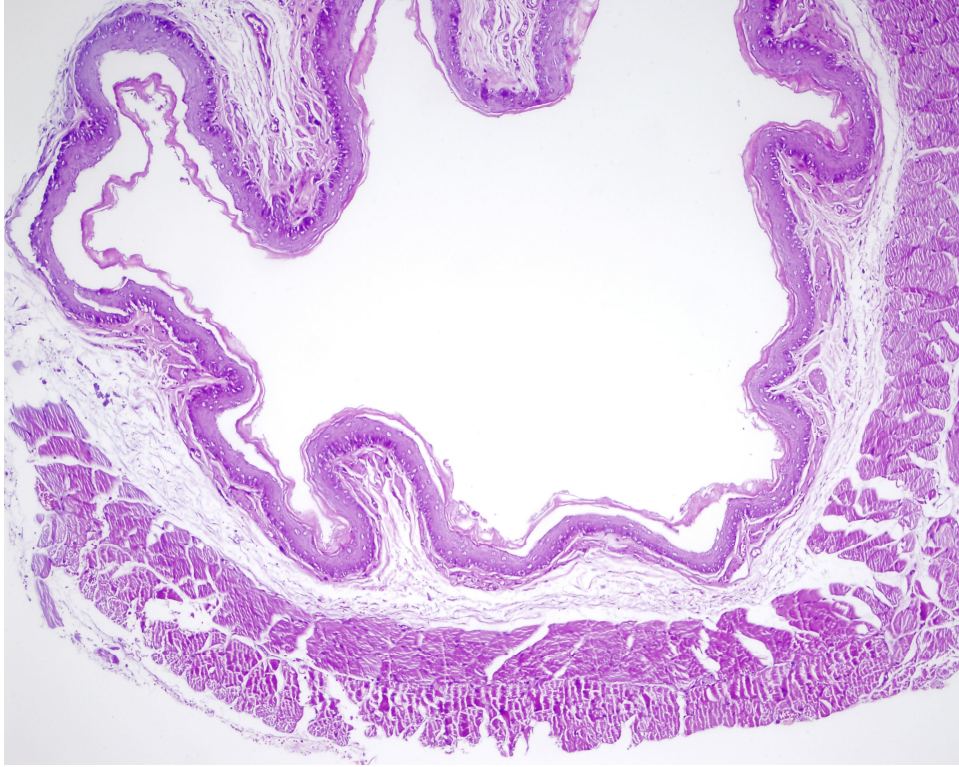


Şekil 28. Metabolik sendrom grubunda aort damar yapısındaki düz kas hipertrofisinin histopatolojik görünümü (x200).

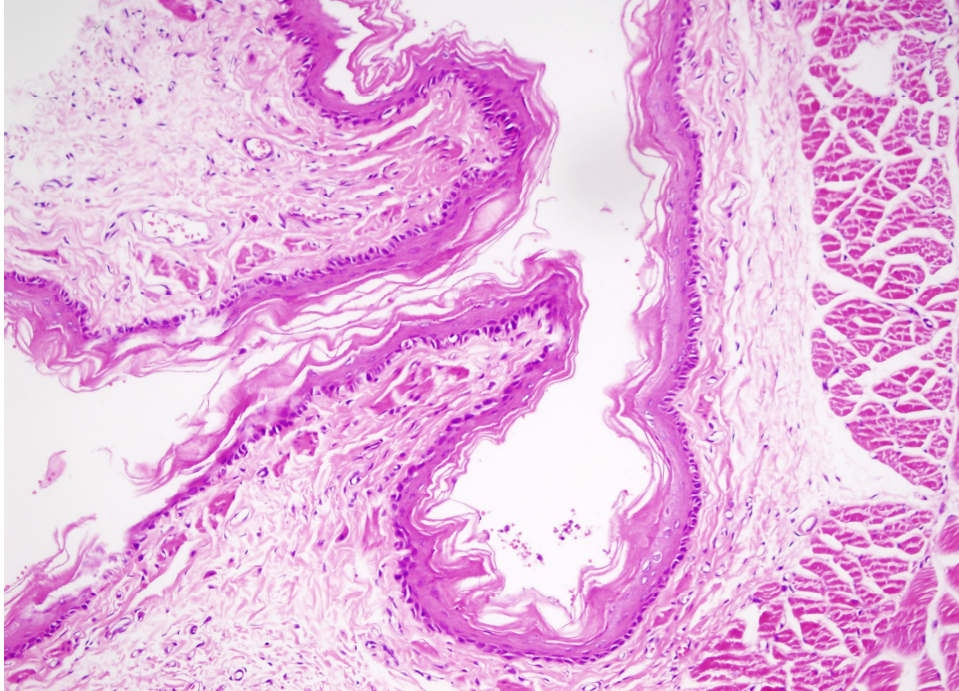


Şekil 29. Metabolik sendrom grubunda aort damar yapısındaki ödemin histopatolojik görünümü (x200).

ALA uygulanan grupta perivasküler lenfositik infiltrasyonun belirgin olarak azaldığı hatta yer yer tümüyle ortadan kalktığı dikkati çekti. Yine ödem daha hafif derecedeydi (Şekil 30, 31).

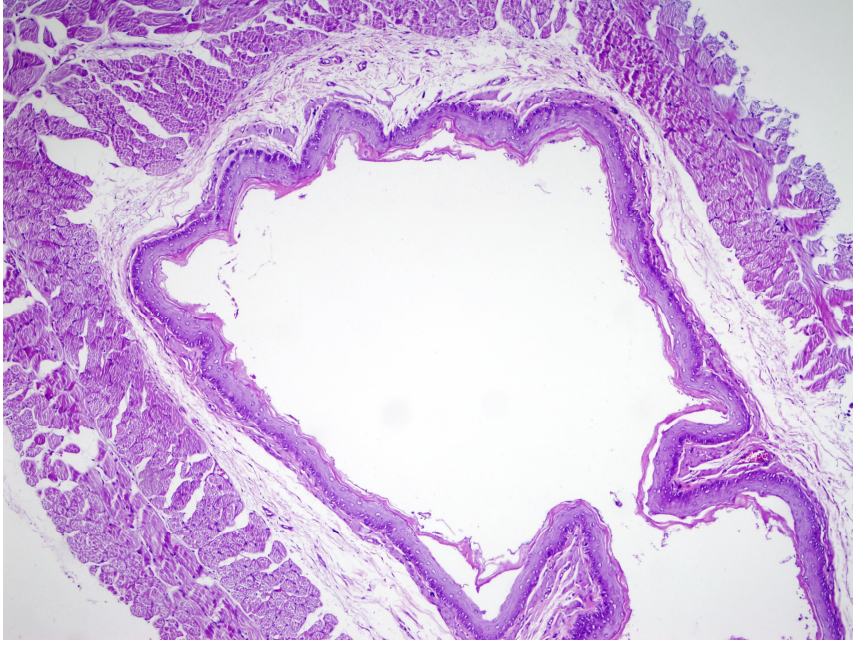


Şekil 30. ALA grubunda MS grubuna göre damar duvarında lenfositik infiltrasyon ve ödemde azalmanın histopatolojik görünümü (x100)

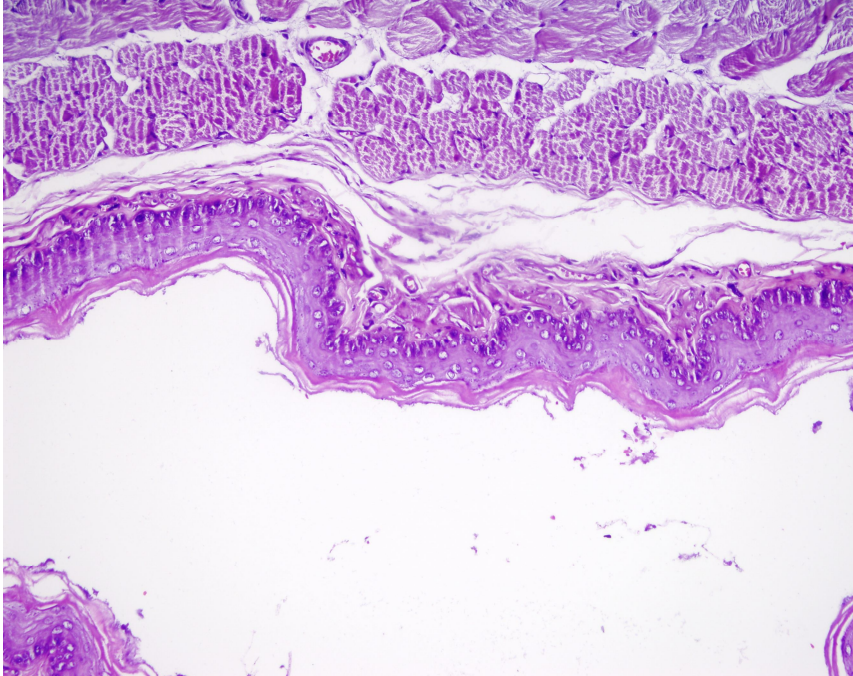


Şekil 31. ALA grubunda MS grubuna göre damar duvarında lenfositik infiltrasyon ve ödemde azalmanın histopatolojik görünümü (x200)

CoQ10 grubunda ise damar duvarlarının görünümü hemen hemen kontrol grubu ile aynı olarak izlendi. Perivasküler çok hafif lenfositik infiltrasyon görüldü (Şekil 32, 33).

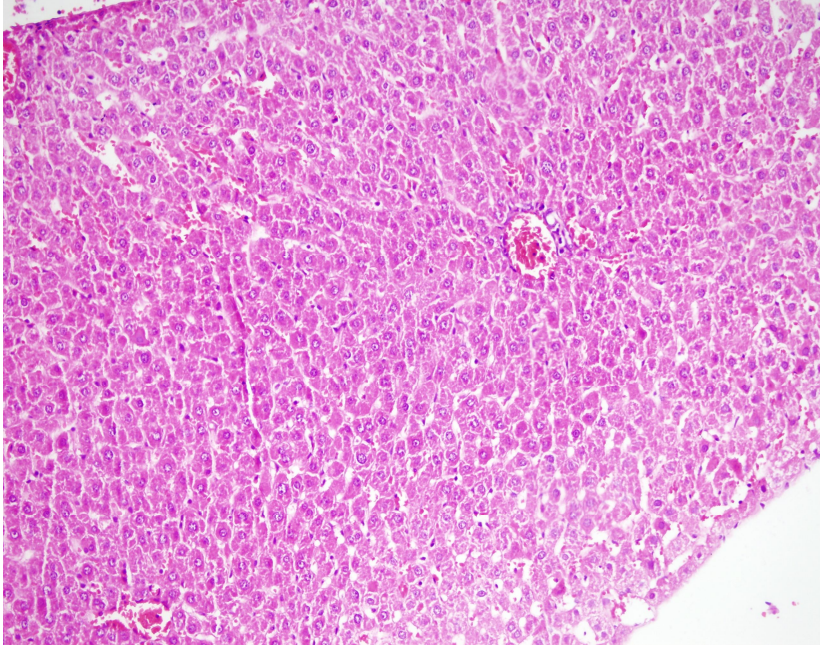


Şekil 32. CoQ10 grubunda MS grubuna göre damar duvarında lenfositik infiltrasyon ve ödemde azalmanın histopatolojik görünümü (x100)

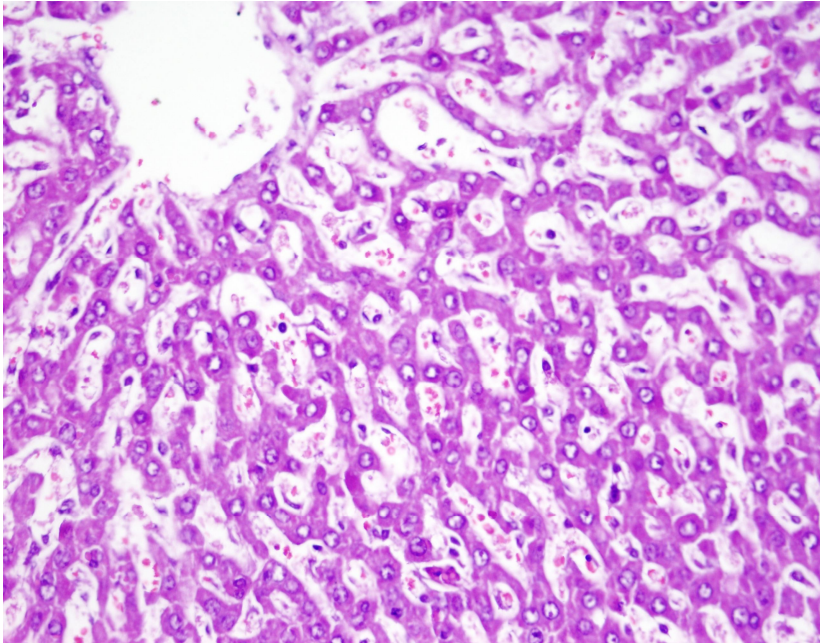


Şekil 33. CoQ10 grubunda MS grubuna göre damar duvarında lenfositik infiltrasyon ve ödemde azalmanın histopatolojik görünümü (x200)

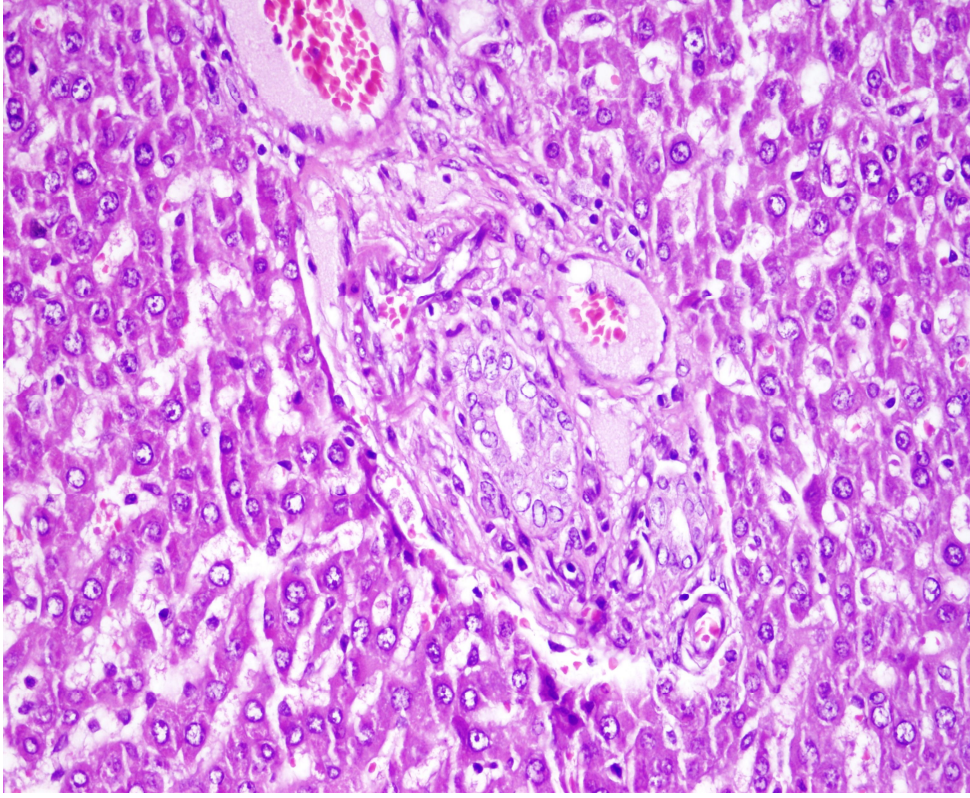
Karaciğerden alınan örnekler de karşılaştırmalı olarak ışık mikroskopisinde incelendi. Kontrol grubu (Şekil 34) ile kıyaslandığında metabolik sendromlu ratların karaciğer sinüzoidlerinde genişleme, portal alanda seyrek lenfositik infiltrasyon görüldü. Damarlarda dilatasyon ve konjesyon belirgin bir özellikti (Şekil 35-37).



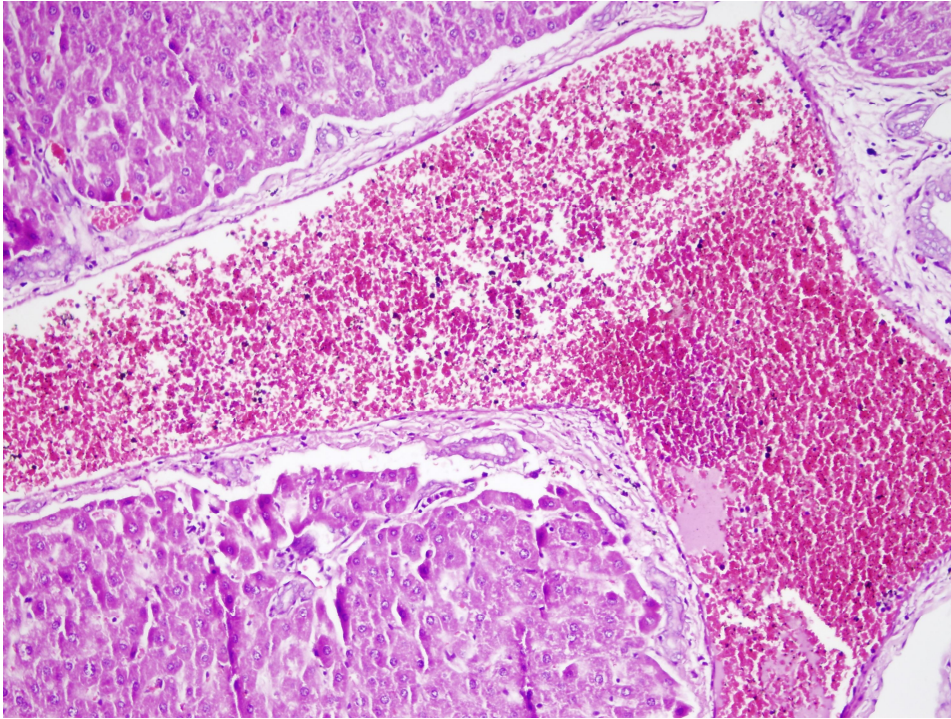
Şekil 34. Kontrol grubundan alınan karaciğer örneklerinin ışık mikroskopisinde histopatolojik olarak görünümü (x200).



Şekil 35. MS grubunda karaciğer sinüzoidlerinde genişlemenin histopatolojik görünümü (x400)

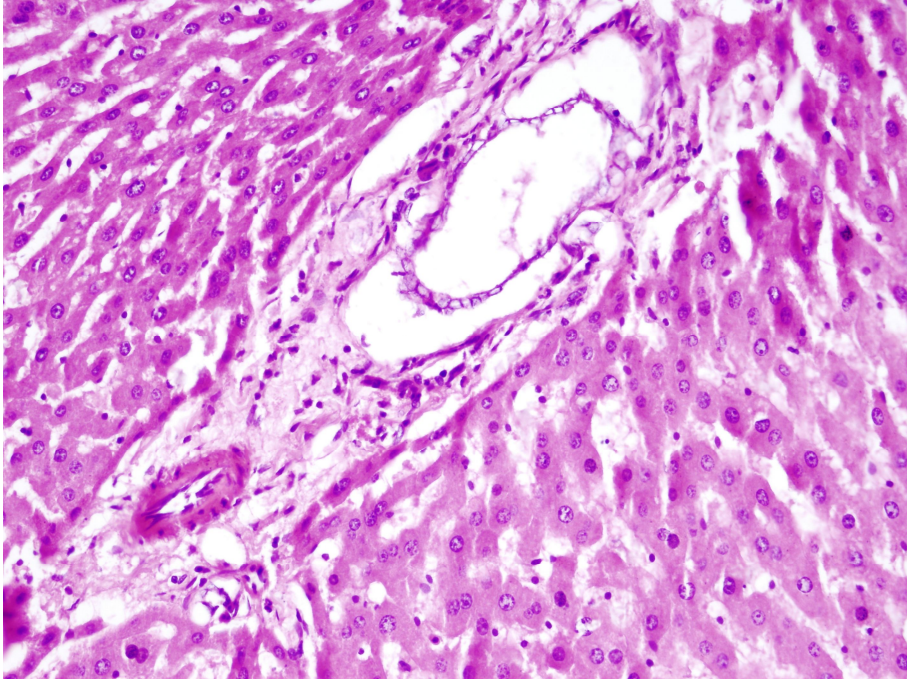


Şekil 36. MS grubunda karaciğerde portal alanda lenfositik infiltrasyonun histopatolojik görünümü (x400)

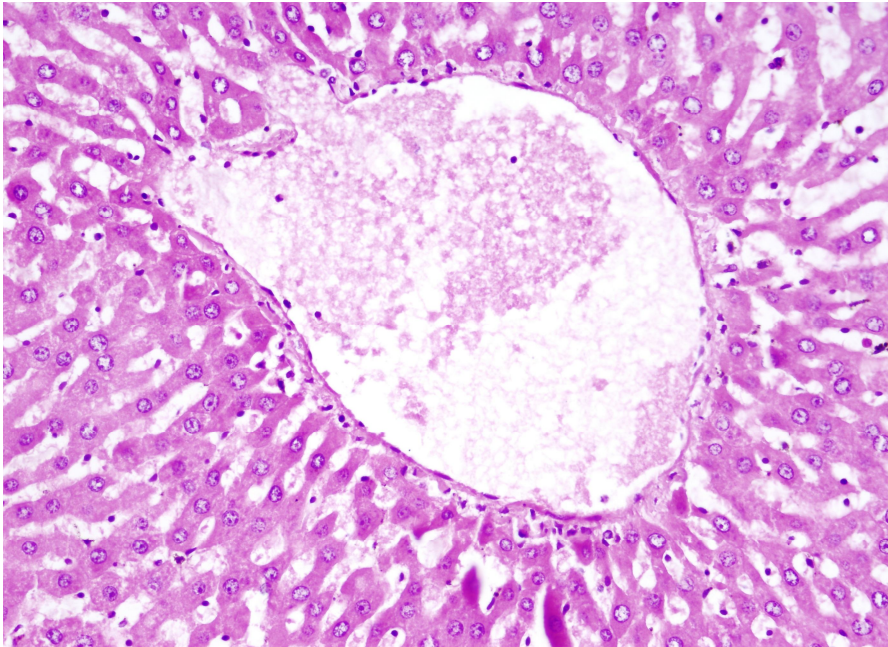


Şekil 37. MS grubunda karaciğer damarlarında belirgin konjesyon ve dilatasyonun histopatolojik görünümü (x200)

ALA grubunda kontrol grubuna benzer morfolojik özellikler dikkati çekti. Ancak damarlarda konjesyon belirgindi, damarlarda dilatasyon, sinüzoidlerde genişleme ise metabolik sendrom grubuna göre daha hafifti (Şekil 38, 39).

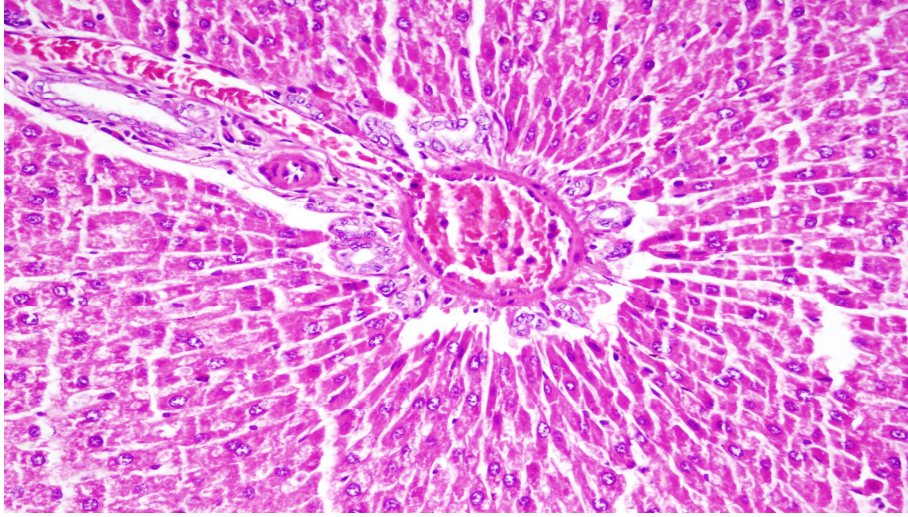


Şekil 38. ALA grubunda karaciğerde portal alanda lenfositik infiltrasyonun histopatolojik görünümü (x400)



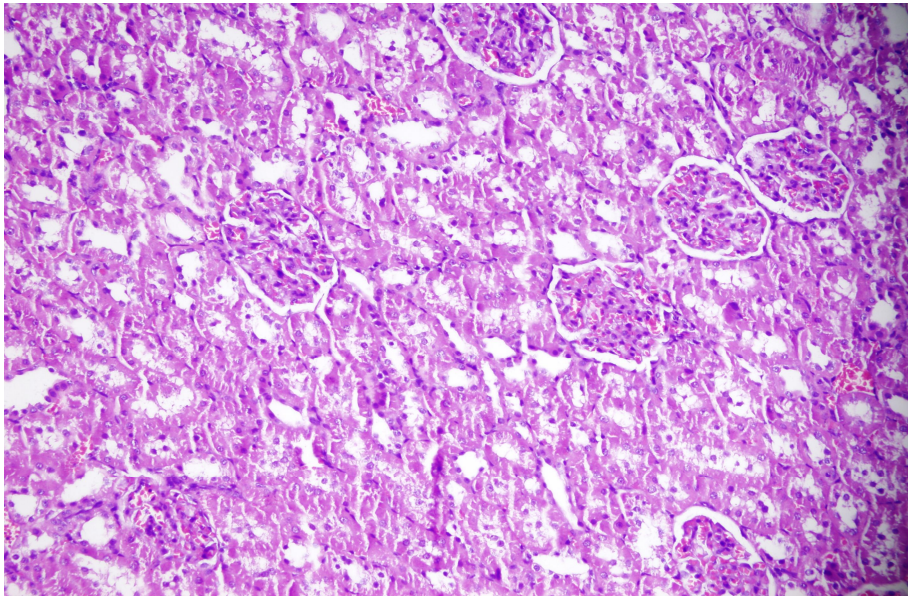
Şekil 39. ALA grubunda MS grubuna göre karaciğerde damarda dilatasyonda ve konjesyonda azalmanın histopatolojik görünümü (x400)

CoQ10 grubu ratların karaciğerlerinde portal alanda lenfositik infiltrasyonda belirgin azalma, metabolik sendromlu rat karaciğerlerine göre konjesyon ve sinüzoid genişlemesinde bir miktar gerileme saptandı (Şekil 40).



Şekil 40. CoQ10 grubu ratların karaciğerlerinde portal alanda lenfositik infiltrasyonda belirgin azalma ve metabolik sendromlu rat karaciğerlerine göre konjesyon ve sinüzoid genişlemesinde gerilemenin histopatolojik görünümü (x400)

Aynı gruplara ait ratların böbreklerinin incelenmesinde ise; metabolik sendrom grubunda glomerüllerde konjesyon dışında belirgin bir ışık mikroskopik bulguya rastlanmadı. ALA ve CoQ10 grubuna ait böbrek kesitleri interstisyel alanda hafif bir iltihabi infiltrasyon dışında kontrol grubundan farklı değildi.



Şekil 41. Kontrol grubundan alınan böbrek örneklerinin ışık mikroskopisinde histopatolojik olarak görünümü (x200)

4. TARTIŞMA

Metabolik sendrom, hiperglisemi, dislipidemi, hipertansiyon ve abdominal obezitenin bir arada bulunduğu multidisipliner metabolik bozukluktur. Tüm dünyada ve ülkemizde, beslenme alışkanlıklarının değişmesi, abdominal obezitenin ve sedanter hayatın artması sonucu MS gün geçtikçe daha ciddi bir sorun haline gelmektedir. İnsülin direnci bu sendromun çoğu komponentinin temelindeki mekanizmadır ve vücutta aşırı yağ birikimi ile birlikte. Sağlıklı zayıflama diyeti, egzersiz, ağırlık kaybı, dislipidemiye yönelik tedavi, hiperglisemi ve hipertansiyon tedavisi uygulanan başlıca tedavi yaklaşımlarıdır. Oksidatif stres metabolik sendromun komplikasyonlarının oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Bu yüzden yaşam tarzı değişiklikleri ile birlikte antioksidan kullanımı bu sendrom ile ilişkili oksidatif stresi azaltarak oluşabilecek komplikasyonları önlemede faydalı olabilir (110).

% 10'luk fruktozlu diyet vererek metabolik sendrom oluşturduğumuz ratlarda metabolik sendrom tanı kriterlerine paralel sonuçlar elde ettik. Metabolik sendrom grubunda kontrol grubuna göre total kolesterol, LDL-K, VLDL-K, TG düzeyleri anlamlı olarak yüksek; HDL-K düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunurken ($p<0,0001$), glukoz düzeyleri ve HOMA-IR değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi ($p<0,0001$).

Metabolik sendromlu insanlarda ve hayvan modellerinde oksidatif stres, nitrozatif stres, inflamasyonda artış ve endotel fonksiyonunda bozulma gösterilmiştir. Fujita ve ark.'nın (111) yaptığı çalışmada visseral yağ birikimi ve metabolik sendrom ile sistemik oksidatif stres arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sistemik oksidatif stres belirteci olan 8-epi-prostaglandin F2 α 'nın (8-epi-PGF2 α) idrar konsantrasyonu, metabolik sendromlu bireylerde önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Roberts ve ark.'nın (112) yaptığı çalışmada diyetle ilgili metabolik sendrom oluşturulan ratlarda plazma MDA seviyelerinin arttığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda MS grubunda kontrol grubuna kıyasla oksidatif stres göstergesi olan MDA düzeylerinin arttığını, total ve redükte glutasyon düzeylerinin belirgin olarak azaldığını tespit ettik ($p<0.0001$). GSH düzeylerinde azalma yüksek glukoz düzeylerine bağlı olarak poliol yolunda glukozun sorbitole indirgendiği reaksiyonda görev yapan NADPH bağımlı aldoz redüktazın aşırı NADPH tüketmesi

nedeniyle NADPH bağımlı glutatyon redüktazın aktivitesinin azalmasından kaynaklanmış olabilir.

Hiperinsülinemi ve serbest radikal üretimi arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Urakawa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, obezlerde açlık insülin konsantrasyonu ve 8-epi-PGF2 α arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0.487, p<0.01$). Shamir ve ark.'nın yaptığı çalışmada Apolipoprotein E-eksik farelerde insülin etkisiyle oksidatif stresin azaldığı rapor edilmiştir (113). Sharma ve ark.'nın (114) yaptığı çalışmada metabolik sendromlu hastalarda serum MDA düzeyleriyle HOMA-IR arasında güçlü pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($r=0.946, p<0.001$).

Bizim çalışmamızda metabolik sendrom grubunda insülin düzeylerinin ve HOMA-IR değerlerinin ($P<0.0001$) kontrol grubuna göre arttığı tespit edildi. Çalışmamızda tüm gruplar total olarak ele alındığında oksidatif stres belirteci olan MDA düzeyleri ile HOMA-IR değerleri arasında yapılan korelasyon analizinde pozitif korelasyon saptandı ve bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlıydı ($r=0.49, p=0.003$). Hiperglisemi ve yükselmiş serbest yağ asitleri ROT artışına ve oksidatif strese neden olur. ROT serin kinaz kaskadların aktivasyonuna neden olur. Bu kinazlar IRS ve IRS proteinlerin fosforilasyonuna yol açar. IRS-1 ve 2 için serin fosforilasyonunda artma tirozin fosforilasyonunda azalmaya neden olur. Sonuçta fosfotidilinisitol-3 gibi sinyal moleküllerin aktiviteleri azalması insülinin etkisini azaltarak insülin direnci oluşumuyla sonuçlanır.

Hiperglisemi oksidatif stresin artışına neden olabilir. Konukoğlu ve ark.'nın (115) yaptığı çalışmada aynı yaşdaki kadınlarda glukoz yüklemesi yapıldıktan önce ve iki saat sonra nitrik oksit, Cu-Zn Süperoksit dismutaz (Cu-Zn SOD) aktivitesi ve tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin düzeylerine bakılmış; plazma NO düzeyleri diyabetik hastalarda, kontrollere ve bozulmuş glukoz toleransı olanlara göre daha yüksek bulunmuştur. NO yüksekliğinin nedeni iNOS indüksiyonu nedeniyle olabileceği ileri sürülmüştür. Glukoz yüklemesi yapıldıktan sonra diyabetik ve bozulmuş glukoz toleransı olan hastalarda TBARS düzeylerinin yükseldiği ve Cu-Zn SOD aktivitelerinin belirgin olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Klinik ve deneysel çalışmalar endotel disfonksiyonunu, artmış serbest radikal üretimiyle ilişkilendirmiştir. NO'nun yarılanma ömrü oksidatif stres altında

azalmaktadır. NO süperoksit anyonlarıyla birleşmekte, peroksinitrit meydana gelmekte ve meydana gelen bu ürün lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır. ADMA, NOS aktivitesini inhibe ettiğinden NO düzeylerinde bir azalmaya yol açabilmekte, bunun sonucu olarak da endotel fonksiyon bozuklukları gelişebilmektedir. Metabolik sendromda ve tip 2 diyabette ADMA düzeylerinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (116, 117). Bununla birlikte Garcia ve ark.'nın (118) yaptığı çalışmada ADMA'nın metabolik sendromlu kişilerde artmadığı gösterilmiştir. Miyazaki ve ark. (119) ADMA ile metabolik yollar arasında muhtemel bir ilişkiyi ilk belirtenlerdir. Yaptıkları çalışmada insülin direnci ile plazma ADMA konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon bulmuşlardır. Lin ve ark. (120) ratlarda insülin rezistansının bir sonucu olarak artan glukoz seviyelerinin DDAH aktivitesini azaltarak plazma ADMA seviyelerini artırdığını tespit etmişlerdir. ADMA büyük ölçüde DDAH ile metabolize olur ve enzim aktivitesinin azalması ADMA düzeyinin artmasına neden olur. Korandji ve arkadaşlarının (117) yaptığı çalışmada 2 hafta fruktoz (% 60) ile beslenen ratlarda bizim çalışmamızla uyumlu bir şekilde plazma ADMA seviyesinin arttığını göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda MS grubunda kontrol grubuna göre ADMA seviyelerinin arttığı tespit edildi ($P<0.0001$). Arjinin düzeyleri metabolik sendrom grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük tespit edildi ($p<0.05$). SDMA düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Metabolik sendrom; bünyesinde barındırdığı bozukluklar ve temelinde yatan insülin rezistansı nedeniyle endotel disfonksiyonuna yol açar ve bunun sonucunda da artmış kardiyovasküler risk ile ilişkilidir. Dolayısıyla MS'li hastalarda plazma ADMA seviyelerinin artması beklenir.

Zahedi ve ark.'nın (121) 3505 kişiyi içeren çalışmalarında metabolik sendromlu ve diyabetli hastalarda NO metabolitlerinin düzeylerinin arttığı ve bu artışın insülinin metabolik sonuçlarını etkilediği hipotezini desteklediği yorumu yapılmıştır. Perreault ve ark.'nın (122) yaptığı çalışmada obez farelerde iNOS indüksiyonuna bağlı olarak kastaki insülin ile fosfatidilinositol 3-kinaz ve Akt aktivasyonunun bozulduğu ve insülin direnci oluştuğu tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda Asl ve arkadaşlarının (123) yaptığı çalışmaya paralel olarak NO düzeylerinin MS grubunda kontrol grubuna göre artmış olduğu tespit ettik

($P < 0.0001$). NO biyoyararlanımının azalması endotelde süperoksit üretiminin artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Süperoksit hızla endotel içinde NO'yu tutar ve artmış NO üretimine rağmen biyoaktif NO'da azalma olabilir. Endotel hücrelerde süperoksit üreten enzimatik sistemler arasında NAD(P)H oksidaz ve ayrılmış endotel NO sentaz (eNOS) bulunmaktadır. NAD(P)H oksidaz ile üretilen süperoksit, eNOS'un ayrışmasını tetikler. Bazı hastalıklarda NO üretimi değişmemesine hatta artmasına rağmen biyoyararlanımı süperoksit nedeniyle azalmaktadır (123). Diyabetdeki endotel disfonksiyonunun kısmen iNOS ile NO üretiminin artmasıyla ilişkili olduğunu gösteren kanıtlar vardır. NO temizleyicisi ve iNOS inhibitörleri kullanımının diyabetde endotel fonksiyonda iyileşmeye neden olduğu rapor edilmiştir. Yeni bir çalışmada iNOS knock-out fareler diyabetik olduğunda endotel disfonksiyona dayanıklı oldukları gösterilmiştir. Bir başka çalışmada iNOS geni normal arterlere transfer edildiğinde, NO-bağımlı gevşeme bozulmuş ve endotel disfonksiyon geliştiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar metabolik sendromda oluşan endotel disfonksiyonunda iNOS'un direk rol aldığını düşündürmektedir (124).

Ford ve ark.'nın (125) yaptığı çalışmada metabolik sendromu olan 20 yaşından büyük yetişkinlerde vitamin A, C ve E vitaminleri, retinil esterleri, karotenoidler ve selenyum düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Yaş, cinsiyet, ırk veya etnik köken, eğitim, sigara içme durumu, fiziksel aktivite, meyve ve sebze tüketimi, vitamin ya da mineral kullanımı için düzeltme yapıldıktan sonra metabolik sendromlu grupta kontrol grubuna göre retinil esterler, C vitamini ve karotenoidler düşük konsantrasyonlarda bulunmuştur. Serum lipid konsantrasyonları için ek ayarlama yapıldıktan sonra, E vitamini konsantrasyonları metabolik sendromlu grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Sharma ve ark.'nın (114) yaptığı çalışmada metabolik sendromlu hastalarda kontrol grubuna göre düşük antioksidan düzeyi (vitamin A, C, E) tespit edilmiştir.

ALA'nın oksidatif stresi azalttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Thirunavukkarasu ve ark.'nın (126) yaptığı çalışmada fruktozla beslenen ratlarda lipid peroksidler, konjuge dien, tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin artışının ALA uygulanmasıyla azaldığı tespit edilmiştir. Arivazhagan ve ark.'nın (127) yaptığı çalışmada yaşlı ratlarda ALA uygulanmasının okside glutatyon düzeylerini azalttığı

ve redükte glutatyon düzeylerini artırdığı tespit edilmiştir. Khanna ve ark.'nın (128) yaptığı çalışmada ratlara 8 hafta 150 mg/kg intragastik ALA uygulanmasının karaciğer ve kanda total glutatyon düzeylerini artırdığı gösterilmiştir. Cummings ve ark.'nın (129) yaptığı çalışmada fruktozla beslenen ratlarda ALA tedavisinin sadece fruktoz verilen gruba kıyasla tip 2 DM gelişimini engellediği ve kandaki GSH/GSSG oranını artırdığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda ALA grubunda MS grubuna göre total glutatyon düzeyleri yüksek bulundu ancak bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı değildi. Redükte glutatyon düzeylerini ise MS grubuna göre anlamlı şekilde yükselmiş olduğunu tespit ettik ($P<0.05$). Glutatyon, tiyol grubunun önemli bir üyesidir ve primer hücre içi antioksidandır, ayrıca önemli bir serbest radikal deaktivatörüdür. Sistein kullanılabilirliği glutatyon sentezinde hız kısıtlayıcı faktör olarak bilinmektedir. ALA ağızdan alındığında hızla emilir, hücreye alınır ve ortamda serbest olarak bulunan DHLA'ye redükte olur. Daha sonra DHLA sistini sisteine indirger, hücre sisteini sistinden 10 kat hızlı alır ve GSH'ın biyosentezi hızla meydana gelir. Bu yolda DHLA'nın indirekt antioksidan aktivitesi gözlenmiştir. Diğer antioksidanlarla kombinasyonunda DHLA'nın ubisemikinonu ubikinole semidehidroaskorbati askorbata ve GSSG'yi GSH'ya rejenere ettiği gösterilmiştir. ALA normal ratlarda tiyol durumu düzeltme yeteneğine sahiptir; diyabetik ve normal ratlarda GSH'nın de novo sentezini ve GSH seviyelerini artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, ALA C vitamini ve E vitaminin geri dönüşümüne katılarak yüksek seviyelerde kalmasını sağlar. ALA'nın Fenton reaksiyonu ile oluşan hidroksil radikallerini azaltmada etkili olduğu ve aynı zamanda peroksit ve süperoksit radikallerini de uzaklaştırmada etkili olduğu gösterilmiştir (75, 130-133).

ALA'nın oksidatif stres artışı nedeniyle oluşan insülin direncini azalttığı insan ve hayvan modellerinde gösterilmiştir. Midaoui ve ark.'nın (134) yaptığı çalışmada Sprague-Dawley ratların içme sularına % 10 D-glukoz katılmış ve normal bir diyet veya ALA destekli bir diyet 3 hafta boyunca verilmiştir. Oksidatif stres aortik süperoksit anyonu ölçülerek değerlendirilmiştir. İnsülin direnci ve aortik süperoksit anyon artışının glukoz ile beslenen ratlara ALA verilmesi ile engellendiği tespit edilmiştir. Ayrıca, glukozla beslenen ratlarda plazma glutatyon peroksidaz aktivitesinde azalmanın ALA tedavisi ile engellendiği belirlenmiştir. Song ve

ark.'nın (135) yaptığı çalışmada obez ratlarda oksidatif stresin insülin direnci ile ilişkili olduğu ve ALA'nın güçlü antioksidan kapasitesine sahip olduğundan koruyucu etkilerinin buna bağlı olabileceği ileri sürülmüştür. Yaptıkları çalışmada ALA'nın plazma malondialdehit ve 8-hidroksi-deoksiguanozin gibi oksidatif stres belirteçlerini azalttığı belirlenmiştir.

Bizim çalışmamızda ALA grubunda HOMA-IR değerleri MS grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.001$). ALA'nın HOMA-IR değerlerini düşürmesi insülin duyarlılığını artırdığını göstermektedir. Ayrıca, ALA grubunda MS grubuna göre MDA düzeyleri ise düşük bulundu ancak bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). ALA reaktif oksijen türlerini nötralize eder ve stres-duyarlı kinazların aktivasyonunu engelleyerek insülin direncini azaltır.

Heitzer ve ark.'nın (136) yaptığı çalışmada ALA'nın diyabetik hastalarda NO aracılı vazodilatasyonu düzelttiği gösterilmiştir. Bu etkisinin antioksidan özellikleri ile ilişkili olduğu değerlendirilmiştir çünkü ALA'nın endotel bağımlı vazodilatasyon etkisi plazma malondialdehit düzeyleriyle pozitif olarak ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte, Visioli ve ark. (75) tarafından yapılan in vitro bir çalışmada insan aort endotel hücrelerinde ALA'nın NO sentezini antioksidatif özelliklerinden bağımsız olarak arttırdığı ve ALA tedavisiyle hücrel GSH düzeyleri ve GSH: GSSG oranları önemli ölçüde değişmediği gösterilmiştir.

Bojunga ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada streptozosinle diyabet oluşturulmuş ratlarda, hipergliseminin kalp, aort, siyatik sinir ve böbrek gibi dokularda eNOS ekspresyonunu azalttığı ve iNOS ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. ALA uygulamasıyla eNOS ekspresyonunun arttığı ve iNOS ekspresyonu azaldığı tespit edilmiştir (75). Saad ve ark.'nın yaptığı çalışmada, ALA ile tedavi edilen ratlarda yüksek nitrat /nitrit düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (137). Bir başka çalışmada, ALA'nın izole rat Kupffer hücreleri ve fare makrofajlarında lipopolisakkaride-bağılı NO üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (138).

Bizim yaptığımız çalışmada ALA grubunda NO düzeyleri MS grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.05$). ALA'nın NO sentezini azaltma mekanizmaları iNOS up-regülasyonunu engelleyerek ve sülfidril grubu ile NO'yu direkt temizleyici etkisi nedeniyle olabileceği daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir (139, 140).

ALA tedavisinin metabolik sendromlu hastalarda endotel fonksiyonu düzelttiği gösterilmiştir ama mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Obezitede vasküler dokuda lipid birikimi sonucu oksidatif stresde artışın endotel disfonksiyonuna neden olduğu düşünülmektedir. ALA'nın obezitede endotelial fonksiyonunu Adenozin Monofosfat Aktive Protein Kinazı (AMPK) aktive ederek düzelttiği ileri sürülmüştür. Lee ve ark.'nın (77) yaptığı çalışmada kontrol grubuna göre obez ratlarda endotelium bağımlı vazorelaksasyonun bozulduğu ve endotelde AMPK aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Obez ratlara ALA uygulanması bozulmuş vazorelaksasyonu düzeltmiş ve endotelde AMPK aktivitesini artırmıştır. ALA iki temel mekanizma ile obezitede yararlı olabilir: Hipotalamik AMPK aktivitesini azaltarak gıda alımını ve enerji harcanmasını regüle eder ve Mitojenle Aktive Protein Kinaz (MAPK) yolunu aktive ederek adiposit farklılaşmasını bloke eder (75). Chang ve ark.'nın (141) yaptığı çalışmada diyabetik böbrek hastalarında ALA'nın ADMA düzeylerini düşürdüğü belirlenmiştir. Mittermayer ve ark.'nın (142) yaptığı çalışmada tip 2 diyabet hastalarında 3 hafta intravenöz ALA uygulanmasının ADMA düzeylerini düşürdüğü, SDMA ve Arjinin düzeylerini etkilemediği tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda MS grubuna göre ALA grubunda anlamlı olarak ADMA düzeyleri düşük bulundu ($p<0.01$). SDMA düzeyleri anlamlı düşük tespit edildi ($p<0.005$). Arjinin düzeyleri arasında anlamlı fark tespit edilmedi. Oksidatif stres, ADMA yıkımında görevli enzim olan DDAH'nın aktivitesini azaltır. DDAH enziminin aktif merkezindeki reaktif sistein rezidülerinin varlığı, bu enzimi süperoksit gibi reaktif oksijen türleri tarafından oksidasyona veya S-nitrozilasyona uygun hale getirir. Oksidasyon ve S-nitrozilasyon sonucu enzim aktivitesi azalır. Oksidatif stres etkisiyle DDAH aktivitesinin bozulması ve ardından artmış ADMA düzeyleri, ALA tarafından inhibe edilmiş olabilir. Endotel disfonksiyonun bir belirteci olan ADMA düzeylerinin düşmesi ALA'nın endotel disfonksiyonu engellemede önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Song ve ark.'nın (135) yaptığı çalışmada ALA'nın Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ratlarda tip 2 diyabet gelişimini engellediği gösterilmiştir. ALA'nın iskelet kasları ve pankreas β hücrelerinde trigliserid birikimini azalttığı ve pankreas β hücre hasarını engellediği gösterilmiştir. ALA glukoz metabolizmasını

kolaylaştırır; in vivo ve in vitro glukoz alımını artırarak glukoz kullanımını kolaylaştırır. Deneysel ve klinik çalışmalar ALA'nın insülin duyarlılığını artırdığını göstermiştir. ALA tedavisinin insülin dirençli obez farelerde ve tip 2 diyabetik insanlarda iskelet kasında insülinle uyarılmış glukoz kullanımını artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, kültür kas hücreleri, izole rat diyaframı, normal ve diyabetik tavşanların perfüze preparatları kullanılarak yapılan bazı çalışmalarda, ALA'nın glukozun transportunu aktive ettiği ve glikolizi uyardığı gösterilmiştir (75).

Endotel disfonksiyon belirteçleri arasında adezyon molekülleri E-selektin, P-selektin, VCAM-1, ICAM-1 bulunmaktadır. Zhang ve arkadaşları (143) ALA tedavisinin insan aortik endotel hücrelerinde TNF alfaya bağlı Nükleer faktör kappaB (NF-kappa-B) aktivasyonunu ve adezyon molekül ekspresyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bierhaus ve ark. (144) ALA tedavisinin ileri glikasyon son ürünlerine bağlı NF-kappa-B aktivasyonunu azalttığını tespit etmişlerdir. Kunt ve ark.'nın (145) yaptığı çalışmada ALA'nın ileri glikasyon son ürünlerine bağlı VCAM-1 ekspresyonunu ve monositin endotele bağlanmasını azalttığı gösterilmiştir.

Hipertansiyon; mekanik hasar, endotel hücrelerden artmış serbest radikal üretimi, NO biyoyararlanımında azalma veya vasküler düz kas hücrelerine proinflamatuvar etki ile endotel fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. ALA'nın spontan hipertansif ratlarda (146), yüksek miktarda tuz verilen ratlarda (147) ve fruktoza bağlı-hipertansif Wistar ratlarda (148) yüksek sistolik kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir. Benzer şekilde diyetlerine % 10 D-glukoz katılarak hipertansiyon oluşturulan Sprague-Dawley ratlarda (134) kan basıncının ALA tarafından düşürüldüğü gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalarda ALA'nın serum kolesterol ve lipoprotein düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir. Ford ve ark.'nın (149) yaptığı çalışmada ALA'nın streptozosin ile diyabet oluşturulan ratlarda serum trigliserid düzeylerini azalttığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda ALA verilen grupta trigliserid düzeyleri MS grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.0001$). ALA'nın trigliserid düzeylerini düşürmesi glukoz metabolizması üzerine etkileri ve insülin direncini azaltması sonucunda lipid metabolizmasında anahtar enzimleri düzenlemesi ve lipoprotein lipaz aktivitesini artırması nedeniyle olabilir.

CoQ10 mitokondriyal solunum zincirinde elektron transportuna aracılık eden önemli bir molekül olup aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Modi ve ark.'nın (84) yaptığı çalışmada fruktoza bağlı hiperinsülinemi ve hiperlipidemi oluşturulan ratlarda 3 hafta boyunca 10 mg/kg/gün intraperitoneal CoQ10 ile tedavinin yüksek glukoz, kolesterol, trigliserid, VLDL-K, LDL-K ve aterosjenik indekste anlamlı düşüşe ve HDL-K düzeylerinde anlamlı bir artışa neden olduğu gösterilmiştir. Lipid düzeylerini azaltması HDL-K'ü artırması ve oksidatif stresi azaltması nedeniyle olabilir. Ayrıca CoQ10 tedavisinin lipid peroksidasyonunu azalttığı, karaciğer homojenatlarında süperoksit dismutaz, katalaz ve glutasyon gibi antioksidan parametreleri artırdığı ve yüksek kan basıncını düşürdüğü tespit edilmiştir. Singh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 36 hafta transgenik diyetle beslenen tavşanlara koenzim Q10 uygulanmasının TBARS, konjuge dien, malondialdehit, total kolesterol, trigliserid düzeylerini ve aterosjenik indeksi düşürdüğü gösterilmiştir (84).

Kunitomo ve ark.'nın (150) metabolik sendromlu ratlar üzerinde yaptığı çalışmada 26 hafta % 0.07-% 0.7 CoQ10 ile desteklenmiş bir diyetin oksidatif stres ve metabolik sendromun karakteristik bileşenleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Oksidatif stres göstergeleri olarak okside düşük yoğunluklu lipoprotein ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin ve nitrozatif stres göstergesi olarak 3-nitrotirozin düzeylerine bakılmıştır. CoQ10 uygulanması metabolik sendromlu ratlarda oluşan oksidatif ve nitrozatif stres belirteçlerinin artışını azaltmıştır. CoQ10 glukoz ve dislipidemiye etkisi olmamasına rağmen serum insülin düzeylerini azaltmıştır. Ayrıca CoQ10 mezenterik arter endotel disfonksiyonunu düzeltmiştir. Bu bulgulara göre ekzojen CoQ10 uygulanmasının MS tedavisi ve profilaksisi için önemli olacağı ve CoQ10'un antioksidan özelliklerinin MS'deki kardiyovasküler risklerin engellenmesinde etkili olabileceği ileri sürülmüştür.

Rauscher ve ark.'nın (151) yaptığı çalışmada streptozosinle diyabet oluşturulmuş Sprague-Dawley ratlara (10 mg/kg/gün, intraperitoneal, 14 gün) koenzim Q10 tedavisinin bozulmuş antioksidan durumu düzelttiği gösterilmiş ve diyabete bağlı oksidatif etkileri azalttığı belirtilmiştir. Tsuneki ve ark.'nın (74) yaptığı çalışmada yüksek glukoz (30 mM) maruz kalan insan umbilikal ven endotel hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin arttığı ve yüksek glukozun endotel

hücrelerinde ICAM-1 ve VCAM-1 upregülasyonuna neden olduğu ve COQ10'un bu anormallikleri düzelttiği gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda da 10mg/kg/gün CoQ10 uygulanan grupta MS grubuna kıyasla kan glukozu, insülin, LDL-K, VLDL-K, T-kolesterol, trigliserid düzeylerinde azalma, HDL-K düzeylerinde anlamlı artma tespit ettik ($p<0.0001$). CoQ10'un trigliserid düşürücü etkisi muhtemelen LDL'ye spesifik antioksidan aktivitesi sonucu ve hücrel antioksidan durumu artırması sonucu olabilir. Çalışmamızda CoQ10 grubunda oksidatif stres azalmasını gösteren MDA düzeylerinde MS grubuna göre anlamlı azalma tespit ettik ($p<0.05$). Redükte glutasyon düzeyleri MS grubuna göre istatistiksel anlamlı şekilde yüksekti ($p<0.005$). Yine total glutasyon düzeyleri MS grubuna kıyasla yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Hamilton ve ark.'nın (152) yaptığı çalışmada 12 hafta 200 mg/gün CoQ10 verilen diyabetik hastalarda akım aracılı dilatasyon (FMD) olarak ölçülen endotelial fonksiyonda anlamlı düzelmelerin olduğu görülmüştür. Endotel disfonksiyonda düzelmenin CoQ10'un lokal vasküler oksidatif stresi azaltması nedeniyle olduğu ileri sürülmüştür. Bir başka çalışmada CoQ10'un oral uygulanması iskemik kalp hastalarında FMD'yi ve SOD seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir. CoQ10'un hangi mekanizmayla ekstrasellüler SOD'u artırdığı açıklığa kavuşturulamamıştır ancak bu etki NO'nun artan biyoyararlanımı veya direk gen indüksiyonu nedeniyle olabileceği belirtilmiştir (153).

Tiano ve ark.'nın (154) yaptığı çalışmada iskemik kalp hastalarında CoQ10 tedavisinin ekstrasellüler SOD aktivitesini ve endotel-bağımlı vazodilatasyonu düzelttiği gösterilmiştir. CoQ10'un bu etkilerini NO'nun oksidasyonuna karşı koyarak yaptığı ileri sürülmüştür. Watts ve ark.'nın (155) yaptığı çalışmada tip 2 DM hastalarında 12 hafta 200 mg/gün CoQ10 tedavisinin brakial arter disfonksiyonu düzelttiği ve bunun azalan oksidatif stres sonucunda NO'nun artan endotel salınımı veya aktivitesi nedeniyle olabileceği ileri sürülmüştür. Bununla birlikte, Jung ve arkadaşlarının (156) yaptığı çalışmada CoQ10'un aşırı NO üretimini suprese ettiği ve nitroztatif stresi azalttığı gösterilmiştir. Fouad ve ark.'nın (157) yaptığı çalışmada sisplatinle bağlı renal hasar oluşturulan farelerde CoQ10'un redükte glutasyon seviyesini ve SOD aktivitesini artırdığı, yükselmiş TNF-alfa ve nitrik oksit düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir.

Çalışmamızda CoQ10 grubunda ADMA düzeylerini MS grubuna göre anlamlı olarak düşük tespit ettik ($p<0.001$). SDMA düzeylerinde MS grubuna kıyasla anlamlı fark tespit edilmedi. Arjinin düzeyleri MS grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0.01$). CoQ10 grubunda MS grubuna göre NO düzeyleri anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.05$).

İnsülin ürik asitin böbrek ekskresyonunu azalttığından metabolik sendromda görülebilen hiperüriseminin hiperinsülineminin bir sonucu olduğu ileri sürülmüştür. Ancak, hayvan çalışmaları farklı sebep sonuç ilişkisi olabileceğini göstermiştir. Nakagawa ve ark.'nın (158) yaptığı çalışmada fruktoz ile beslenen ratlarda hiperüriseminin allopurinol veya benzbromaron ile tedavisinin metabolik sendrom komponentleri olan hiperinsülinemi, sistolik hipertansiyon, hipertrigliseridemi ve kilo alımını engellediği gösterilmiştir. Ürik asitin insülin direncini artırarak metabolik sendroma neden olabileceği ileri sürülmüştür. Bizim çalışmamızda da serum ürik asit düzeyleri metabolik sendrom oluşturduğumuz ratlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,0001$). Tedavi gruplarının serum ürik asit düzeylerine etkisini incelediğimizde, MS grubuna göre ürik asit düzeylerinde düşüş görüldü ($p<0,0001$). Ratlara fruktoz verilmesiyle; fruktokinaz tarafından fruktozun fosforilasyonu gerçekleşir ve fruktoz-1 fosfatın birikmesi sonucu adenozin trifosfat (ATP) sentezinin azalmasına ve nükleotidlerin yıkımıyla ürik asit artışına neden olmaktadır.

Endotel disfonksiyon ateroskleroz patogenezinin erken aşamasında oluşan sistemik bir bozukluktur. Çalışmamızda fruktoz verilerek metabolik sendrom oluşturulan ratların aort damarlarının histopatolojik olarak incelenmesinde endotel disfonksiyon göstergeleri olan perivasküler lenfositik infiltrasyon ve ödem görüldü. ALA uygulanan grupta perivasküler lenfositik infiltrasyonun ve ödemin belirgin olarak azaldığı görüldü. CoQ10 grubunda ise damar duvarlarının görünümü hemen hemen kontrol grubu ile aynı olarak izlendi. Perivasküler çok hafif lenfositik infiltrasyon görüldü. Bu sonuçlara göre ALA ve CoQ10'un endotel difonksiyonda görülebilen patolojik bulguları hafiflettiğini söyleyebiliriz.

Metabolik sendrom yaygınlığının artması bu sendromla ilgili araştırma çalışmalarının sayısını artırmıştır. Bölümümüzde yapılan bir çalışmada (159) 45 gün %10 fruktoz verilerek metabolik sendrom oluşturulan grupta serum resistin

düzelelerinin belirgin şekilde arttığı belirlenmiştir (% 73,93; $p < 0.001$). ALA verilen grupta metabolik sendrom oluşturulan gruba göre serum resistin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu (% 35) tespit edilmiştir. Bölümümüzde yapılan bir başka çalışmada (160) ise metabolik sendromda yağ dokudan salgılanan resistin ve apelinin insülin direnci oluşumunda ya da bu direncin düzenlenmesinde önemli rol aldığı, ayrıca uygulanan tedavilerden resveratrolün serum apelin, resistin, HbA1c ve lipid düzeylerine olumlu etkilerinin belirgin olduğunu açıkça gösterilmiştir.

Tüm bu bulgulara dayanarak şunları söyleyebiliriz;

Metabolik sendromda serbest radikal üretiminde artış ve antioksidan savunmada yetersizlik bulunmaktadır. Dolayısıyla, oksidatif stresi azaltmak bu sendromun tedavisinde faydalı olacaktır. Bizim çalışmamızda MS'deki patolojik süreçlerin oluşmasında önemli etkisi olan oksidatif stresin ve endotel disfonksiyonun engellenmesinde ALA ve CoQ10 tedavisinin etkili olduğunu tespit ettik. Metabolik sendromun tedavisinde ALA ve CoQ10'un tedavide etkinliğine dair ileri klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Deen D. Metabolic syndrome: time for action. *Am Fam Physician* 2004; 69: 2875-2882.
2. Sheu WH. The metabolic syndrome: what have we learned? *J Chin Med Assoc* 2004; 67: 597-599.
3. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989; 149: 1514-1520.
4. Gogia A, Agarwal PK. Metabolic syndrome. *Indian J Med Sci* 2006; 60: 72-81.
5. Grundy SM, Hansen B. Clinic Management of the Metabolic Syndrome, Report of the American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute/American Diabetes Association Conference on Scientific Issues Related to Management. *Circulation* 2004; 109: 551-556.
6. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 2004; 92: 347-355.
7. Delarue J, Magnan C. Free fatty acids and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10: 142-148.
8. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C. American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004; 109: 433-438.
9. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB, Clark LT, Hunninghake DB, et al. Coordinating Committee of the National Cholesterol Education Program. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 720-732.
10. Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP). *JAMA* 2001; 285: 2486-2497.
11. Handelsman Y. Metabolic syndrome pathophysiology and clinical presentation. *Toxicol Pathol* 2009; 37: 18-20.

12. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002; 287: 356-359.
13. Onat A, Sansoy V. Halkımızda Koroner Hastalığın Başsuçlusu Metabolik Sendrom: Sıklığı, Unsurları, Koroner Risk ile İlişkisi ve Yüksek Risk Kriterleri. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2002; 30: 8-15.
14. Metabolik Sendrom Araştırması METSAR sonuçları. XX. Ulusal Kardiyoloji Kongresi. Antalya, 2004.
15. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28: 2289-2304.
16. Rubins HB, Robins SJ, Collins D. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High –Density Lipoprotein cholesterol Intervention trial study group. *N Eng J Med* 1999; 341: 410 – 418.
17. Azen SP, Berkowiz K, Kjos S, Xiang A, Buchanan TA. TRIPOD: a randomised placebo–controlled trial of troglitazone in women with prior gestational diabetes mellitus. *Control Klin Trials* 1998; 19: 217 – 231.
18. Chiasson JL, Josse RG, Gomis R. Acarbose for the prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 2072 – 2077.
19. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 381-389.
20. Hızlı ZB. Bursa İlinde 18 – 45 Yaş Arası Sağlıklı Bireylerde Vitaminlerin Ve Antioksidan Parametrelerin Referans Aralıklarının Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. Bursa: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. 2006.
21. Evans P and Halliwell B. Micronutrients: Oxidant/Antioxidant Status. *Br J Nutr* 2001; 85: 67-74.
22. Memişoğulları R. The Role of Free Radicals and the effect of Antioxidant in Diabetes. *Düzce Tıp Fakültesi Tıp Dergisi* 2005; 3: 30-39.
23. Scandalios JG. Oxidative stress responses--what have genome-scale studies taught us? *Genome Biol* 2002; 3: 1019-1025.

24. Racila D, Bickenbach JR. Are epidermal stem cells unique with respect to aging? *Aging* 2009; 19: 746-750.
25. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri, *Temel Tıptan Kliniği*. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2002; 33: 110-118.
26. Chen S, Schopfer P. Hydroxyl-radical production in physiological reactions a novel function of peroxidase. *Eur J Biochem* 1999; 260: 726-735.
27. Koppenol WH. The Haber-Weiss cycle-70 years later. *Redox Rep* 2001; 6: 229-234.
28. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 3-4: 92-95.
29. Foote CS, Shook FC, Abakerli RB. Characterization of singlet oxygen. *Methods Enzymol* 1984; 105: 36-47.
30. Archer S. Measurement of nitric-oxide in biological models. *FASEB J* 1993; 7: 349-360.
31. Moncada S. Adventures in vascular biology: a tale of two mediators. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006; 361: 735-759.
32. Melikian N, Seddon MD, Casadei B, Chowienczyk PJ, Shah AM. Neuronal nitric oxide synthase and human vascular regulation. *Trends Cardiovasc Med* 2009; 19: 256-262.
33. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG, Nitric oxide synthesis: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; 357: 593-615.
34. Nara K, Konno D, Uchida J, Kiuchi Y, Oguchi K. Protective effect of nitric oxide against iron-induced neuronal damage. *Journal of Neural Transmissiion* 1999;106: 835- 848.
35. Lauer T, Kleinbongard P, Kelm M. Indexes of NO bioavailability in human blood. *News Physiol Sci* 2002; 17: 251-255.
36. Özkan M, Yüksekol İ. Nitrik Oksit ve Akciğerler. *Toraks Dergisi* 2003; 4: 88-94.
37. Atalık KE, Doğan N. Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri. *Genel Tıp Dergisi* 1997; 7: 167-169.
38. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109: 27-32.

39. Hartge MM, Unger T, Kintscher U. The endothelium and vascular inflammation in diabetes. *Diab Vasc Dis Res* 2007; 4: 84-88.
40. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *J Biol Chem* 1997; 272: 213-216.
41. Ayan NN. Streptozotosin İle Diyabet Oluşturulan Rat Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stres, Paraoksonaz-1 Aktivitesi Ve Stobadin'in Koruyucu Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. 2007.
42. Bagchi K, Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease. *East Mediterr Health J* 1998; 4: 350-360.
43. <http://www.doctorslounge.com/primary/articles/freeradicals/freeradicals11.html>
44. Basu S. The enigma of in vivo oxidative stress assessment: isoprostanes as an emerging target. *Scandinavian Journal of Food and Nutrition* 2007; 51: 48-61.
45. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
46. Kuzugüden S. Tiner İle Rat Beyninde Oluşturulan Oksidatif Stres Üzerine Melatonin ve Eritropoetin Etkisi. Tıpta Uzmanlık Tezi. Kayseri: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. 2007.
47. Holley AE, Cheeseman KH. Measuring free radical reactions in vivo. *Brit Med Bull* 1993; 49: 494-505.
48. <http://www.lookchem.com/cas-542/542-78-9.html>
49. Kayalı R, Çakata Y. Protein Oksidasyonu. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2004; 35: 83-89.
50. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad* 1993; 90: 7915-7922.
51. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk Biyokimya Dergisi* 2006; 31; 51-56.
52. Mishra PC, Singh AK, Suhai S. Interaction of singlet oxygen and superoxide radical anion with guanine and formation of its mutagenic modification 8-oxoguanine. *Int J Quantum Chem* 2005; 102: 282-301.

53. Yapar SB. Alfa Lipoik Asidin Rat Karaciğer Homojenatlarında İndüklenmiş Lipid Peroksidasyonuna Etkisi. Uzmanlık Tezi. Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. 2006.
54. Speers-Roesch B, Ballantyne JS. Activities of antioxidant enzymes and cytochrome c oxidase in liver of arctic and temperate teleosts. *Comp Biochem Physiol* 2005; 140: 487-494.
55. Miao L, St Clair DK. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radic Biol Med* 2009; 47: 344-356.
56. Chelikani P, Fita I, Loewen PC. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61: 192-208.
57. Leopold JA, Loscalzo J. Oxidative enzymopathies and vascular disease. *Arterioscler thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1332-1340.
58. Colven RM, Pinnell SR. Topical vitamin C in aging. *Clin Dermatol* 1996; 14: 227-234.
59. Li X, Cobb CE, May JM. Mitochondrial recycling of ascorbic acid from dehydroascorbic acid: dependence on the electron transport chain. *Arch Biochem Biophys* 2002; 403: 103-110.
60. Malone WF. Studies evaluating antioxidants and beta carotene as chemopreventives. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 305-313.
61. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası. 2.Baskı Ankara. Palme yayıncılık 2006: 755-757.
62. Harlan JM, Levine JD, Callahan KS, Schwartz BR, Harker LA. Glutathione redox cycle protects cultured endothelial cells against lysis by extracellularly generated hydrogen peroxide. *J Clin Invest* 1984; 73: 706-713.
63. Mathes AM. Hepatoprotective actions of melatonin: possible mediation by melatonin receptors. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 6087-6097.
64. So A, Thorens B. Uric acid transport and disease. *J Clin Invest* 2010; 120: 1791-1799.
65. Molyneux SL, Young JM, Florkowski CM, Lever M, George PM. Coenzyme Q10: is there a clinical role and a case for measurement? *Clin Biochem Rev* 2008; 29: 71-82.

66. Young AJ, Johnson S, Steffens DC, Doraiswamy PM. Coenzyme Q10: a review of its promise as a neuroprotectant. *CNS Spectr* 2007; 12: 62-68.
67. Attar MA. Hypolipidemic Effects of Coenzyme Q10 in Experimentally Induced Hypercholesterolemic Model in Female Rats. *Am J Pharmacol Toxicol* 2010; 1: 14-23.
68. <http://www.nutrilearn.com/coq10/coq10.html>
69. Borekova M, Hojerova J, Koprda V, Bauerova K. Nourishing and Health Benefits of Coenzyme Q 10. *Czech J Food Sci* 2008; 26: 229–241.
70. Quinzii CM, Hirano M. Coenzyme Q and mitochondrial disease. *Dev Disabil Res Rev* 2010; 16: 183-188.
71. Crane FL. Biochemical Functions of Coenzyme Q₁₀. *J Am Coll Nutr* 2001; 20: 591-598.
72. Chew GT, Watts GF. Coenzyme Q10 and diabetic endotheliopathy: oxidative stress and the 'recoupling hypothesis'. *QJM* 2004; 97: 537-548.
73. Wang H, Zhao X, Yin S. Effects of coenzyme Q10 or combined with micronutrients on antioxidant defense system in rats. *Wei Sheng Yan Jiu* 2008; 37: 311-315.
74. Tsuneki H, Sekizaki N, Suzuki T, Kobayashi S, Wada T, Okamoto T, et al. Coenzyme Q10 prevents high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 2007; 566: 1-10.
75. Lee WJ, Park JY, Lee KU. α -Lipoic Acid Prevents Diabetes Mellitus and Endothelial Dysfunction in Diabetes-Prone Obese Rats. Packer L, Sies H (editörs). *Oxidative Stress and Inflammatory Mechanisms in Obesity, Diabetes and the Metabolic Syndrome*. Newyork, CRC Press, 2008: 261-289.
76. Pershadsingh HA, Alpha-lipoic acid: physiologic mechanisms and indications for the treatment of metabolic syndrome. *Expert Opin Investig Drugs* 2007; 16: 291-302.
77. Lee WJ, Lee IK, Kim HS, Kim YM, Koh EH, Won JC. Alpha-lipoic acid prevents endothelial dysfunction in obese rats via activation of AMP-activated protein kinase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 2488-2494.
78. Tardif JC, Rheume E. Lipoic acid supplementation and endothelial function. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 1587-1588.

79. Packer L. alpha-Lipoic acid: a metabolic antioxidant which regulates NF-kappa B signal transduction and protects against oxidative injury. *Drug Metab Rev* 1998; 30: 245-275.
80. Hagen TM, Ingersoll RT, Lykkesfeldt J, Liu J, Wehr CM, Vinarsky V, et al. (R)-alpha-lipoic acid-supplemented old rats have improved mitochondrial function, decreased oxidative damage, and increased metabolic rate. *FASEB J* 1999; 13: 411-418.
81. Tirosh O, Roy S. Lipoic Acid. Cellular Metabolism, Antioxidant Activity, and Clinical Relevance. Cadenas E, Packer L (editörs). *Handbook of Antioxidants*. 2nd edition. New York, Basel: Marcel-Dekker, 2002, 189–221.
82. Schalkwijk CG, Stehouwer CD. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clinical Science* 2005; 109; 143–159.
83. Rosen P, Nawroth PP, King G, Moller W, Tritschler HJ, Packer L. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications. *Diabetes Metab Res Rev* 2001; 17: 189–212.
84. Modi KP, Vishwakarma SL, Goyal RK, Bhatt PA: Effects Of Coenzyme Q10 On Lipid Levels And Antioxidant Defenses In Rats With Fructose Induced Hyperlipidemia And Hyperinsulinaemia. *The Internet Journal of Pharmacology* 2007; 5 (<http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijpharm/vol5n1/q10.xml>)
85. Mittal S. Components of Metabolic Syndrome. *The Metabolic Syndrome in Clinical Practice*, 1st Edition. New York, Springer-Verlag, 2007: 21-83.
86. Yamaguchi Y, Yoshikawa N, Kagota S, Nakamura K, Haginaka J, Kunitomo M. Elevated circulating levels of markers of oxidative-nitrative stress and inflammation in a genetic rat model of metabolic syndrome. *Nitric Oxide* 2006; 15: 380-386.
87. Hopps E, Noto D, Caimi G, Aversa MR. A novel component of the metabolic syndrome: the oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010; 20: 72-77.
88. Delbosc S, Paizanis E, Magous R, Araiz C, Dimo T, Cristol JP, et al. 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* 2005; 179: 43-49.

89. Altaş M, Var A, Köse C, Özbilgin K, Arı Z. Endothelial dysfunction in high fructose containing diet fed rats: Increased nitric oxide and decreased endothelin-1 levels in liver tissue. *Dicle Medical Journal* 2010; 37: 193-198.
90. Cavarape A, Feletto F, Mercuri F, Quagliaro L, Daman G, Ceriello A. High-fructose diet decreases catalase mRNA levels in rat tissues. *J Endocrinol Invest* 2001; 24: 838-845.
91. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1983-1992.
92. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Vita JA. The clinical implication of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1149-1160.
93. Cozma A, Orasan O, Sampelean D, Fodor A, Vlad C, Negrean V, et al. Endothelial dysfunction in metabolic syndrome. *Rom J Intern Med* 2009; 47: 133-40.
94. Tziomalos K, Athyros VG, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Endothelial dysfunction in metabolic syndrome: prevalence, pathogenesis and management. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010; 20: 140-146.
95. Işıklar ÖÖ, Mutaf I. Asimetrik Dimetilarginin ve Klinik Önemi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2010; 8: 75-89.
96. Sydow K, Mondon CE, Cooke JP. Insulin resistance: potential role of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA. *Vasc Med* 2005; 10: 35-43.
97. Beltowski J, Kedra A, Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. *Pharmalogical Reports* 2006; 58: 159-178.
98. Eroğlu AA, Arslan M. Endokrin Hastalıklarda Asimetrik Dimetilarjinin. *Marmara Medical Journal* 2009; 22: 80-84.
99. Xiong Y, Fu YF, Fu SH, Zhou HH. Elevated levels of the serum endogenous inhibitor of nitric oxide synthase and metabolic control in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 42: 191-196.
100. Sydow K, Münzel T. ADMA and oxidative stress. *Atheroscler Suppl* 2003; 4: 41-51.
101. Lee JM, Choudhury RP. *Vascular Biology of the Metabolic Syndrome*. Andrew J. Krentz, Nathan D. Wong (editörler). *Metabolic syndrome and cardiovascular disease*. New York, Informa Healthcare, 2007, 79-109.

102. Basciano H, Federico L, Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab* 2005; 2; 1-14.
103. Lozada LGS, Tapia E, Jimenez A, Bautista P, Cristobal M, Nepomuceno T, et al. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 29: 1-29.
104. Arivazhagan P, Panneerselyam SR, Panneerselyam C. Effect of DL-alpha-lipoic acid on the status of lipid peroxidation and lipids in aged rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003; 58: 788-791.
105. Cakatay U, Kayali R. Plasma protein oxidation in aging rats after alpha-lipoic acid administration. *Biogerontology* 2005; 6: 87-93.
106. Tav RÇ. Diyabetli Sıçanlarda Koenzim Q10 ve Alfa Lipoik Asit Desteklerinin Egzersizle Oluşan Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Durum Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi Konya: Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı. 2008.
107. Çelikezen FÇ. Bleomycin Uygulanan Ratlarda CoQ10'in Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Profil ve Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkisi. Doktora Tezi. Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı. 2008.
108. Stajn AS, Pavlovic SZ, Ognjanovic BI, Zikic RV, Saicic ZS, Petrovic VM. The influence of coenzyme Q10 (CoQ10) on the growth of body mass and somatic indexes in cadmium treated rats. *Kragujevac Journal of Science* 2000; 22: 101-110.
109. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 36: 1440-1443.
110. Zimmet P, Magliano D, Matsuzawa Y, Alberti G, Shaw J. The metabolic syndrome: a global public health problem and a new definition. *J Atheroscler Thromb* 2005; 12: 295-300.
111. Fujita K, Nishizawa H, Funahashi T, Shimomura I, Shimabukuro M. Systemic Oxidative Stress is Associated With Visceral Fat Accumulation and the Metabolic Syndrome. *Circ J* 2006; 70: 1437 – 1442.

- 112.**Roberts CK, Barnard RJ, Sindhu RK, Jurczak M, Ehdaie A, Vaziri ND. Oxidative stress and dysregulation of NAD(P)H oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome. *Metabolism* 2006; 55: 928– 934.
- 113.**Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Morioka K, et al. Oxidative Stress Is Associated with Adiposity and Insulin Resistance in Men. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4673-4676.
- 114.**Sharma P, Mishra S, Ajmera P, Mathur S. Oxidative Stress In Metabolic Syndrome. *Indian Journal Of Clinical Biochemistry* 2005; 20: 145-149.
- 115.**Hadi HA, JA Suwaidi. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Vascular Health and Risk Management* 2007; 3: 853–876.
- 116.**Alaçam H, Dikmen ZG, Doğan P. Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) metabolizması ve ADMA'nın oksidatif hasar, endotel hasarı ve çeşitli hastalıklarla ilişkisi. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2010; 41: 75-81.
- 117.**Korandji C, Zeller M, Guiland JC, Collin B, Lauzier B, Sicard P, et al. Time course of asymmetric dimethylarginine (ADMA) and oxidative stress in fructose-hypertensive rats: a model related to metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2011; 214:310-315.
- 118.**Garcia RG, Perez M, Maas R, Schwedhelm E, Böger RH, Lopez-Jaramillo P. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in metabolic syndrome. *Int J Cardiol* 2007; 122: 176-178.
- 119.** Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999; 99: 1141-1146
- 120.** Lin YK, İto A, Asagami T, Philip S, Adimoolam S, Kimoto M, et al. Impaired Nitric Oxide Synthase Pathway in Diabetes Mellitus Role of Asymmetric Dimethylarginine and Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase. *Circulation* 2002; 106: 987-992.
- 121.** Zahedi AS, Ghasemi A, Azizi F. Serum nitric oxide metabolites in subjects with metabolic syndrome. *Clin Biochem* 2008; 41: 1342-1347.
- 122.** Perreault M, Marette A. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against obesity-linked insulin resistance in muscle. *Nat Med* 2001; 7: 1138-1143.

123. Kalinowski L, Malinski T. Endothelial NADH/NADPH-dependent enzymatic sources of superoxide production: relationship to endothelial dysfunction. *Acta Biochimica Polonica* 2004; 51: 459–469.
124. Nagareddy PR, Xia Z, McNeill JH, MacLeod KM. Increased expression of iNOS is associated with endothelial dysfunction and impaired pressor responsiveness in streptozotocin-induced diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289: 144-152.
125. Ford ES, Mokdad AH, Giles WH, Brown DW. The metabolic syndrome and antioxidant concentrations: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes* 2003; 52: 2346-2352.
126. Thirunavukkarasu V, Anuradha CV. Influence of alpha-lipoic acid on lipid peroxidation and antioxidant defence system in blood of insulin-resistant rats. *Diabetes Obes Metab* 2004; 6: 200-207.
127. Arivazhagan P, Ramanathan K, Panneerselvam C. Effect of DL-alpha-lipoic acid on mitochondrial enzymes in aged rats. *Chem Biol Interact* 2001; 138: 189-198.
128. Khanna S, Atalay M, Laaksonen DE, Gul M, Roy S, Sen CK. Alpha-lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. *J Appl Physiol*. 1999; 86: 1191-1196.
129. Cummings BP, Stanhope KL, Graham JL, Evans JL, Baskin DG, Griffen SC, et al. Dietary fructose accelerates the development of diabetes in UCD-T2DM rats: amelioration by the antioxidant, alpha-lipoic acid. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298: 1343-1350.
130. Arivazhagan P, Shila S, Kumaran S, Panneerselvam C. Effects of DL-alpha-lipoic acid on the status of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in various brain regions of aged rats. *Exp Gerontol* 2002; 37: 803-811.
131. Haenen GR, Bast A. Protection against lipid peroxidation by a microsomal glutathione-dependent labile factor. *FEBS Lett* 1983; 159: 24-28.
132. Bast A, Haenen. The toxicity of antioxidants and their metabolites. *Environmental toxicology and Pharmacology* 2002; 11: 251-258.
133. Arivazhagan P, Juliet P, Panneerselvam C. Effect of DL- α -lipoic acid on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aged rats. *Pharmacological Research* 2000; 41: 299-303.

134. Midaoui AE, Champlain J. Prevention of Hypertension, Insulin Resistance, and Oxidative Stress by alpha -Lipoic Acid. *Hypertension* 2002; 39: 303-307.
135. Song KH, Lee WJ, Koh JM, Kim HS, Youn JY, Park HS, et al. Alpha-lipoic acid prevents diabetes mellitus in diabetes-prone obese rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 326: 197-202.
136. Heitzer T, Finckh B, Albers S, Krohn K, Kohlschütter A, Meinertz T. Beneficial effects of alpha-lipoic acid and ascorbic acid on endothelium-dependent, nitric oxide-mediated vasodilation in diabetic patients: relation to parameters of oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 53-61.
137. Saad EI, El-Gowilly SM, Sherhaa MO, Bistawroos AE. Role of oxidative stress and nitric oxide in the protective effects of alpha-lipoic acid and aminoguanidine against isoniazid-rifampicin-induced hepatotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 1869-1875.
138. Demarco VG, Scumpia PO, Bosanquet JP, Skimming JW. Alpha-lipoic acid inhibits endotoxin-stimulated expression of iNOS and nitric oxide independent of the heat shock response in RAW264.7 cells. *Free Radical Res* 2004; 38, 675–682.
139. Abdel-Zaher AO, Abdel-Hady RH, Mahmoud MM, Farrag MM. The potential protective role of alpha-lipoic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage. *Toxicology* 2008; 243: 261–270.
140. Biewenga GP, Haenen GR, Bast A. The pharmacology of the antioxidant alipoic acid. *Gen. Pharmacol* 1997; 29: 315–331.
141. Chang JW, Lee EK, Kim TH, Min WK, Chun S, Lee KU, et al. Effects of alpha-lipoic acid on the plasma levels of asymmetric dimethylarginine in diabetic end-stage renal disease patients on hemodialysis: a pilot study. *Am J Nephrol* 2007; 27: 70-74.
142. Mittermayer F, Pleiner J, Francesconi M, Wolzt M. Treatment with alpha-lipoic acid reduces asymmetric dimethylarginine in patients with type 2 diabetes mellitus. *Transl Res* 2010; 155: 6-9.
143. Zhang WJ, Frei B. Alpha-lipoic acid inhibits TNF-alpha-induced NF-kappaB activation and adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells. *FASEB J* 2001; 15: 2423-2432.

144. Bierhaus A, Chevion S, Chevion M, Hofmann M, Quehenberger P, Illmer T, et al. Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappaB is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. *Diabetes* 1997; 46: 1481-1490.
145. Kunt T, Forst T, Wilhelm A, Tritschler H, Pfuetzner A, Harzer O, et al. Alpha-lipoic acid reduces expression of vascular cell adhesion molecule-1 and endothelial adhesion of human monocytes after stimulation with advanced glycation end products. *Clin Sci* 1999; 96: 75-82.
146. Vasdev S, Ford CA, Parai S, Longerich L, Gadag V. Dietary alpha-lipoic acid supplementation lowers blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2000; 18: 567-573.
147. Vasdev S, Gill V, Longerich L, Parai S, Gadag V. Salt-induced hypertension in WKY rats: prevention by alpha-lipoic acid supplementation. *Mol Cell Biochem* 2003; 254: 319-326.
148. Vasdev S, Ford CA, Parai S, Longerich L, Gadag V. Dietary lipoic acid supplementation prevents fructose-induced hypertension in rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000; 10: 339-346.
149. Ford I, Cotter MA, Cameron NE, Greaves M. The effects of treatment with alpha-lipoic acid or evening primrose oil on vascular hemostatic and lipid risk factors, blood flow, and peripheral nerve conduction in the streptozotocin-diabetic rat. *Metabolism* 2001; 50: 868-875.
150. Kunitomo M, Yamaguchi Y, Kagota S, Otsubo K. Beneficial Effect of Coenzyme Q10 on Increased Oxidative and Nitrative Stress and Inflammation and Individual Metabolic Components Developing in a Rat Model of Metabolic Syndrome. *J Pharmacol Sci* 2008; 107: 128 – 137.
151. Rauscher FM, Sanders RA, Watkins JB. Effects of coenzyme Q10 treatment on antioxidant pathways in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2001; 15: 41-46.
152. Hamilton SJ, Chew GT, Watts GF. Coenzyme Q10 improves endothelial dysfunction in statin-treated type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2009; 32: 810-812.

- 153.** Littarru GP, Tiano L. Clinical aspects of coenzyme Q10: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005; 8: 641-646.
- 154.** Tiano L, Belardinelli R, Carnevali P, Principi F, Seddaiu G, Littarru GP. Effect of coenzyme Q10 administration on endothelial function and extracellular superoxide dismutase in patients with ischaemic heart disease: a double-blind, randomized controlled study. *Eur Heart J* 2007; 28: 2249-2255.
- 155.** Watts GF, Playford DA, Croft KD, Ward NC, Mori TA, Burke V. Coenzyme Q(10) improves endothelial dysfunction of the brachial artery in Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 2002; 45: 420-426.
- 156.** Jung HJ, Park EH, Lim CJ. Evaluation of anti-angiogenic, anti-inflammatory and antinociceptive activity of coenzyme Q(10) in experimental animals. *J Pharm Pharmacol.* 2009; 61:1391-1395.
- 157.** Fouad AA, Al-Sultan AI, Refaie SM, Yacoubi MT. Coenzyme Q10 treatment ameliorates acute cisplatin nephrotoxicity in mice. *Toxicology* 2010; 274: 49-56.
- 158.** Nakagawa T, Tuttle KR, Short RA, Johnson RJ. Hypothesis: fructose-induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2005;1: 80-86.
- 159.** Parmaksız A. Metabolik Sendrom Oluşturulan Ratlarda, Kuersetin, Alfa Lipoik Asit ve Tiazolidindion Uygulanmasının Serum Resistin Düzeyleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. 2009.
- 160.** Altaş S. Metabolik Sendrom Oluşturulan Ratlarda Resveratrol Uygulamasının Serum Resistin Ve Apelin Düzeyleri Üzerine Etkileri Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. 2011.

6. ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Adıyaman'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adıyaman'da tamamladım. 1996 yılında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yüksek öğrenimime başladım ve 2004 yılında bu fakülteden mezun oldum. Daha sonra Adıyaman'ın Gerger ilçesine bağlı Güngörmüş Sağlık Ocağı'nda 2 yıl pratisyen hekimlik yaptım. 2007 yılı Kasım ayında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.