

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

ALEGEBRİUM (ALT-711) UN
İZOLE KAROTİS ARTER PREPARATLARINDA
FONKSİYONEL ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇİĞDEM TOPRAK

Prof. Dr. BAŞAR SIRMAGÜL

OCAK-2014

KABUL VE ONAY SAYFASI

Çiğdem TOPRAK'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "ALEGEBRİUM (ALT-70) İZOLE KAROTİS ARTER PREPARATLARINDA FONKSİYONEL ETKİSİ" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

23.01.2014

Üye : Prof.Dr. Kevser EROL

Üye : Prof.Dr. Fatma Sultan KILIÇ

Üye : Prof. Dr. Başar SIRMAGÜL

Üye : Doç. Dr. Mahmut ÖZDEMİR

Üye : Doç. Dr. Rana ARSLAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 27/01/2014 tarih ve ..9877/1.4584.. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Kazım ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

ÖZET

ALEGEBRIUM (ALT-711) UN İZOLE KAROTİS ARTER PREPARATLARINDA FONKSİYONEL ETKİSİ

Çalışmamızda miyograf yöntemi ile glikozile protein çapraz bağ kırıcısı alagebriumun izole sıçan karotis arter preparatlarında etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda alagebriumun özellikle diyabetik ve kardiyovasküler patolojilerde yapısal iyileştirici etkisi olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda ise, alagebriumun izole arter preparatlarında vazodilatör etkisi gözlenmiş ve bu etkinin mekanizması aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla farklı agonist ve antagonistler varlığında alagebriumun vazodilatör etki mekanizması araştırılmıştır. Fenilefrin ve KCl önkasılması uygulanan segmentlerde vazodilatör etki gösterilmiş bu etkinin çeşitli antagonist inkübasyonları ile ne ölçüde gerilediği test edilmiştir. Bu amaçla; L-NAME, Glibenklamid, İndometazin, Metoprolol, Propranolol ve Tetraetilamonyum ve kalsiyum kanal aktivatörü BAYK 8644 kullanılmıştır.

Bulgularımızda endoteli intakt ve endoteli bozulmuş damarlar kıyaslandığında alagebriumun % gevşeme yanıtları açısından fark bulunmuştur. Endotelli segmentlerde alagebriumun anlamlı derecede artmış gevşeme yanıtı oluşturduğu görülmektedir. Fakat L-NAME inkübasyonu (NO inhibisyonu) gevşemeyi tam olarak ortadan kaldıramamıştır. Endotel dışı mekanizmalar açısından vazodilatasyon ile ilgili kanalların (K_{ATP} , PGI_2 , BK_{Ca}) ve reseptörlerin (β_1, β_2) bloke edilmeleri alagebriumun gevşeme yanıtını geri çevirememiştir. BAYK ile L tipi kalsiyum kanalları aktive edildiğinde ise gevşeme yanıtını geri çevirebilmiştir.

Çalışmamız sonuçları, alagebriumun endotel aracılı ve L tipi kalsiyum kanal blokasyonu ile vazodilatör etkisinin olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: AGE, Alegebrium, sıçan, karotis arter, vazodilatasyon mekanizmaları

SUMMARY

FUNCTIONAL EFFECTS OF ALEGBRIUM (ALT-711) ON ISOLATED CAROTID ARTER PREPARATIONS

In our study, glycosylated protein cross-link breaker of alegebrium effects were investigated isolated rat carotid artery with myograph. In our study, alegebrium shown vasodilatory effect on carotid artery rings especially this effect was significantly increased endothelium-intact ring. To clarify that vasodilatory mechanism of alegebrium ; different antagonists were used for reversed this effect. such as L-NAME, Glibenclamide, Indomethacin, Metoprolol, Propranolol and Tetraethylamonium and calcium channel activator BAYK 8644 was used.

% relaxation responses of alegebrium were more significantly increased at intact endothelium than denuded arteries, But, incubation with L-NAME (inhibition of NO) relaxation couldn't reversed. Blocking vasodilation related to channels (K_{ATP} , PGI_2 , BK_{ca}) and receptors (β_1, β_2) couldn't reverse alegebrium's relaxation response. When calcium channels activated by BAYK could reverse relaxation response.

In regarding our results that mechanism of alegebrium's vasodilator effect by blocking of L-type calcium channels and partially nitric oxide synthase enzyme blocking effect.

Key words: AGE, Alegebrium, rat, karotis artery rings, mechanisms of vasodilation

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
SUMMARY	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLO DİZİNİ	vi
ŞEKİL DİZİNİ	vii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
Yaşlanmada Protein Yapım-Yıkımı.....	3
İleri Glikasyon Son Ürünleri.....	3
İleri Glikasyon Son Ürünleri Oluşumu ve Biyokimyası.....	4
AGE'ler ve Çapraz Bağ Oluşumu.....	5
AGE Reseptörleri (RAGE).....	7
AGE, RAGE ve Oksidatif stres.....	9
İleri Glikasyon Ürünlerinin Doku ve Hücre Düzeyinde Etkileri.....	11
<i>Lipid peroksidasyonunda artış</i>	11
<i>Hücre sel aktivitelerin indüksiyonu</i>	11
<i>Proteinlerde yapısal ve fonksiyonel değişimler</i>	12
<i>Tromboz ve fibrinliz üzerine etkileri</i>	13
İleri Glikasyon Son Ürünleri ve Patolojik Yeri.....	13
<i>Nefropati</i>	13
<i>Retinopati</i>	13
<i>Katarakt</i>	14
<i>Nöropati</i>	14
<i>Ateroskleroz</i>	14
Farmakolojik Hedef Olarak AGE'ler	15
AGE yapımının inhibisyonu.....	16
<i>Aminoguanidin</i>	16
<i>LR Türevleri</i>	17
<i>Pridoksamin</i>	17
Çapraz Bağ Kırıcılar.....	17
<i>PTB</i>	17
<i>ALT-711</i>	18

TRC-4186.....	19
C36	19
RAGE Blokajı (Solubl RAGE, RAGE antikorları)	19
Eksojen AGE maruziyetinin azaltılması.....	20
(Beslenme alışkanlıklarında değişiklik, AST-120)	
Antioksidan aktivite/metal şelasyonu yapanlar	20
Aldoz redüktaz inhibitörleri	21
Anjiotensin Reseptör Blokerleri	21
Metformin.....	21
Benfotiamin.....	21
Kan Damarlarının Genel Yapısı.....	22
Damarların Yapısal Özellikleri.....	22
Arterlerin Sınıflandırılması.....	23
Normal Endotel Fonksiyonu.....	24
Endotelin Fizyolojik Anatomisi.....	24
Endoteldeki İyon Kanalları ve İşlevleri.....	24
Kalsiyum ve Kalsiyum Kanalları.....	26
Kalsiyumun damar üzerine etkileri.....	26
Kalsiyumun kardiyak etkileri.....	27
Düz kasta kalsiyum hareketleri.....	27
İntrasellüler Kalsiyum Konsantrasyonunun Ayarlanması.....	28
Kalsiyum kanalları ve bloke edilmeleri.....	28
Vazomotor tonusun kontrolü.....	31
Nitrik Oksit.....	32
Prostasiklin.....	34
Adenozin.....	34
Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör.....	35
Vazokonstriktör Mediyatörler	
Endotelin.....	35
GEREÇ ve YÖNTEM.....	36
Gereç.....	36
Deneylerde kullanılan hayvanlar.....	36
Deneylerde kullanılan kimyasal madde ve çözeltiler.....	37
Miyograf protokolü.....	39
İstatiksel analiz.....	47

BULGULAR

ALE'un İzole Sıçan Karotis Arter Yanıtları

PE indüklü kasılmalarda L-NAME inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	48
PE indüklü kasılmalarda GLB inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	49
PE indüklü kasılmalarda TEA inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	50
PE indüklü kasılmalarda İndometazin inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	51
PE indüklü kasılmalarda Metoprolol inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	52
PE indüklü kasılmalarda Propranolol inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	53
PE indüklü kasılmalarda BAYK 8644 inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	54
TARTIŞMA	59
SONUÇ VE ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR DİZİNİ	65
ÖZGEÇMİŞ	72

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. AGE ürünleri.....	7
Tablo2. AGE ve oksidatif stres.....	10
Tablo3. RAGE bağımlı oksidatif stres indüksiyonu ve NFκB indüksiyonu....	12
Tablo4. Endotelden salınan mediyatörler.....	31
Tablo 5. NO Sentezi.....	32
Tablo 6. Bulguların ortalama ve SEM değerleri.....	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu.....	4
Şekil 2. İleri glikasyon son ürünlerinin (AGEs) oluşumu.....	5
Şekil 3. AGE çapraz bağ oluşumu.....	6
Şekil 4. AGE/RAGE bağlanması sonrası AGE'nin intrasellüler etkileri.....	9
Şekil 5. ALT-711 kimyasal yapısı.....	18
Şekil 6. RAGE ve MMP ilişkisi.....	19
Şekil 7. Damar yapısı.....	22
Şekil 8. Reseptör agonist etkileşmesi ile hücre içi kalsiyum salınım mekanizması.....	25
Şekil 9. Endotelden salınan vazoaaktif mediyatörler.....	33
Şekil 10. Sıçan karotis arter izolasyonu.....	40
Şekil 11. Miyograf haznesi.....	41
Şekil 12. Endotel (+) karotis damar Ach yanıtı.....	41
Şekil 13. Endotel (-) karotis damar Ach yanıtları.....	41
Şekil 14. Normal ALE gevşeme yanıtı.....	41
Şekil 15. L-NAME inkübasyonu sonrası Et(+) damarda ALE gevşeme yanıtı.....	41
Şekil 16. L-NAME inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE gevşeme yanıtı.....	42
Şekil 17. Propranolol inkübasyonu sonrası Et(+) damarda ALE gevşeme yanıtı.....	42
Şekil 18. Propranolol inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE gevşeme yanıtı.....	42
Şekil 19. Metoprolol inkübasyonu sonrası Et(+) damarda ALE gevşeme yanıtı.....	43
Şekil 20. Metoprolol inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE gevşeme yanıtı.....	43
Şekil 21. İndometazin inkübasyonu sonrası Et(+) damarda ALE gevşeme yanıtı.....	43
Şekil 22. İndometazin inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE gevşeme yanıtı.....	43
Şekil 23. Glibenklamid inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE gevşeme yanıtı.....	44
Şekil 24. TEA inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE gevşeme yanıtı.....	44
Şekil 25. BAYK inkübasyonu sonrası Et(+) damarda ALE gevşeme yanıtları.....	44
Şekil 26. BAYK inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE gevşeme yanıtları.....	44
Şekil 27. BAYK inkübasyonu sonrası Et(-) damarda NFD 10^{-3} M gevşeme yanıtları.....	45
Şekil 28. KCl kasılmasına nifedipine yanıtı.....	45
Şekil 29. 120mMKCl kasılmasına ALE kümülatif gevşeme yanıtı.....	45
Şekil 30. 60mMKCl kasılmasına ALE kümülatif gevşeme yanıtı.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam Ediyor)

Şekil 31. PE kasılmasına ALE kümülatif gevşeme yanıtı.....	46
Şekil 32 .PE indüklü kasımlarda L-NAME inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	48
Şekil 33 .PE indüklü kasımlarda GLB inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	49
Şekil 34.PE indüklü kasımlarda TEA inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	50
Şekil 35.PE indüklü kasımlarda İndo inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	51
Şekil 36.PE indüklü kasımlarda Metopr inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	52
Şekil 37.PE indüklü kasımlarda Propr inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	53
Şekil 38.PE indüklü kasımlarda BAYK inkübasyonu sonrası ALE yanıtları.....	54
Şekil 39. Et(+) ve Et(-) damarlarda ALE 10^{-3} M yanıtları.....	56
Şekil 40. PE indüklü kasımlarda ALE kümülatif yanıtları.....	57
Şekil 41. PE, 120mMKCl ve 60mMKCl indüklü kasımlarda ALE kümülatif yanıtları.....	58

KISALTMALAR DİZİNİ

AGE Reseptörü	RAGE
Aktivatör Protein-1	AP-1
Alagebrium	ALE
Asetilkolin	Ach
Arjinin –lizin imidazol	ALI
Atriyoventriküler	AV
3-deoksigluozon-kaynaklı lizin dimer	DOLD
3-deoksiglukozon hidroimidazolon	3D-H
Düşük Dansiteli Lipoprotein	LDL
Endotel	Et
Fenilefrin	PE
Fenil Thiazolium Bromid	PTB
Glibenklamid	GL
Glioksal-kaynaklı lizin dimer	GOLD
Glioksal-kaynaklı hidroimidazolon	G-H
İleri Glikasyon Son Ürünleri	AGE
İndometazin	İndo
İnozitol trifosfat	IP ₃
İnsülin benzeri büyüme faktörü	IGF-1A
İnterlökin	IL
KalsiyumKanal Blokörleri	KKB
Karboksimetillizin	KML
Matriks Metalloproteinaz	MMP
Metilglioksal-kaynaklı lizin dimer	MOLD
Metilglioksal hidroimidazolon	MG-H
Metoprolol	Metopr
N ⁺ -karboksietil-lizin	KEL
Nitrik Oksit	NO
Nükleer Faktör Kappa B	NF-Kb
Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1	PAI-1
Potasyum Klorür	KCl
Propranolol	Propr

KISALTMALAR DİZİNİ (Devam ediyor)

Protein kinaz A	PKA
Reaktif Oksijen Türleri	ROT
Sarkoplazmik Retikulum	SR
Sinatriyal	SA
Tetra Etil Amonyum	TEA
Tümör Nekroz Faktör- α	TNF- α
Vasküler Düz Kas Hücre	VDKH
Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1	VCAM

GİRİŞ VE AMAÇ

Vasküler yeniden yapılanmada etkili ileri glikasyon son ürünlerinin diyabette, sistolik hipertansiyonda vasküloprotektif etkilerinin gözlenmesi, bu ürünlerin ek üstünlüklerini araştırılmaya değer kılmaktadır.

Glikoz-aminoasit çapraz bağlarının oluşumu kardiyovasküler patolojilerde tetikleyici faktör olarak gösterilmekte ve bu çapraz bağları kırarak iyileştirici etkileri beklenen ilaçlardan alagebriumun endotel disfonksiyonunu ve vasküler yeniden yapılanmayı iyileştirici katkısının olduğu gözlenmiştir. Alegebriumun (ALE) bu yapısal düzenlemelerdeki katkısı yanında fonksiyonel damar yanıtları üzerine etkisi konusunda çok az sayıda yetersiz çalışma verisinin olması, bu konuda çalışma yapılmasına ihtiyaç oluşturmaktadır. Çünkü vasküler yapı değişimlerinin fonksiyonel yanıtlarla yakın ilişkisi söz konusudur. Temel olarak, vasküler endotel ve medial tabaka birçok otkrin madde için bir hedef ve aynı zamanda bir kaynaktır. Vasküler yeniden yapılanma sürecinde nöroendokrin ve nörohümorale faktörler yapısal düzenleme yanında kasılma-gevşeme yanıtlarını da değiştirmektedir. Bir ajanın salt yapısal veya fonksiyonel etkisinin olması ve birbirinden bağımsız süreçlerde etkilemesi, fizyolojik koşullarda oldukça enderdir. Ayrıca diğer bazı çapraz bağ kırıcılarının (aminoguanidin gibi) iNOS üzerine inhibitör etkilerinin gösterilmiş olması bu grup üyelerinin fonksiyonel yanıtlara etkinliği olabileceğini düşündürmektedir.

Tüm bu açılardan ALE'un fonksiyonel açıdan damar yatağına olan etkilerini araştırmak çalışmamızın hipotezini oluşturmuştur.

Genel Bilgiler

İleri glikasyon son ürünleri (*AGEs:advanced glycation end products*) indirgenmiş şekerlerin enzimatik olmayan bir biçimde glikasyonları sonucu oluşan geri dönüşümsüz ürünler olarak bilinmektedir. Doğal yaşlanma süreçlerinde rol oynayan AGE'lerin hücrelerde bir dizi reaksiyon sonucu aşırı miktarda oluşmaları ve birikmeleri yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olmaktadır (8,13).

Diyabette hiperglisemik ortamda, aşırı miktarda oluşan AGE'ler matriks moleküllerinin modifikasyonu sonucu matriks ile hücre arasındaki sinyalleşmeyi bozarak ve hücre içinde bazı proteinleri etkileyerek hücrede disfonksiyona yol açmaları ile ayrıca reseptörlerine (RAGE) bağlanarak bu reseptörleri aktive etmeleri sonucu inflamatuvar sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin üretiminin artması ve sonuçta da vasküler patolojilerin ortaya çıkması ile zararlı etkilerini göstermektedirler. Bu etkiler, damar duvarında bazal membran kalınlaşması, vasküler permeabilite artışı, endotelial disfonksiyon, artmış LDL, plak destabilizasyonunda artma, neointimal proliferasyon, protrombotik durumda artış, kan akışında azalma gibi vasküler bozukluklardan oluşmaktadır. Oksidatif stresin oluşumu ile de vazokonstriksiyon, inflamasyon ve protrombotik gen ekspresyonunu yönlendirirler (9,24, 34).

NF-kB ve Aktivatör Protein-1 transkripsiyon faktörlerinin AGE'lerle aktivasyonu, adezyon moleküllerinin, endotelin-1, inflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β ,IL-6, TNF- α) ve Plazmin Aktivator İnhibitörü-1 (PAI-1)'in ekspresyonlarının artmasına yol açar. Ayrıca AGE'ler prostasiklin ve nitrik oksit (NO) düzeylerini düşürürler. Bu da vazokonstriksiyon ile sonuçlanmaktadır. Astrositlerde ise AGE birikiminin RAGE ekspresyonunu arttırarak sitokin indüksiyonuna ve aşırı NO üretimine neden olarak oluşan nörotoksisitenin *Alzheimer* tipi demans ile ilişkili olabileceği önerilmiştir (46,60).

Yaşlanmada Protein Yapım-Yıkımı

Proteinler başta olmak üzere makromoleküler hasar yaşlanma sürecinde görülen hücrel dejenerasyonun en önemli nedeni olarak görülmektedir. Okside protein birikimi hücrel yaşlanmada yaygın olarak görülür. Değişime uğramış özellikle de okside olmuş proteinlerin yaşa bağlı olarak hücre içinde birikmelerinin en büyük nedeni yaşlanma ile proteozom aktivitesindeki düşüştür.

Yaşa bağlı proteozom aktivitesindeki bu düşüşün 3 mekanizma ile olduğu düşünülmektedir.

Bunlar;

- 1-Proteozom ekspresyonunda azalma
- 2-Proteozom subunitlerinde meydana gelen değişimler
- 3-Inhibitör etkili çapraz bağlı proteinlerin oluşumudur.

İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGEs)

Glikasyon, serbest *karbonil* grubu taşıyan bileşiklerin; protein, nükleik asit ve lipidlerin serbest *amino* grupları ile enzimatik olmayan bir şekilde reaksiyona girmeleri ile başlar. Aralarında oksidasyonun da yer aldığı ve reaktif oksijen türlerinin (ROT)'de olduğu erken glikasyon ürünleri, bir dizi geri dönüşümsüz reaksiyon ile ileri glikasyon son ürünlerine (AGE) dönüştürler (53).

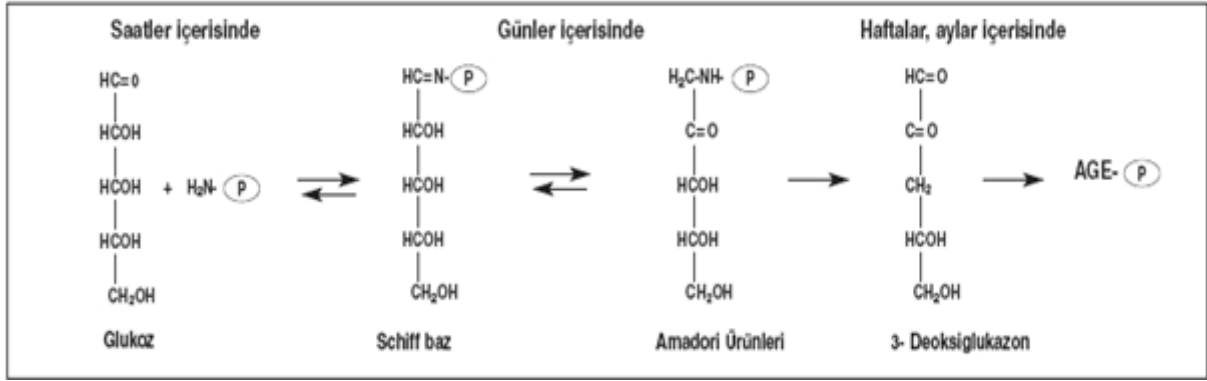
AGE oluşumu glukoz konsantrasyonuna ve maruz kalma süresine bağlıdır, doğrudan hipergliseminin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (10).

AGE'ler doku proteinleri, lipidler ve DNA ile çapraz bağ yaparlar ve biyokimyasal değişimlere neden olurken doku ve organlarda da hızlı ve artan bir şekilde birikerek nöropati, retinopati, nefropati ve bir makrovasküler hastalık olan ateroskleroz gibi diyabetik kronik komplikasyonların gelişiminde rol oynadıkları gösterilmiştir AGE'lerin inhibisyonlarının bu komplikasyonlar üzerinde olumlu etkiler yaptığı saptanmıştır (34,61).

İleri Glikasyon Son Ürünleri Oluşumu ve Biyokimyası

İndirgenmiş şekerlerin, aldehit ya da keton gibi *karbonil grupları* ile biyomoleküllerin *amino grupları* arasındaki reaksiyonla **Schiff-base** ürünleri oluşur. Saatler içerisinde oluşan bu geri dönüşümlü form daha sonra daha stabil olan ve **Amadori ürünleri** adı verilen forma dönüşür.

Enzimatik olmayan glikasyon, yirminci yüzyıl başlarında Fransız Kimyacı *Louis Camille Maillard* tarafından tarif edilmiştir. Bu yüzden **Maillard reaksiyonu** olarak ta bilinmektedir (9).



Şekil 1. Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu

* (Kaynaklar dizini 43)

Glikasyon hipotezine göre; AGE'lerin birikimi doku proteinlerinin yapısal özelliklerini değiştirir ve onları katabolizmaya duyarlılıklarını düşürür (22,61).

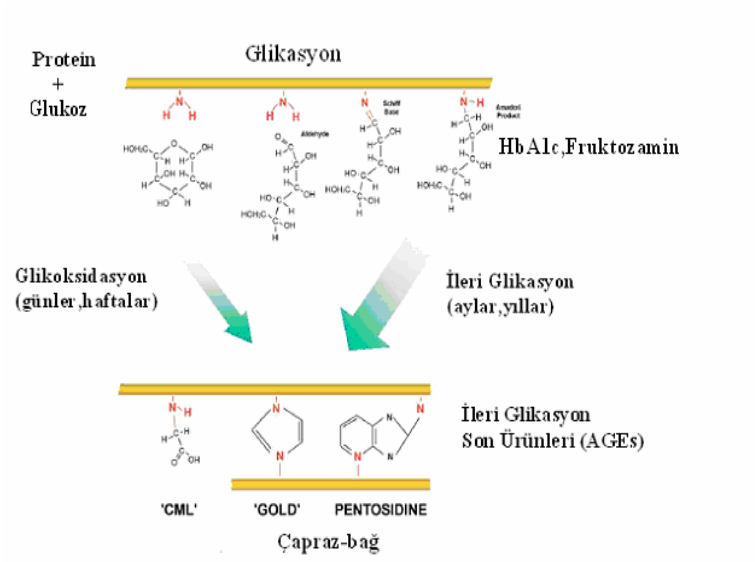
AGE oluşumu için glukoz, fruktoz, mannoz, riboz, galaktoz gibi şekerler gerekir. Glukoz, bu şekerlerin aksine yavaş glikasyon oranına sahiptir. Eğer glikasyona oksidasyon eşlik ederse glikoksidasyon ürünleri de oluşur. Pentosidin ve karboksimetillizin (KML) buna örnek verilebilir (9,43,59).

Şimdiye kadar dokularda en az bir düzine AGE'in biriktiği gösterilmiştir.

Nassar ve arkadaşları (2005) bilinen bu AGE'leri şu şekilde sınıflamaktadır:

1. **Floresan veren çapraz bağla oluşan AGE'ler:** örnek, pentosidin
2. **Floresan vermeyen çapraz bağla oluşan AGE'ler:** örnek, imidazolium dilizin bileşikleri (örn., gliyoksal lizin dimer (MOLD), alkil formil glikozil pirol (AFGP) ve arjinin-lisin imidazol (ALI) bileşikleri
3. **Çapraz bağla oluşmayan bileşikler:** Piralin ve KML

KML ve pentosidin diyabette ve de yaşlanmayla birlikte fazla miktarlarda deride ve lenste biriktiği bulunmuştur.



Şekil 2. İleri glikasyon son ürünlerinin (AGEs) oluşumu *

* (Kaynaklar dizini 8)

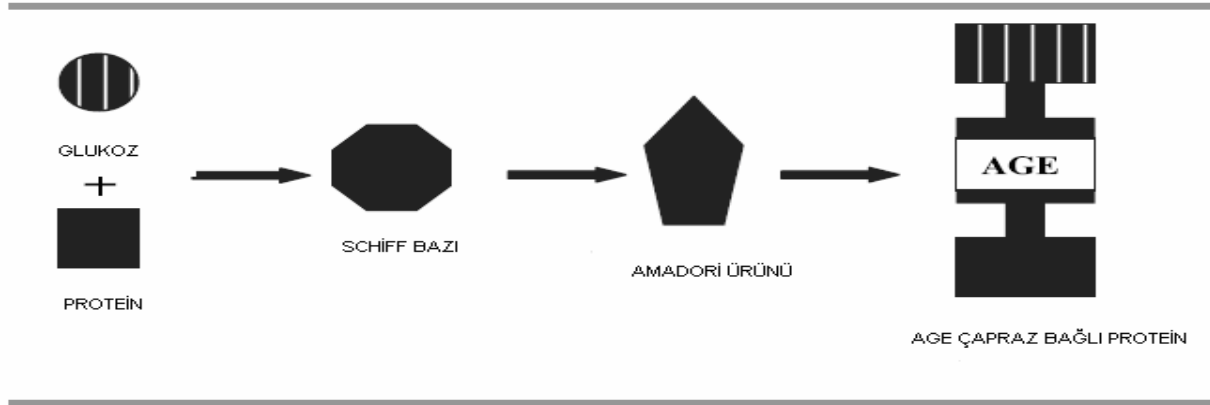
AGE'ler ve Çapraz Bağ Oluşumu

Yapılarındaki heterojeniteye rağmen AGE'lerin proteinler ile arasındaki reaksiyon ile ilgili genel kanı kovalent çapraz bağ oluşumudur (Şekil 3) (65).

Kollajen gibi uzun ömürlü ve stabil proteinler bu oluşumdan etkilenirler. Çapraz bağ oluşumunun altındaki kimya oldukça kompleksdir ve tam olarak anlaşılmış olmasa da lizin rezidülerinin bu oluşuma karıştığı düşünülmektedir (45).

Bu durum *fenazil tiazolyum bromür (PTB)* ajanı ile yapılan in vitro çalışmalarda iki lizin rezidüsü arasındaki çapraz bağı kırmasıyla desteklenmiştir. AGE'ler patolojik olarak çapraz bağ oluşumunu uyarır ve bu durum protein matriksindeki kalınlaşmanın artmasıyla sonuçlanır. Bu değişiklikler yaşla beraber artar ve diyabette hızlanır (59).

AGE'lerin dokularda birikimi ve aorta kalınlaşması arasında korelasyon gösterilmiştir. Ek olarak, spesifik antikorlar kullanılarak yapılmış *immunboyama* yöntem çalışmalarında diyabetik böbreklerde pentosidin ve pirlalin gibi AGE'lerin biriktiği gösterilmiştir. Fizyolojik olarak çapraz bağın oluşumu renal glomerül sklerozu, kapiller bazal membran kalınlaşması ve aterosklerozun gelişmesine neden olmaktadır (52).



Şekil 3.AGE -çapraz bağ oluşumu *

*(Kaynaklar dizini 65)

AGE Ürünleri

Bisimidazoliyum çapraz bağları

GOLD (glioksal-kaynaklı lizin dimer)

MOLD (metilglioksal-kaynaklı lizin dimer)

DOLD (3-deoksiglukozon-kaynaklı lizin dimer)

Hidroimidazolonlar

G-H (glioksal-kaynaklı hidroimidazolon)

MG-H (metilglioksal hidroimidazolon)

3D-H (3-deoksi-glukozon hidroimidazolon)

Monolizil Ürünleri

N⁺-karboksimetil-lizin (KML)

N⁺-karboksietil-lizin (KEL)

Piralin

Tablo 1. AGE ürünleri *

* (Kaynaklar dizini 1)

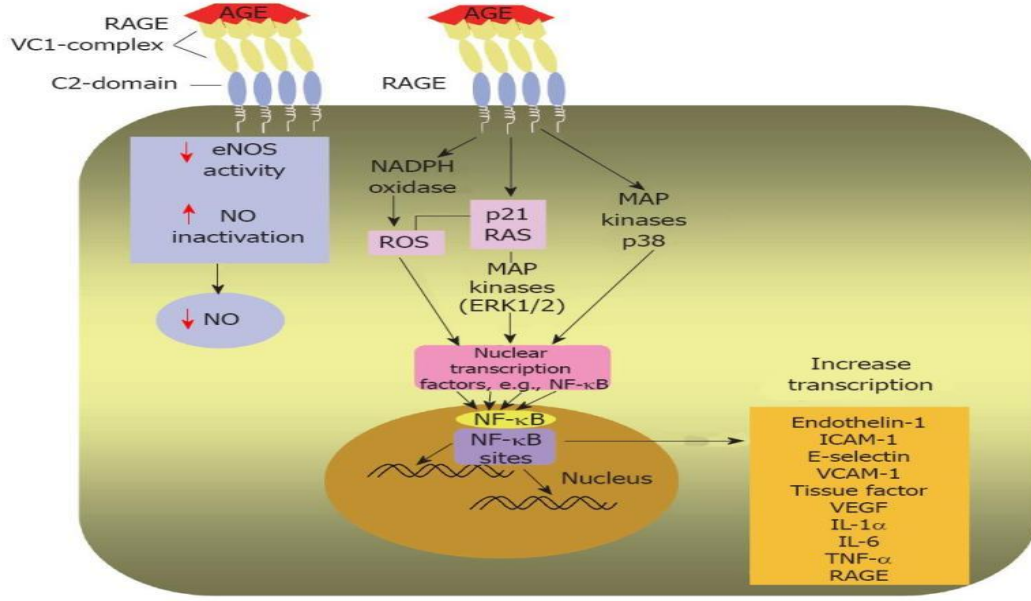
AGE Reseptörleri (RAGE)

Glikasyona uğramış proteinlerin hücre zarındaki reseptörleri, ilk kez 1992 yılında karboksimetilizin içeren proteinleri bağlayan membran reseptörleri olarak tanımlanmıştır. İleri glikasyon ürünleri etkilerinin önemli bir kısmını bu reseptörler aracılığıyla gösterir. RAGE; kromozom 6 üzerinde Major Histokompatibilite Kompleksi-III (MHC Class-III) bölgesinde kodlanmış immunglobulin ailesi üyesi bir reseptör kompleksidir (33,64).

AGE reseptörleri; amiloid beta peptit, beta yapıda fibriller, S100 proteinleri, yüksek mobiliteli grup protenleri (HMGB1), Mac-1 gibi çok sayıdaki biyolojik ligand tarafından aktive edilir.

Membran AGE reseptörlerinin immunoglobulinlerin C ve V bölgelerini içeren N-terminal bölgeleri, hidrofobik transmembran bölgeleri ile oldukça asidik yapıda olan ve hücre içine sinyal iletiminde rol alan sitoplazmik bölgeleri vardır. AGE reseptörlerinin çözünür olanları ise hücre dışında ve dolaşımında bulunan reseptörleridir. Bu reseptörler ya sentezlendikten sonra hücreden dışarıya salınan ya da membran reseptörlerinin transmembran ve sitoplazmik C-terminal bölgesi koparılmış formudur.

AGE reseptörlerinin varlığı en fazla akciğerde olmak üzere kulak, kalp, bağ dokusu, meme dokusu, lenf nodları, göz, prostat, timus, böbrek, testis, mide, pankreas, embriyonik doku, makrofajlar ve endotel hücrelerinde gösterilmiştir. Glikasyona uğramış proteinler veya biyolojik AGE reseptörleri ligandları hücre zarlarındaki reseptörlerine bağlandıktan sonra doğrudan veya dolaylı yollarla çok sayıdaki sinyal iletim yollarının aktivasyonuna neden olur. AGE reseptörlerinin ligandlarını bağlaması ile NF- κ B, AP-1, MAP kinaz, PI3-kinaz, Akt, Ras, Stat3, JAK ve PKA sinyal yolları aktive olur; inflamatuvar sitokinlerin ve proteazların sentezi indüklenir ve oksidatif strese artış görülür. AGE reseptörlerinin neden olduğu kronik inflamasyon nedeniyle, bu reseptörlerin aktivasyonu ile çok sayıdaki patolojik durum (kanser, ateroskleroz, periferel vasküler hastalık, myokard infarktüsü, pulmoner hastalıklar, konjestif kalp yetmezliği, diyabetik retinopati, diyabetik nöropati, diyabetik nefropati, Alzheimer hastalığı gibi) arasında ilişki vardır (16,50).



Şekil 4. AGE/RAGE bağlanması sonrası AGE'nin intrasellüler etkileri*

*(www.wjgnet.com)

AGE, RAGE ve Oksidatif Stres

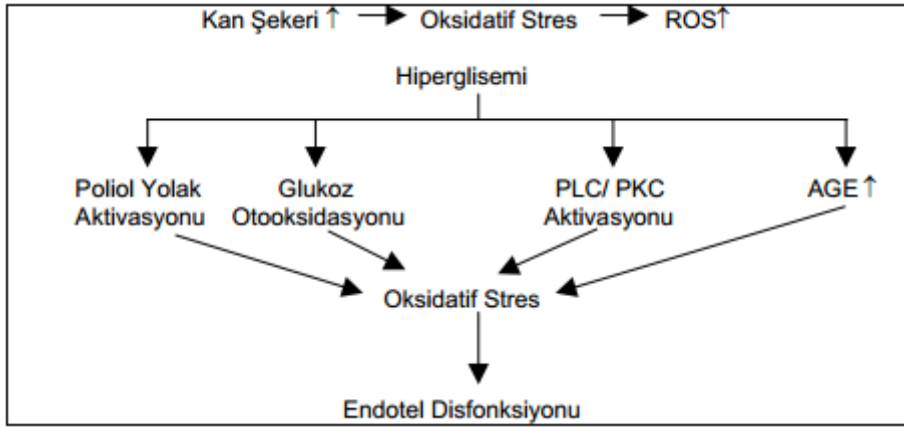
Hiperглиsemi, doku hasarını 5 major mekanizma ile gerçekleştirir. Bunlar;

- *Poliyol yolu üzerinden glikoz ve diğer şekerlerin çözülmesinin artması,
- *İleri glikasyon ürünlerinin (AGE-advanced glycation end products) intrasellüler artışı,
- *AGE ve onun ligandlarının artması için reseptör ekspresyonu artışı,
- *Protein kinaz-C izoformlarının aktivasyonu,
- *Heksozamin yolunun aşırı aktivasyonu,

Bu mekanizmalar mitokondrial aşırı yüklenme ve buna bağlı olarak oluşan serbest oksijen radikalleri ile açıklanmaktadır (27).

ROS üretimi için diğer bir kaynak AGE'lerin fazla miktarda oluşması ve metilglioksal üretimindeki artıştır. Çalışmalarda; AGE'lerin reseptör aracılı mekanizma ile serbest radikal üretimini uyarmasının yanı sıra, serbest radikallerin de hücre içi artışının AGE oluşumunu arttırdığını gösterilmiştir.

AGE-RAGE etkileşimleri sonucu serbest oksijen radikallerinin üretimini ve NF-κB nin aktivasyonunu hızlandırırlar. Böylece endotel disfonksiyona ve diğer vasküler hastalıklar oluşur. AGE-RAGE aracılı ROT üretimi ile NADPH oksidaz aktivasyonu endotel hücrelerinde ve makrofajlarda gen ekspresyonlarını değiştiren sinyal transdüksiyon yollarını etkilemektedir. Oksidatif stres ile bu yolların aktivasyonu sonucu vazokonstriksiyon, inflamasyon gelişmekte ve protrombotik gen ekspresyonu düzenlenmektedir (61).



Tablo 2. AGE ve Oksidatif Stres*

*(Kaynaklar dizini 47)

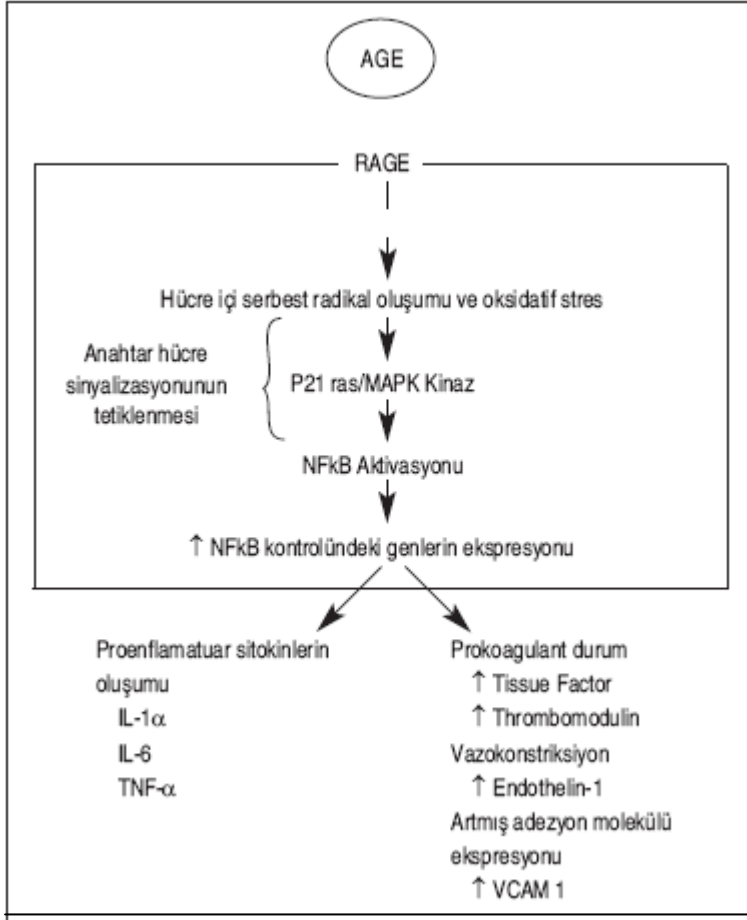
İleri Glikasyon Ürünlerinin Doku ve Hücre Düzeyinde Etkileri

1. Lipid peroksidasyonunda artış

Protein glikasyon ürünlerinin oksidatif yıkımı ve AGE reseptörleri aktivasyonunun indüklediği oksidatif stres oksijen radikallerinin yapımında artışa neden olur. Önemli antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz enzimi glikasyon sonucu inhibe olur. Oksidan koşullar ayrıca nitrik oksidin seviyesini azaltırken, endotelin-1 sentezini artırır. Bu etkiler hücre ve doku düzeyinde lipid peroksidasyonuna ve artmış vazokonstrüksiyona neden olur (53).

2.Hücresel aktivitelerin indüksiyonu

Proteinlerin glikasyonu ve AGE reseptörlerinin bu proteinler ile aktivasyonu VCAM-1, IL-1, TNF- α ve IGF-1A gibi sitokinlerin sentez ve salgılanmasını artırır. İnflamatuvar sitokinlerin artışına bağlı olarak mitogenez, mononükleer hücrelerin kemotaksisi, T-hücrelerin aktivasyonu ve gama-interferon yapımı artar. Hücrelerin bu şekilde istenmeyen uyarılmaları sonucu dokularda yeniden şekillenme ve bazal membranda kalınlaşma meydana gelir (53).



Tablo 3. RAGE bağımlı oksidatif stres indüksiyonu ve NFκB aktivasyonu*

*(Kaynaklar dizini 53)

3. Proteinlerde yapısal ve fonksiyonel değişimler

Proteinlerin glikasyonu, proteinlerin net yüklerini ve konformasyonlarını değiştirir, çapraz bağlanmaları sonucu oluşan protein agregatları proteazlara dirençli hale geldiklerinden yenilenmez. Hücre zarındaki ve hücre dışındaki matriks proteinlerinin glikasyonu hücre-matriks etkileşimlerini değiştirdiğinden, hücrelerin adezyon ve yayılma özelliklerini etkiler (53).

4.Tromboz ve fibrinoliz üzerine etkileri

Protein glikasyonu doku ile ilgili tromboz faktörlerini artırır, trombomodülin sentezini azaltır. Trombosit agregasyonunu artırır, serin proteaz inhibitörü PAI-1 sentezini artırdığından fibrin stabilizasyonuna neden olur. Trombositlerin yaşam süresi kısalır, yapışkanlıkları artar. Fibrin ve fibrinojenin plazmine duyarlılıkları azalır, antitrombin III'ün fonksiyonları baskılanır (35).

İleri Glikasyon Son ürünleri ve Patolojik Yeri

Nefropati

Nefropati bazal membran kalınlaşması, mezengiumda genişleme, glomerüler filtrasyonda azalma, albuminüri ve en sonunda böbrek yetmezliği ile karakterize bir tablodur. Hiperglisemi ve AGE artışı böbrekte podosit ve proksimal tübüler hücrelerinden TGF- β salınmasını artırmaktadır TGF- β ise ekstrasellüler matriks bileşenlerinden kollajenin sentezini uyarıp bazal membranın kalınlaşmasına yol açmaktadır. Yapısı bozulmuş olan membran plazma proteinlerinin de bu alanda sıkışmasına yol açarak filtrasyonun bozulmasına yol açmaktadır (46,55).

Retinopati

Retinopati görme kaybı ile sonuçlanan diyabetin ciddi komplikasyonlarından biridir. Kan damarlarında artmış proliferasyon, mikroanevrizma oluşumu, hemoraji ve infarktlarla karakterize bir tablodur. Diyabetik retinopatide en erken gözlenen patolojik değişiklik perisit kaybıdır ve AGE'ler AGE reseptörlerine sahip perisitlere toksiktir. Perisit kaybı ile beraber bazal membran kalınlaşması, hiperpermeabilite ve mikroanevrizma oluşumu gibi karakteristik değişiklikler gözlenmektedir (15,46).

Katarakt

Lens proteinlerinde AGE'lerin birikimi diyabette katarakt oluşum sürecinin hızlanmasına katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. Diyabetik hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda; pimagedine kullanımı lens proteinlerindeki AGE düzeylerini azaltmış ve katarakt oluşumunu tedavi edilmeyen diabetik hayvanlara kıyasla geciktirmiştir (42).

Nöropati

Nöropati, sinir sisteminde yavaşlama gibi fonksiyonel anormalliklere eşlik eden periferik sinirlerin segmental demiyelinizasyonu ve aksonal dejenerasyonu ile karakterize diyabetin komplikasyonlarından biridir. Diyabetik hastaların periferik sinirlerinde artmış AGE düzeyleri tespit edilmiştir. Diyabetik hayvan modellerinde AGE'nin sensorimotor sinir iletim hızını ve periferik sinirlere kan akımını azaltarak diyabetik nöropatiyi artırdığı gösterilmiştir. Diabetik sıçanlarda, pimagedine kullanımı, motor sinir iletim hızı eksikliğini önlemiş ve siyatik sinirlerde AGE birikimini azaltmıştır (44).

Ateroskleroz

Diyabette LDL'nin artmış glikasyonu LDL'nin reseptörü tarafından tanınmasını önler ve serum klirensini de azaltır. Glikasyona uğramış LDL makrofaj çöpçü reseptörleri tarafından alınır ve köpük hücresi oluşumuna sebep olur. LDL'nin aksine HDL'nin glikasyonu onun metabolizmasını artırır. Ayrıca arter duvarındaki kollajendeki artmış AGE oluşumu damar yapısındaki rijiditeyi artırarak ateroskleroz sürecine katkı sağlamaktadır.

FARMAKOLOJİK HEDEF OLARAK AGE'LER

AGE'lerin biyolojisi anlaşıldıkça yan etkilerine karşı inhibisyon stratejileri geliştirilmektedir. Bu yaklaşımlar:

- AGE'lerin oluşumlarının azaltılması ya da önlenmesi
- AGE çapraz bağının kırılması
- AGE-RAGE etkileşiminin önlenmesi

AGE yapımının inhibisyonu (*Aminoguanidin, OPB-9195, LR türevleri, pridoksamin*)

Çapraz bağ kırıcılar (*PTB, ALT-711, TRC4186, C36*)

RAGE blokajı (*sRAGE, RAGE antikorları*)

Eksojen AGE maruziyetinin azaltılması (*Beslenme alışkanlıklarında değişiklik, AST-120*)

Antioksidan aktivite ve/veya metal şelasyonu yapanlar (*aspirin, ibuprofen, indometazin, D-penisilamin, desferoksamin ve flavonoidler ve piaglitazon*)

Diğer yöntemler (*Aldoz redüktaz inhibitörleri, anjiyotensin reseptör blokerleri, metformin, tiamin ve benfotiamin*)

AGE inhibitörlerinin ve çapraz bağ kırıcılarının AGE-ilişkili patolojilerin tedavisinde farklı rollere sahiptirler. İnhibitörler AGE oluşum oranını azaltırlar fakat uzun ömürlü doku proteinleri üzerinde yeni oluşmuş AGE çapraz bağlarını geri döndüremezler. Çapraz bağ kırıcıları AGE çapraz bağlarını geri döndürebilirler fakat bunlar da AGE oluşumunu önleyemezler. Kombinasyon tedavisinin, inhibitör ve kırıcı ajanlar birlikte, ileri glikasyon ile sonuçlanan patolojik durumlarda en etkili terapötik yaklaşım olabileceği düşünülmektedir (41).

AGE Yapımının İnhibisyonu

Bu bileşikler AGE oluşum basamaklarını etkileyerek AGE oluşumunu azaltan bileşiklerdir.

Aminoguanidin

AGE yapımının inhibisyonu için kullanılan ilaçlar içerisinde ilk denenmeye başlanan bir nükleofilik hidrazin bileşiği olan aminoguanidindir (AG). AG, bir hidrazin (-NHNH₂) ve bir guanidin grubundan [-NH-C(=NH)] oluşur ve dikarbonil bileşikleri ve Amadori ürünleri gibi glukozdan türeyen ara ürünlerle reaksiyona girer ve AGE oluşumunu önler. Erken glikasyon ürünlerinin oluşumunu ise engellemez. Bunun yanında başta iNOS olmak üzere ve konsantrasyon arttıkça diğer NOS türlerini de inhibe etmektedir. Ayrıca yüksek dozlarda antioksidan özellik göstermektedir. Diyabetik hastalarda 1g/gün kullanımının serum kolesterol, trigliserid ve LDL-kolesterol düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (58).

Diyabetik sıçanlarda yapılan çalışmalarda, AG kullanımının retinal damarlardaki anormal hücre proliferasyonunu ve perisit kaybını önlediği ve sinir iletim hızındaki yavaşlamayı önlediği gösterilmiştir. Tip 1 diyabetiklerde yapılan çalışmada ise serum kreatinin düzeylerinde artış gözlenmesi sebebiyle çalışmalar sonlandırılmıştır. Tip 2 diyabetiklerde yapılan bir başka çalışmada da güvenlik endişeleri ve AG'in etkinliğinin görülmemesi sebebiyle sonlandırılmıştır. Glomerülonefrit, karaciğer fonksiyon testlerinde anormallikler, B6 vitamin eksikliği, nadiren vaskülit ve anemi gibi yan etkilerin gözlenmesi sebebiyle çalışmalar durdurulmuştur (28,51).

OPB-9195

Tiyazolidin türevidir. AG'den çok daha etkili dikarbonil bileşiklerini tutmaktadır. Yapılan çalışmalarda TGF- β ve VEGF ekspresyonunu azaltarak glomerüler sklerozu, glomerülde AGE birikimini ve albuminürüyi azalttığı gösterilmiştir (19).

Klinik çalışmalar ise OPB-9195'nin B6 vitamin eksikliğine yol açması sebebiyle durdurulmuştur (18).

LR Türevleri

AGE oluşumu ve glikasyonu inhibe eden 3 aromatik bileşik geliştirilmiştir. LR-90, LR-9, LR-74 birden fazla etkili olan glikasyon inhibitörleridir ve AG'den daha etkilidirler.

Diyabetik sıçanlarda membran kalınlaşmasını ve mezengial genişlemeyi önleyerek diyabetik nefropati gelişimi önlemede umut verici sonuçlar vermişlerdir. Ayrıca ekstrasellüler dokudaki kollajen içerisindeki protein çapraz bağları azalttığı görülmüştür. LR-9 ve LR-74'ün cilt kolajenindeki CML miktarlarını ve LDL oksidasyonunu azalttığı görülmüştür (51).

Pridoksamin

Vitamin B6 metabolizmasında rol oynayan pridoksamin Maillard reaksiyonu sırasında oluşan karbonil bileşiklerine bağlanır, AGE'lerin oluşumunu engeller. Aminoguanidinin tersine toksisitesi minimal düzeydedir. Sıçan modellerinde renal hipertrofiyi ve retinal lezyonları önleyip hiperlipidemiye azalttığı gösterilmiştir. Halen diyabetik komplikasyonlarda kullanılabilmesi için çalışmalar sürmektedir (20,24,56).

Çapraz Bağ Kırıcılar

AGE 'bağ' kırıcılar olarak adlandırılan ajanlar, AGE'leri parçalayarak böbrek ve karaciğerden temizlenmesini sağlayan bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Bu grup bileşikler oluşum inhibitörlerine göre daha avantajlı görünmektedirler.

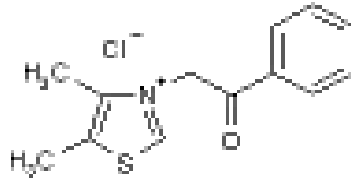
PTB

Çapraz bağ kırıcılar içerisinde ilk denenen bileşik Fenil-tiazolyum-bromür (PTB) dır. Bu bileşik, dikarboniller arasındaki karbon-karbon bağı kırarak alfa-karbonil bileşiklerini parçalar. Yapılan in vitro çalışmalarda AGE birikimini azalttığı gözlenmiş fakat proteinüri üzerinde ve ciltteki çapraz bağlı kollajenler üzerinde hiçbir etkisi görülmemiştir. Bu etkisizlik fizyolojik sıvılardaki dayanıksızlığından kaynaklanmaktadır. Çok kısa yarılanma ömrüne sahip olduğundan klinikte kullanılması mümkün görünmemektedir (24,62).

ALT-711

Yeni jenerasyon kırıcı, bir tiazolyum bileşiği olan ALT-711 daha sonra alegebrum klorür olarak adlandırılmıştır. Bu bileşik enzimatik özelliklere sahiptir ve çapraz bağlı proteinlerde oluşmuş olan kovalent bağları yıkarak proteinin serbest kalmasına ve normal fonksiyonlarını yürütmesini olanak sağlamaktadır. Proteinler tekrar çapraz bağlansa dahi alegebrum bu bağları tekrar tekrar kırmaktadır.

Kimyasal formülü $C_{13}H_{14}ClNOS$ dir.



Şekil 5. ALT-711 kimyasal yapısı

ALT-711 hipertansiyon ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklar için geliştirilmiş ve hayvan çalışmalarında büyük arterlerdeki rijiditeyi azalttığı, kardiyak outputu artırdığı, ateroskleroz gelişimini azalttığı gösterilmiştir (40,51).

Ayrıca STZ ile diyabet oluşturulmuş farelerde ALT-711 ile tedavi sonucunda RAGE ekspresyonunda, renal KML birikiminde ve TGF- β salınımında azalma tespit edilmiştir (49).

İnsanlarda güvenlik profili çok iyi görünen bu bileşik hakkında yapılan çalışmalara maddi yetersizliklerden dolayı 2009 yılının başında son verilmiştir. Klinik çalışma sonuçları bu bileşiğin AGE'lerin neden olduğu kardiyovasküler bozuklukların tedavisi için belki de ilk spesifik tedaviyi sağlayacak bir ajan olabileceğini gösterecektir (24,26).

TRC-4186

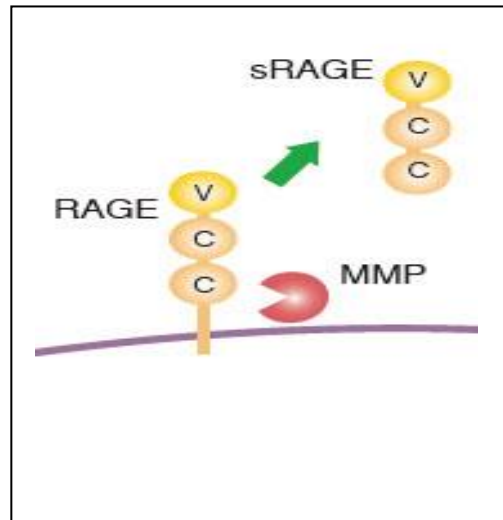
Bir klorür tuzudur. Yapılan çalışmalarda kardiyak disfonksiyon gelişimini yavaşlattığı ve renal disfonksiyonun şiddetini azalttığı bulunmuştur. Faz II aşamasındadır ve umut verici bir bileşiktir (36).

C36

Bir tiazolyum bileşiği olan C36'nın etkinliği ALT-711 ile aynı fakat LD50 değeri ise ALT-711'den çok daha düşüktür ve çalışmalar devam etmektedir (14).

RAGE Blokajı (Solubl RAGE, RAGE antikorları)

Solubl RAGE, RAGE'nin ekstrasellüler ligand bağlanma bölgesine sahip formudur. Soluble RAGE, hücrelerde AGE'leri bağlayarak reseptörlerine bağlanmalarını engellemektedirler. Böylece RAGE aracılı hücre aktivasyonunu önlemektedir.



Şekil 6. RAGE ve MMP ilişkisi *

*(ruo.mdl.co.jp)

sRAGE ile yapılan çalışmalarda, diyabetik hayvanlarda aterosklerozda görülen hızlanmış vasküler değişiklikleri baskıladığı görülmüştür. Ayrıca yine diyabette yara iyileşmesini hızlandırdığı, inflamatuvar hücrelerin migrasyonunu artırırken TNF- α , IL-6,

MMP-2,3,9 gibi sitokinlerin salınımını azalttığı görülmüştür. Bu bileşiklerin klinikte kullanılabilmesi için çok daha fazla çalışmaya gerek vardır (24,30).

Eksojen AGE maruziyetinin azaltılması (Beslenme alışkanlıklarında değişiklik, AST-120)

Besinlerde bulunan indirgeyici şekerler, proteinlerle ve amino grubu içeren diğer moleküllerle tepkimeye girebilir. Besinlerdeki şekerler ayrıca proteinlerle tepkimeye girmeden de kendiliğinden oksitlenerek ya da özellikle pişirilme sırasında parçalanarak aldehid ve ketonlar oluşturur. Oluşan aldehid ve ketonlar proteinlerle tepkimeye girerek glikasyon ara ürünleri ile glikasyon son ürünlerini oluşturur. Yapılan çalışmalarda özellikle yüksek sıcaklıkta pişirilmiş/kızartılmış yiyeceklerde yüksek konsantrasyonda bulunduğu gösterilmiştir (25).

Diyetle beraber alınan AGE'lerin absorpsiyonunun inhibisyonunda oral adsoban olan AST-120'nin kronik kullanılması kronik renal yetmezliğin ilerlemesini azaltmaktadır. Kronik renal yetmezliği olan non-diyabetik bireylerde AST-120 kullanımının bu bileşiğin CML'ye bağlanmasına ve AGE serum düzeyinin düşmesine yol açmıştır (63).

Antioksidan aktivite/metal şelasyonu yapanlar

Birçok in vitro çalışmada aspirin, ibuprofen, indometazin, D-penisilamin, desferoksamin ve flavonoidlerin kullanımının AGE oluşumunu inhibe ettiği gözlenmiştir. Olası mekanizma, oksidatif stresin bu ajanlar tarafından azaltılmasıdır. Diklofenak aynı zamanda erken glikasyon ürünlerini de inhibe etmektedir. Tiyazolidindion türevi piaglitazon ile yapılan in vitro çalışmalarda piaglitazonun dikarbonil bileşiklerini tuttuğu ve metal şelasyonu yaptığı görülmüştür (48).

Aldoz redüktaz inhibitörleri

Diyabete bağlı hiperglisemi durumunda fazla glukoz, aldoz redüktaz yolu aracılığı ile fruktoz oluşumu yolağına sapar ve glioksal, metilglioksal ve 3-deoksiglukozon türevlerine dönüşür. Diyabetik sıçanlarda epalrestat gibi aldoz redüktaz inhibitörleri (ARI) kullanımı, lenste pentosidin düzeylerini azaltırken ekstrasellüler matrikste çapraz bağlanmış AGE birikimini önlemiştir (51).

Anjiotensin Reseptör Blokerleri

Olmesartan (Anjiotensin II reseptör blokeri) ve Temocaprilat (Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü) kullanımının AGE düşürücü etki gösterdiği gözlenmiştir. Bu etkiyi, karbonil bileşikleri tutarak yaptığı düşünülmektedir (51).

Metformin

Biguanid bileşiğı ve insulin duyarlılaştırıcı antidiabetik ajan metformin'in Tip 2 diyabetlilerde kullanımının kandaki metilglioksal düzeylerini düşürdüğü gözlenmiştir (6).

Yapılan bir başka çalışmada ise, diyabet oluşturulmuş sıçan modelinde metformin kullanımının lens, siyatik, sinir ve renal kortekste artmış AGE düzeylerini azalttığı bulunmuştur. Uzun dönem etkinliğinin anlaşılması için daha fazla araştırmaya gerek vardır (51).

Benfotiamin

B1 vitamini türevi olup kullanımı transketolaz aktivitesini artırarak pentoz fosfat yolunu stimüle eder. Bu yolağın aktivasyonu vasküler hasardan sorumlu tutulan hekzoamin yolağı, hücre içi AGE oluşum yolu ve DAG/Protein kinaz C yolaklarının etkilerinin azalmasına yol açar (31).

KAN DAMARLARININ GENEL YAPISI

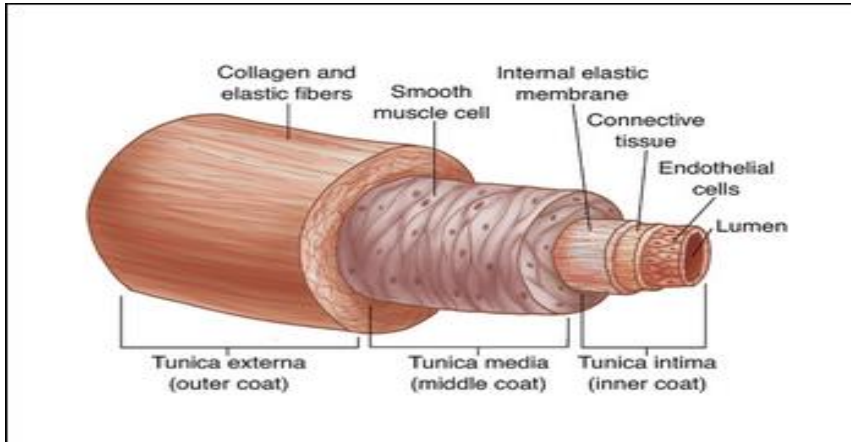
Damarların Yapısal Özellikleri

Damar duvarı birbirini saran 3 ayrı tabakadan oluşur.

En içteki tabaka *Tunica intima* olup bu tabaka tek katlı yassı squamöz endotelial hücrelerden oluşur. Tüp şeklinde uzanan lümeni kaplarlar ve alttaki subendotelial bağ dokusu ile ilişki halindedir.

Orta tabaka *Tunica media*, lümeni saran düz kas hücrelerinden, yoğun elastik liflerden, tip III kollajenden ve proteoglikandan oluşur.

En dış tabaka *Tunica adventisya* ise başlıca fibroelastik bağ dokusundan oluşmuştur.



Şekil 7. Damar Yapısı *

*www.studyblue.com

ARTERLERİN SINIFLANDIRILMASI

1-Elastik Arterler

Aort ve büyük dallarından common carotid, subklavian, common iliak ve pulmoner arter elastik arter tiptedir.

Elastik arterlerin endotelleri altında ince bir bağ dokusu ile desteklenmiş olup, bu bağ dokusunda az sayıda fibroblast ve düz kas hücresi, az miktarda da kollajen bulunur.

Endotelyal hücreler, birbirleri ile sıkı ve boşluksuz bağlantılar yaparlar ve membranlarında küçük veziküller mevcuttur. Bunların su, makromolekül ve elektrolit transportunda rolleri vardır. Endotelyal hücreler Weibel-Palade cisimcikleri taşırlar, bunlar glikoprotein yapısında von-Willebrand içeren tübüler yapıların bulunduğu yoğun matriks içerikli, membrana bağlı cisimciklerdir.

Elastik arterlerdeki tunica media elastinden oluşan çok sayıda pencereci lameler yapıya sahiptir. Düz kas hücrelerinin sirküler yerleşimini ve gerektiğinde değişimi tolere edebilecek esnekliği damar yapısına kazandırır (54).

2-Arteriyoller

Çapı 0.1 mm den daha az olan yapılardır. Endotel tip III kollajen ve az sayıda elastik lif ile desteklenmiş subendotelyal tabaka üzerine oturmuştur. İnternal elastik laminaları yoktur, endotelyal hücreleri tümüyle çevreleyen tek katlı düz hücre tabakasından ibaret tunica media vardır (54).

NORMAL ENDOTEL FONKSİYONU

Endotelyum, vasküler tonusu, hücre çoğalmasını, trombositlerin ve lökositlerin damar duvarı ile etkileşimini düzenleyen, tromboregülatör molekülleri ve büyüme faktörlerini sentezleyebilen, fiziksel ve kimyasal uyarılara yanıt verebilen vasküler düz kas ile damar lümeni arasında uzanan bazal membran üzerinde yerleşmiş tek sıralı yassı epitelyum hücrelerden oluşan bir dokudur (2).

Endotelin Fizyolojik Anatomisi

Endotel tabakası, 10-15 µm genişliğinde, uzamış nükleuslardan oluşup kan ile dokular arasında selektif bir bariyer oluşturur. Gaz geçirgenliği fazla olan bu katmanın sıvı geçirgenliği azdır. Fizyolojik koşullarda solunum gazları, su, glukoz, yağ asitleri, aminoasitler ve aterojenik olmayan küçük lipoprotein molekülleri arter endotelinden geçerler (2).

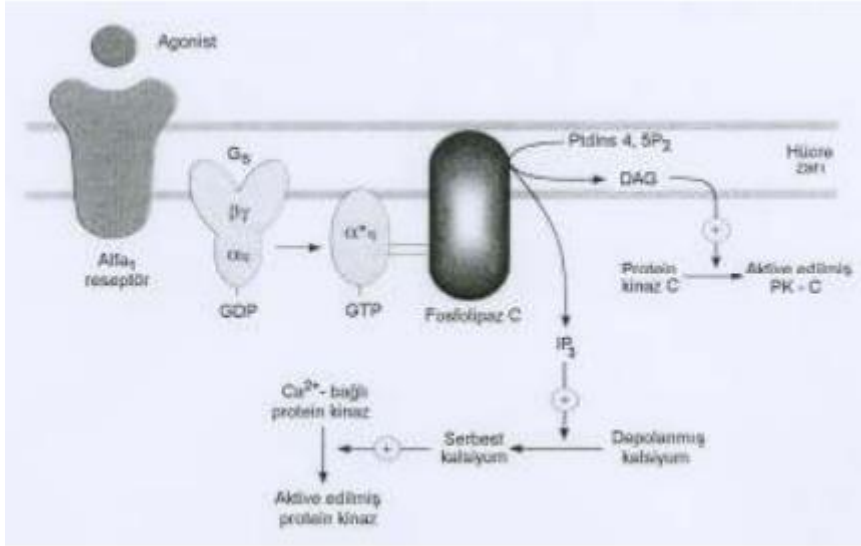
Endoteldeki İyon Kanalları

Tüm hücrelerin işlevleri hücrel iyon değişimleri ile tetiklenmektedir. Bu işlevlerde en önemli tetikleyici temel iyon sekonder haberci olarak bilinen, Ca^{+2} iyonudur (54).

Hücrenin işlevini etkileyen hücre içi serbest Ca^{+2} iyon artışı iki yolla oluşmaktadır:

**Hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyumun salınması*

**Hücre dışından hücre içine kalsiyum girişi*



Şekil 8. Reseptör agonist etkileşmesi ile hücre içi kalsiyum salınım mekanizması*

*(Kaynaklar dizini 23)

Kalsiyumun hücre içi depolardan salınmasında *kalsiyum ve inositol trifosfat (İP3)* önemli rol oynamaktadır. Hücre membranında bulunan reseptörlere agonistlerin bağlanması ile aktive olan G_s proteininin stimüle ettiği fosfolipaz C (PLC), membran fosfolipitlerinde IP_3 ve DAG Fosfatidilinositol 4,5-bifosfat ve DAG, protein kinaz C (PKC) yi aktive ederek bir seri fosforilasyon ve bunu izleyen aktivasyon ve inaktivasyona sebep olurken; IP_3 hücre içi depolardan Ca^{+2} salınımını sağlamaktadır. Hücre içi artan serbest Ca^{+2} un tetiklediği kalsiyum salınımı, pozitif geri besleme mekanizması olarak iş görmektedir (54).

Hücre içi depolara Ca^{+2} girişi yani sitozolden Ca^{+2} un uzaklaştırılması üç yolla olmaktadır:

1-ER membranındaki Ca^{+2} -ATPaz enzim aktivitesinin artmasıyla ER'a Ca^{+2} alımının artması

2-Hücre membranındaki Ca^{+2} -ATPaz yardımıyla hücre dışına Ca^{+2} atılması

3- Na^+ - Ca^+ değişimi

Endotel hücresi, aksiyon potansiyeli oluşturamaması nedeniyle *uyarılamayan (non-ekstabl)* hücre grubuna girer. Endotel hücresinin membran potansiyeli, Ca^+ girişi ile ilişkisi

olan *uyarılabılır (ekstabl)* hücrelerin aksine bir durum oluşturmaktadır. Endotel hücresinde membran potansiyelini düzenleyen Ca^{+} iyon kanalları, Ca^{+} girişinde ve dolayısıyla hücre işlevlerinde hayati öneme sahiptirler (23).

Endotel Membran Potansiyeli

Kalsiyum ve Kalsiyum Kanalları

Kalsiyumun damar üzerine etkileri

Vasküler düz kas kontraksiyonundan üç mekanizma sorumludur:

1-Membran depolarizasyonuna cevap olarak voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının açılması ve Ca^{+2} un hücre içine girmesidir.

2-Membranda bir depolarizasyon olmaksızın agonist indüklü kontraksiyon oluşumudur. Membrandaki inositol trifosfatın (IP_3) fosfatidilinositole hidrolizi ikinci haberci gibi davranarak SR dan Ca^{+2} serbestleşmesine yol açarak intrasellüler Ca^{+2} düzeyini yükseltir ve aynı zamanda ekstrasellüler Ca^{+2} un hücre içine akışını da artırır.

3-Reseptör stimülasyonu ile reseptör kontrolünde olan kalsiyum kanalları aracılığı ile Ca^{+2} un hücre içine hareketidir. Sonuçta sitozolik Ca^{+2} un artışı ile Ca^{+2} kalmodüline bağlanır. Bu oluşan kompleks miyozin hafif zinciri aktifler. Böylece miyozinin hafif zinciri fosforlanarak aktin ve miyozinin bağlantısı kurulup düz kas kontraksiyon oluşur (54).

Kalsiyumun kardiyak etkileri

Eksitasyon-Kontraksiyon keneti damardan farklılık göstermektedir. Na^+ un hücre içine akışını sağlayan kanal ve sonrasında Ca^{+2} un hücre içine akışını sağlayan yavaş kalsiyum kanal aktivitesi, vardır. Özellikle SA ve AV nodlardaki depolarizasyon Ca^{+2} un yavaş kanallar boyunca akışına bağlıdır. Kardiyak miyositlerde ise Ca^{+2} troponine bağlanarak onun inhibitör etkinliğini engellemiş olur. Bundan dolayı KKB nin (-) inotropik aktivitesi mevcuttur (54).

Düz Kasta Kalsiyum Hareketleri

Hücrenin içinde bulunduğu ortam uyaranlarına karşı gelişen düz kas kontraksiyonunda, sitozolik Ca^{+2} seviyelerinin ve hücre içi kontraktıl elementlerin Ca^{+2} duyarlılığı temel mekanizmayı oluşturur.

Ca^{+2} içeriğinin değişiminde birinci basamak, nörotransmitter ve hormonların spesifik reseptörlerine bağlanmasıdır. Bu basamak Ca^{+2} 'un hücre içine akışındaki major yoldur ve voltaj bağımlı L-tipi kalsiyum kanalları, non-selektif katyon kanalları, Ca^{+2} un hücre içine akış sonrası aktifleşen Ca^{+2} salınımı ve $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{+2}$ değişiminin aktivasyonu gibi yolları içerir. Ca^{+2} un SR dan salınımı da hücre içi Ca^{+2} düzeyini artırır. Ca^{+2} un hücre içi düzeyinin azalmasında SR'da Ca^{+2} un depolanması, membran kalsiyum pompası ile dışarı Ca^{+2} atılımı ve $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{+2}$ değişimi rol alır. Hücre içi ikincil habercilerden IP_3 , DAG, cAMP ve cGMP'de bu mekanizmaları etkileyerek Ca^{+2} un hücre içi konsantrasyonunu değiştirir (54).

Ca^{+2} un sitoplazmada düzenli bir dağılımı söz konusu değildir. Sitozolik kompartmanlardaki Ca^{+2} kontraktıl elementleri düzenlerken, daha alt düzeyde hücre içi kompartmanlarında da iyon kanallarını, iyon pompasını ve enzimleri düzenler (54).

Düz kasta miyozinin hafif zincir aktivitesindeki değişimler; Ca^{+2} ve kalmodulin ile aktiflenerek miyozinin hafif zincirinin fosforillenmesini sağlar. Fosforillenmiş miyozin, aktin ile etkileşerek kontraksiyonu başlatır. MLC'nin defosforillenmesini sağlayan MLC fosfataz ile MLC kinaz arasındaki denge kontraksiyonda çok önemlidir. cAMP ve cGMP MLC

kinaz/MLC fosfataz aktivitesini değiştirerek gevşemeyi sağlar. Agonistlerin ve ikincil habercilerin de bu dengeyi değiştirdiği bilinmektedir.

Bolton ve Breemen 1979 yılında düz kaslarda hücre içine Ca^{+2} akışını iki farklı mekanizma ile açıklamışlardır. Bunlar voltaj ve reseptör bağımlı kanallardır. Yüksek K^{+} un indüklediği depolarizasyon sonrası voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının açılması verapamil, nifedipin gibi ajanlarla bloke edilebilmektedir. Buna karşın adrenalin Ca^{+2} un depo kompartmanlardan salınmasını ve eř zamanlı reseptör bağlantılı kalsiyum kanallarının açılmasını sağlar. Bu iki kanalın açılması ile Ca^{+2} un hücre içine akışı ve kontraksiyonun devamlılığı sağlanır (54).

İntrasellüler Kalsiyum Konsantrasyonunun Ayarlanması

Çeşitli iyon pompaları, kanallar ve iyon değiştirici mekanizmalarla direkt olarak intrasellüler Ca^{+2} düzeyi değiştirilir. Birçok ajan bu mekanizmaları etkiler. Dinlenme halinde sitoplazmik serbest Ca^{+2} miktarı 100 nM'ın altında olup bu değer hücre dışı 1mM seviye ile kıyaslandığında çok düşüktür. Stimölasyon sonrası sitoplazmadaki serbest Ca^{+2} miktarı 1 μ M'ın üzerinde çok yüksek bir değere tırmanır. Bu olay hücre zarı, sarkoplazmik zar ve endoplazmik zarlardaki kanalların açılması sırasında oluşur. Stimölasyon sona erince ATP-bağımlı iyon kanalları ve Na^{+}/Ca^{+2} değiştirici pompalar ile dinlenme halindeki kalsiyum seviyeleri oluşturulur (54).

Kalsiyum Kanalları ve Bloke Edilmeleri

Hücre dışında hücre içine oranla çok yüksek konsantrasyonda Ca^{+2} bulunmasına rağmen istirahat halinde eksitabl hücreler Ca^{+2} a geçirgen değildir. Eksitasyon esnasında voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının açılması ile Ca^{+2} hücre içine konsantrasyon gradyentine bağlı olarak pasif şekilde girer. Ayrıca membrandaki Na^{+}/Ca^{+2} değiş tokuş mekanizması da Ca^{+2} un hücre girişine katkıda bulunur. Na^{+} ve Ca^{+2} 'un gradyentine göre Ca^{+2} bu yolla dışarı da atılabilir. Bunun yanında Ca^{+2} un sitotoksik etkilerini önlemek için membranal Ca^{+2}/Mg^{+2}

ATPaz pompası ile Ca^{+2} hücre dışına pompalanır ve endoplazmik sarkotübüler kalsiyum pompası ile Ca^{+2} sitoplazmadaki SR'da depolanır. Hücre içine giren Ca^{+2} sarkoplazmik depodan ve sitoplazma membranının iç yüzündeki Ca^{+2} havuzundan Ca^{+2} salınımına neden olur, böylece eksitasyon esnasında Ca^{+2} 'un hücre içi düzeyi ileri derecede artar ve eksitasyon-kontraksiyon keneti aktiflenir. Sinir ve çizgili kaslarda depolarizasyondan sorumlu ana katyon Na^{+} iken damarda Ca^{+2} 'dur. Damar düz kasında ve kalpte bu kenette hücre membranından kalsiyum geçişinde iki önemli kanal vardır. Bunlar; voltaja duyarlı kalsiyum kanalları ve reseptör bağımlı kalsiyum kanallarıdır (54).

Kalsiyum regülasyonun moleküler temelleri:

Hücre zarındaki Ca^{+2} kanalları, ekstrasellüler Ca^{+2} 'un hücreye alınmasında 3 ana giriş yolunu oluştururlar.

1-Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları

L, T, N, P tipleri mevcuttur.

-L-tipi kanallar: Yüksek kondüktansa sahip, inaktivasyonu yavaş, Ca^{+2} serbestleşmesini artırıcı ve kalsiyum kanal blokörlerine duyarlı kanallardır. KVS de yaygın olarak bulunurlar ve AP'nin plato fazından sorumludurlar.

-T-tipi kanallar: Yapısal olarak L-tipi kanallara benzerler, inaktivasyonları hızlıdır. Kardiyak pace-maker aktivitesinden, kardiyovasküler büyümenin düzenlenmesinden, vasküler düz kaslarda kontraksiyonun şiddetlenmesinden sorumludurlar. Mibefradil dışında diğer kanal blokörlerine pek duyarlı değildir.

-N-tipi kanallar

-P-tipi kanallar

2-Reseptöre bağımlı kalsiyum kanalları

Bunlar hücre membranında özel bir G proteini aracılığı ile bir reseptöre kenetlenmiş olarak bulunan ve reseptörün aktivasyonu ile açılan kanallardır (54).

3-Baskı-gerim aracılı zayıf kalsiyum kanalları

Vasküler düz kas tonusunun devamından sorumludurlar, klasik kalsiyum kanal blokörlerine duyarlı değildirler.

Kalsiyumun hücre dışına çıkışından sorumlu moleküler yapılar

-Kalsiyum pompaları (ATPazlar): Bunlar büyük gradientlere karşı Ca^{+2} 'u dışarı atan yapılardır. Bu enzimin bazı formları kalmodulin bağımlıdır.

- Na^+/Ca^{+2} değiştiriciler (3 $Na^+/1 Ca^{+2}$): Myokarddaki sitoplazmik Ca^{+2} 'un uzaklaştırılmasından sorumlu ana mekanizmadır. Buradaki Ca^{+2} çıkışının hızı hücre zarı Na^+ gradientine bağlıdır (54).

KALSİYUM KANAL BLOKÖRLERİNİN ÖZELLİKLERİ

Kalsiyum kanal blokörlerinin sınıflandırılması

1-Benzotiazepinler: Diltiazem

2-Dihidropiridinler: Nikardipin, nifedipini nimodipin, amlodipin ve diğerleri

3-Fenilalkileminler: Verapamil

4-Diarilaminopropilamin eterler: Bepridil

5-Benzimidazol-substitue tetralinler: Mibefradil (54)

Damar Gevşetici Etki

Vazomotor tonusun kontrolü

Endotelial doku prostasiklin, NO (EDRF), endotelinler, endotel hücre büyüme faktörleri, interlökinler, plazminojen inhibitörler ve von Willebrand faktör gibi maddeler salgılar. Bu genel fonksiyonlara ilave olarak endotelial doku, akciğerlerde gaz değiş-tokuşu, kalpte miyokardiyal fonksiyonun kontrolü, karaciğer ve dalakta fagositozis gibi farklılaşmış organ spesifik rollere de sahiptir (2).

ENDOTELDEN SALINAN MEDİYATÖRLER

Vazodilatör mediyatörler

Adenozin

Nitrik oksit

Endotel Kaynaklı Relaksasyon Faktör (EKRF)

Prostasiklin (PGI₂)

Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EKHF)

Vazokonstrüktör mediyatörler

Endotelin-1 (ET-1)

Anjiotensin II

Endotel Kaynaklı Konstrüktör Faktör (EKKF)

Platelet Aktive Edici Faktör (PAF)

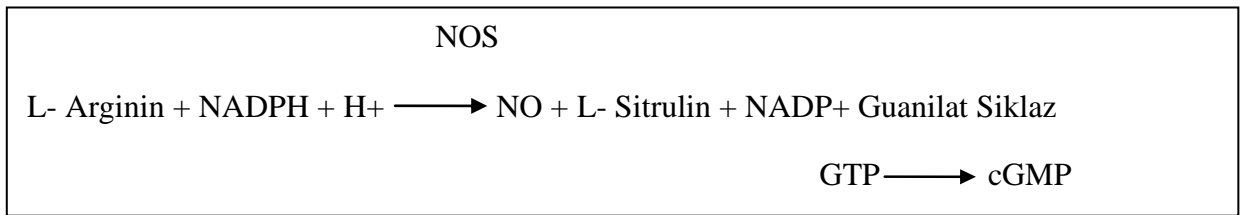
Tablo 4. Endotelden salınan mediyatörler*

*(Kaynaklar dizini 2)

Nitrik Oksit (NO)

Furchgott ve Zawadzki asetilkolinin in vitro ortamda damar gevşemesi üzerine etkilerini inceledikleri araştırmada; damar gevşetici özelliği ile bilinen asetikolinin, endotel tabakaları sıyrılan damarlarda tam tersi bir etkiye yol açarak konstriksiyona neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda, damar gevşemesine neden olan asetilkolinin endotel hücrelerinden EKRF (Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör) adını verdikleri bir aracı maddenin salınımına neden olduğunu ve bu aracının damar düz kas hücrelerinde guanilil siklaz enzimini etkin hale getirerek cGMP miktarında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Devam eden araştırmalar ile EDRF'nin NO olduğu belirlenmiştir (11).

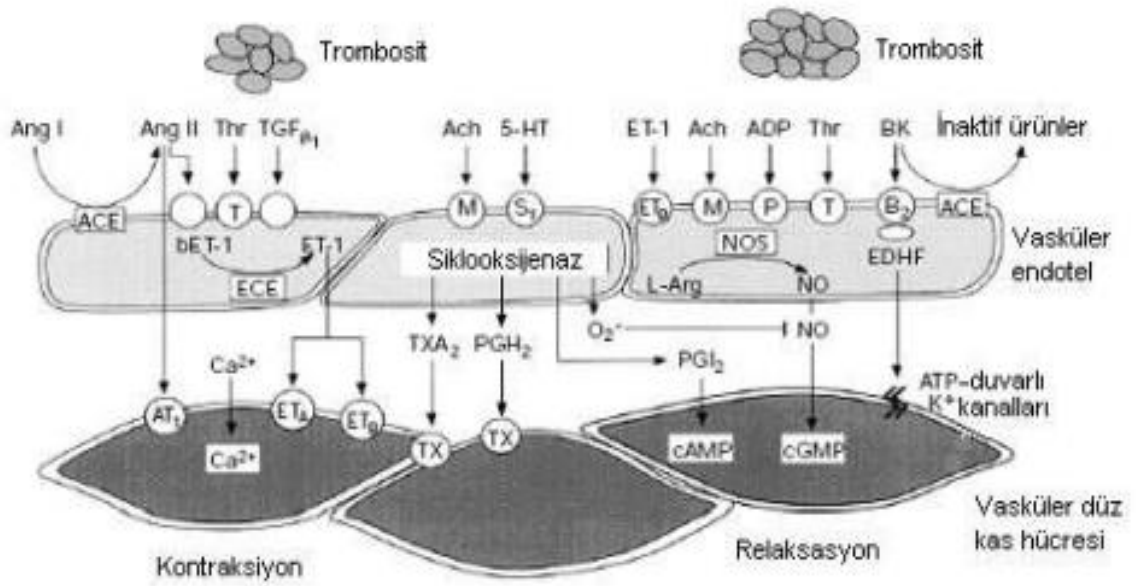
Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak da bilinen nitrik oksit eşleşmemiş bir elektron taşıyan yüksüz bir moleküldür. Bu özelliği sayesinde membranlardan kolayca geçer ve eşleşmemiş bir elektrona sahip olması nedeniyle hızlı reaksiyona girer. Yarı ömrü 20-30 sn dir. EDRF'nin etken maddesinin NO olduğunun gösterilmesinden sonra endotel hücrelerinde L-arginin nitrik oksit yolu bulunmuştur. L-arginin nitrik oksit sentaz (NO sentaz) enzimi tarafından oksidasyonu sonucunda L-sitrulin ve NO oluşmaktadır (11).



Tablo 5. Nitrik Oksit Sentezi*

*(Kaynaklar dizini 2)

Nitrik oksit damarlarda düz kas hücresi içinde guanil siklazı etkinleştirerek guanosin trifosfattan 3-5 siklik guanosin monofosfat (c-GMP) oluşmasına yol açar. Daha sonra sırasıyla intrasellüler kalsiyum ve miyozin hafif zincirlerinin defosforilasyonu azalır ve *vazodilatasyon* gerçekleşir.



Şekil 9. Endotelden salınan vazoaktif mediyatörler

Endotel hücrelerinden NO salınımı bazal olarak devam ettiği gibi, akım kuvveti, kan basıncı, damar gerilimindeki değişimler ve vazokonstrüktör uyarılı çeşitli ajanlara karşı da oluşmakta ve özellikle endoteli sağlam koroner arterlerde bu faktörlere karşı koruyucu bir denge mekanizması olarak gösterilmektedir (2).

Prostasiklin (PGI₂)

Prostasiklin endotelin trombin, bradikinin, histamin, HDL, ADP, ATP, kalsiyum ionofor A23187, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, hipoksi ve hemodinamik streslerle olan uyarılara karşı araşidonik asitten oluşan vazodilatör bir maddedir (20).

PGI₂ araşidonik asitten sentezlenir. Yarılanma süresi 10 sn'dir. Prostasiklinin intrasellüler etki mekanizması siklik adenozin monofosfat üzerinden olmakta ve NO ile aditif etki gösterebilmektedir (2).

Pulsatil basınç, bradikinin, trombin, serotonin ve trombosit kökenli büyüme faktörü PGI₂ salınımını uyaran faktörlerdir. Prostasikline bağlı koroner vazodilatasyon NO eksikliği olan ortamda önemli bir kompensatuar mekanizma olarak rol oynar. Bu yüzden fizyolojik şartlarda prostasiklin üretimi düşük düzeyde olmasına rağmen ateroskleroz varlığında üretimi artmıştır.

Adenozin

Adenin nükleozit (adenozin) ve nükleotidler (ATP ve ADP) akım artışı ve trombus gibi uyarılarla endotelial dokudan salgılanırlar.

Adenozinin hem endotel hücrelerinde hem de düz kas hücrelerinde P₂ reseptörü vardır. Endoteldeki P₂ reseptörün uyarılması EDRF/prostasiklin üretimi ve vazodilatasyon, düz kastaki P₂ reseptörün uyarılması ise vazokonstriksiyon ile sonuçlanır. Adenozinin düz kaslardaki P₁ reseptörlere bağlanması cAMP üretimiyle sonuçlanır ve vazodilatasyon oluşur.

Koroner kan akımı artışı ve miyokardiyal oksijen arz-talep arası dengesizlik durumunda adenozin üretiminde artış meydana gelir (2).

Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EKHF)

NO ve PGI₂ dışında endotel kaynaklı vazodilatör faktör ilk olarak insan mezenterik arterinde tanımlanmıştır. Bu vazodilatör yanıtın potasyum kanallarının inhibisyonuyla ortadan kalktığı gösterilmiştir.

Düz kaslardaki K⁺ kanallarının açılması ile hücre dışına K⁺ çıkması sonucu hücrenin hiperpolarize olması ve bunun sonucunda da voltaj bağımlı Ca⁺⁺ kapanması ile hücre içine Ca⁺⁺ akışının durmasından kaynaklanır.

EKHF nin küçük damarlar üzerine olan etkisi, büyük damarlardan daha fazladır. Bunun tersine NO in büyük damarlar üzerine etkisi belirgindir. Bu, küçük damarlarda NOS aktivitesinin küçük damarlarda daha az olması ile uyumludur (2).

Vazokonstriktör Mediyatörler

Endotelin

Endotelin-1 (ET-1), 21 aminoasitli peptid olup endotel hücrelerinden salınır ve bilinen en güçlü vazokonstriktör ajandır. ET-1 sentezi *preproendotelin* denen öncü bir molekülden sentezlenir ve daha sonra endotelin dönüştürücü enzim vasıtasıyla aktif ET-1 e dönüşür (2).

NO'un tersine ET-1 bağımlı konstriksiyon yavaş başlangıçlıdır, saatler hatta günlerce devam eder. Düz kas hücre proliferasyonunu uyarır, vasküler yeniden yapılanma ve lökosit adhezyonuna katkıda bulunur. Böylece inflamasyon ve aterogenezde önemli rol oynar (2).

GEREÇ ve YÖNTEM

Gereç

Deneylerde kullanılan hayvanlar

Deneylerde yaklaşık 250-300 g ağırlığında yetişkin erkek 40 adet Sprague-Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Etik kurul kararı 10.10.2013 tarihinde 347-1 nolu kararla alınmıştır. Sıçanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, 24 ± 1 °C sıcaklıkta iyi havalandırılan odalarda barındırıldı, standart hayvan yemi ve çeşme suyu ile beslenmeleri sağlandı. Tez çalışması süresince gerçekleştirilen tüm deneyler, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Komisyonu'ndan onay alındıktan sonra yapıldı.

Deneylerde kullanılan kimyasal madde ve çözeltiler

Alagebrium	East-Sunglow
KCl	Riedel-de Haen
NaCl	Riedel-de Haen
MgSO ₄	Merck
Na ₂ HPO ₄	Merck
Glukoz	Merck
NaHCO ₃	Sigma
CaCl ₂	Riedel-de Haen
Fenilefrin	Sigma
Asetilkolin	Sigma

Propranolol	Sigma
L-NAME	Sigma
Metoprolol	Astra Zeneca
İndometazin	Deva Holding
BAYK	Sigma
TEA	Sigma

Deneylerde kullanılan cihazlar

Miyograf sistemi	DMT Model 610
Mikroskop	Olympus S261
Veri toplama sistemi	Biopac Systems MP150
Işık Mikroskopi	Olympus BH-2
Dijital Kamera	Olympus DP-70

Yöntem

Deneylerde kullanılan çözeltiler ve konsantrasyonları

Krebs Henseleit Çözeltisi: NaCl 13.8 g, KCl 0.70 g, CaCl₂ 0.58g, MgCl₂ 0.48 g, KH₂PO₄ 0.32g, NaHCO₃ 4,2g ve D glükoz 4 g tartılıp 2 L'ye distile su ile tamamlandı.

60 mM KCl'li Krebs Henseleit Çözeltisi: NaCl 3.45 g, KCl 4.2 g, CaCl₂ 0.29 g, MgCl₂ 0.24 g, KH₂PO₄ 0.16 g, NaHCO₃ 2.1 g ve D glukoz 2g tartılıp 1L'ye distile su ile tamamlandı.

KCl	60mM, 90mM, 120mM
Fenilefrin (PE)	10^{-5} M
Asetilkolin (ACh)	10^{-6} M- 10^{-3} M
Propranolol	10^{-4} M
L-NAME	10^{-4} M
Metoprolol	10^{-4} M
İndometazin	10^{-5} M
BAYK	10^{-6} M
TEA	10^{-4} M

Deney protokolü

Sıçan karotis arter izolasyonu

Her gruptaki sıçanlara eter anestezisi uygulandı. Anestezinin devamlılığı parmak kıstırma yanıtları ya da iskelet kası tonüsü izlenmesi ile kontrol edildi.

Anestezi altında, künt diseksiyonla trekea tespit edildi, daha sonra sağ karotis arter tespit edilip, izole edildi.

Sıçan karotis arterlerinde miyograf çalışması

Sıçanların karotis arterleri alındı ve buzda bekletilen Krebs Henseleit çözeltisi ile yıkandıktan sonra mikrodiseksiyon aşamasına geçildi.

Diseksiyon mikroskobu kullanılarak uygun büyütme derecesinde arterler etrafındaki bağ ve yağ dokuları uzaklaştırıldı. İzole edilen karotis arterlerin çapı yaklaşık olarak 2-3 mm'dir.

Mikrodiseksiyon ile izole edilen karotis arter segmentleri miyograf sistemine yine mikroskop altında yerleştirildi. Damar örneği banyo hacmi 10 mL olan içinde soğuk Krebs Henseleit çözeltisi bulunan miyograf haznesine konuldu. Bir ucu düzeneğe vidalanarak sabitlenmiş 40 µm çapındaki tungsten tel damarın içinden geçirildi. Bu işlem sırasında özellikle telin serbest ucunun damar lümeni içindeki hareketi sırasında endotel tabakasını zedelememesine dikkat edildi. Tungsten telin serbest ucu da vidalandıktan sonra preparasyonun miyograf sistemine yerleştirilmeden önceki aşaması tamamlandı.

Hazırlanan preparat dışsal ısıtma ile içindeki çözeltinin sıcaklığı 37°C olan Krebs Henseleit çözeltisi ile yıkandı. Miyograf haznesi çalışma protokolleri boyunca %5 CO₂-%95 O₂ gaz karışımıyla gazlandırıldı. Sabit gerim uygulamadan önce 30 dk süresince damarlar organ banyosunda dinlendirildi. Her 15 dk'da bir damarlar 37°C olan Krebs Henseleit çözeltisi ile yıkandı. Beklenen süre sonunda damarlara literatürlerden elde edilen bilgiler doğrultusunda 7mN'luk ön gerim uygulandı. İstenilen ön gerime ulaşıldıktan sonra damarlar 30 dk dinlendirildi ve dinlenme periyodu sürecinde standart izlem protokolü uygulandı.

Süre sonunda damar için bir ön-uyarılma sayılan vitalizasyon aşamasına geçildi. Bunun için 60 mM KCl içeren Krebs Henseleit çözeltisi kullanıldı. Uygulamadan sonra normal Krebs Henseleit çözeltisiyle damarlar yıkandı. Takip eden 30 dk dinlenme periyodu sürecinde standart izlem protokolü uygulandı. 90 mM konsantrasyonda KCl damarlara uygulanarak kasılma cevapları kaydedilmiştir. Uygulamadan sonra normal Krebs Henseleit çözeltisiyle damarlar yıkanmıştır. Takip eden süreçte 45 dk dinlenme periyodu sürecinde standart izlem protokolü uygulanmıştır. Bundan sonra damarlara aşağıda tarif edilen protokoller uygulanmıştır. Birbirini takip eden uygulamaların aralarında 45 dk dinlenme periyodu sürecinde standart izlem protokolü uygulanmıştır.

1. PE, ACh yanıtları

2. PE , ALE $10^{-3}M$ yanıtları

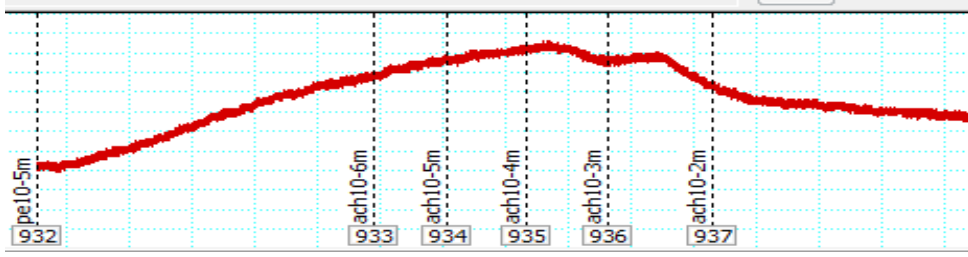
3. (L-NAME, Propranolol, Metoprolol, İndometasin, BAYK, TEA) ile 30dk inkübasyon ve sonra PE ve ALE $10^{-3}M$ yanıtları



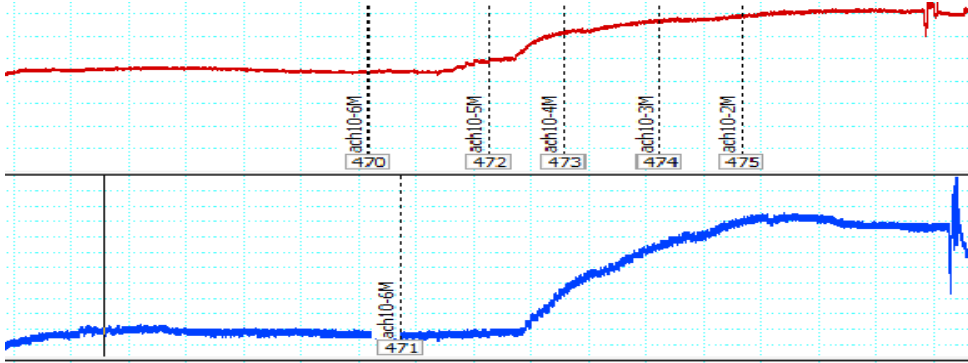
Şekil 10, Sıçan karotis arter izolasyonu



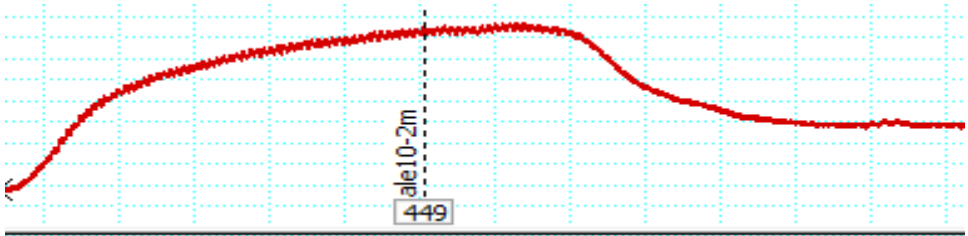
Şekil 11. Miyograf Haznesi



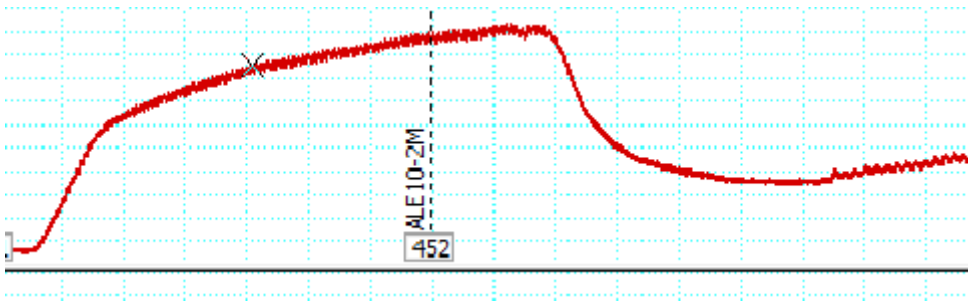
Şekil 12. Endotel (+) karotis damar Ach yanıtı



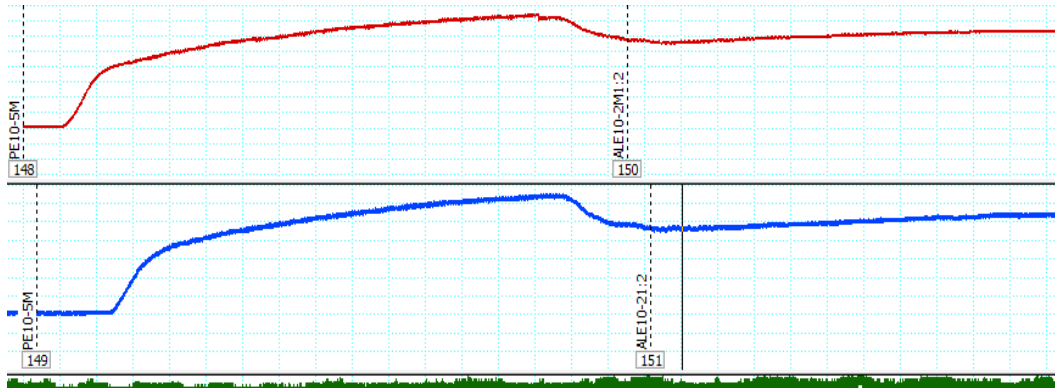
Şekil 13. Endotel (-) karotis damar Ach yanıtları



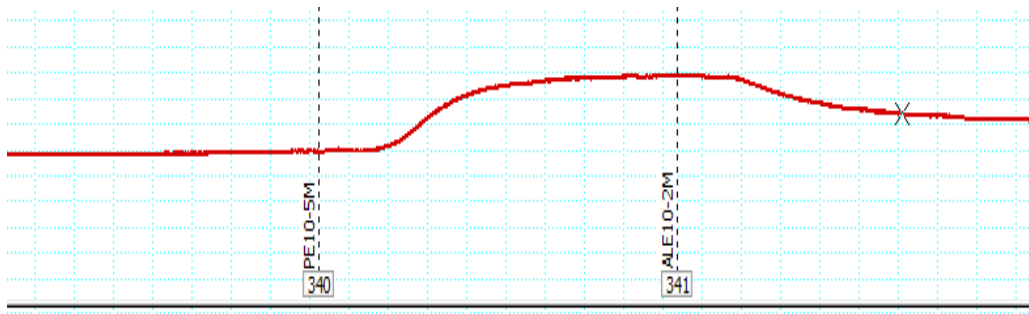
Şekil 14. Normal ALE $10^{-3}M$ gevşeme yanıtı



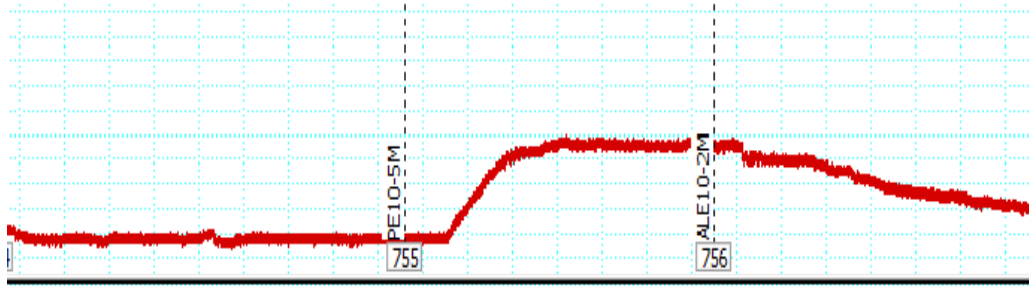
Şekil 15. L-NAME inkübasyonu sonrası Et(+) damarda ALE $10^{-3}M$ gevşeme yanıtı



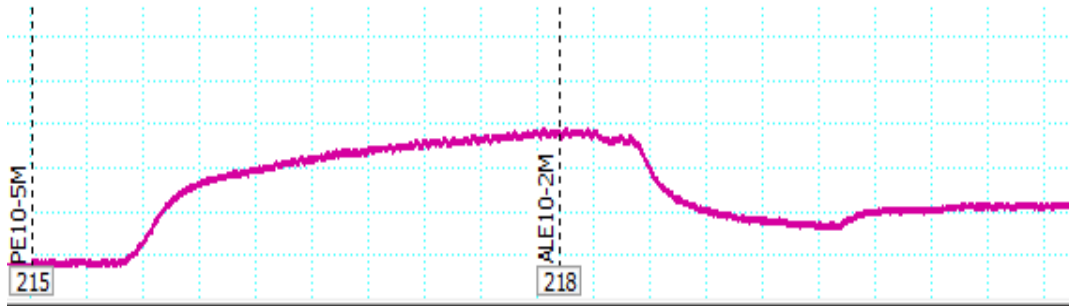
Şekil 16.L-NAME inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE10⁻³M gevşeme yanıtı



Şekil 17. Propranolol inkübasyonu sonrası Et(+) damarda ALE 10⁻³M gevşeme yanıtı

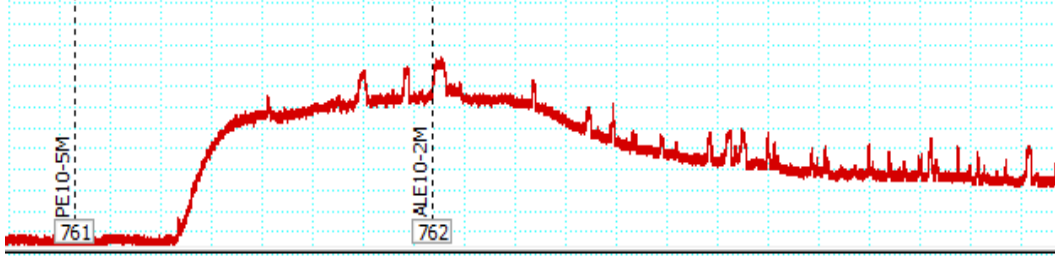


Şekil 18.Propranolol inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE10⁻³M gevşeme yanıtı

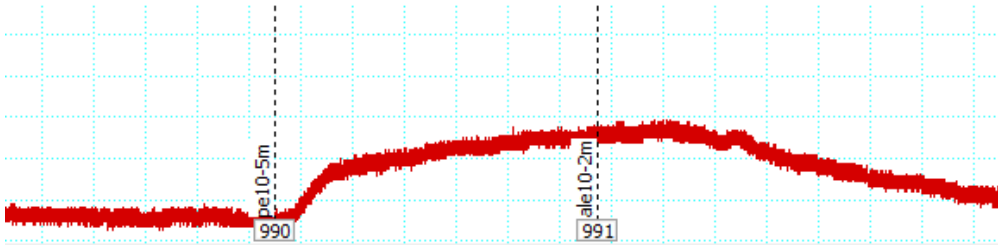


19.Metoprolol inkübasyonu sonrası Et(+) damarda ALE10⁻³M gevşeme yanıtı

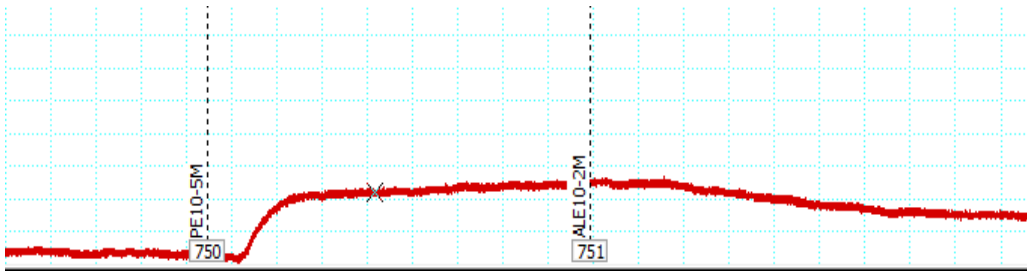
Şekil



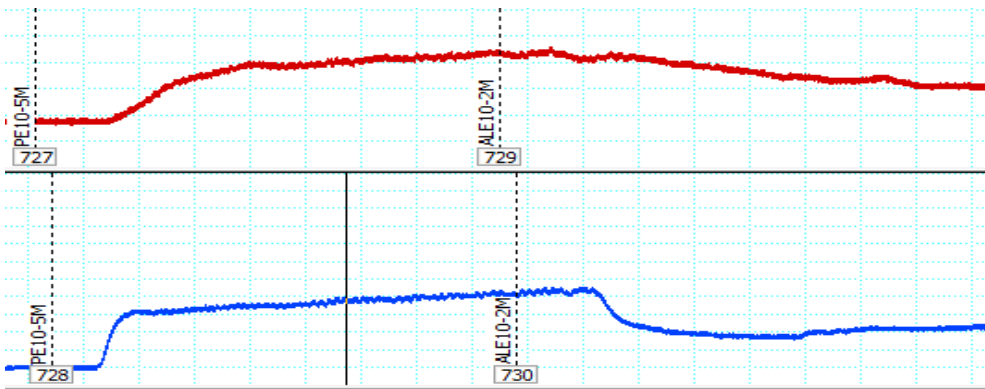
Şekil 20. Metoprolol inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE 10⁻³M gevşeme yanıtı



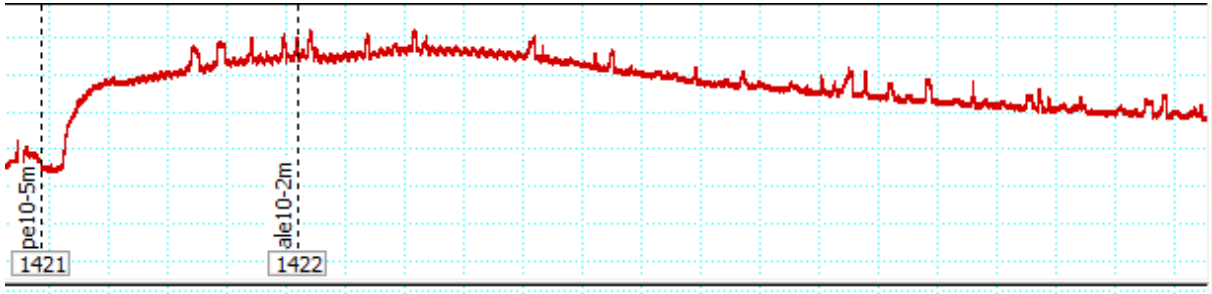
Şekil 21. İndometazin inkübasyonu sonrası Et(+) damarda ALE10⁻³M gevşeme yanıtı



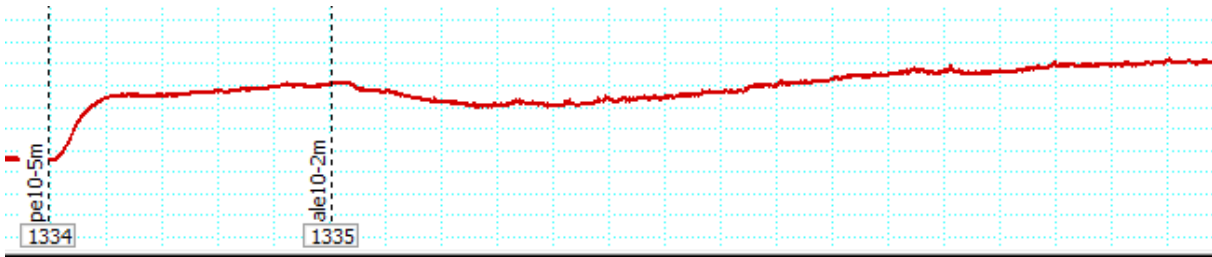
Şekil 22. İndometazin inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE 10⁻³M gevşeme yanıtı



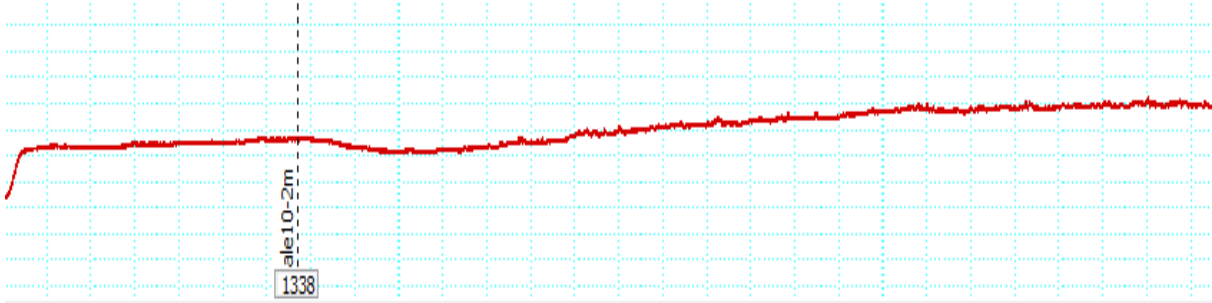
Şekil 23. Glibenklamid inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE10⁻³M gevşeme yanıtı



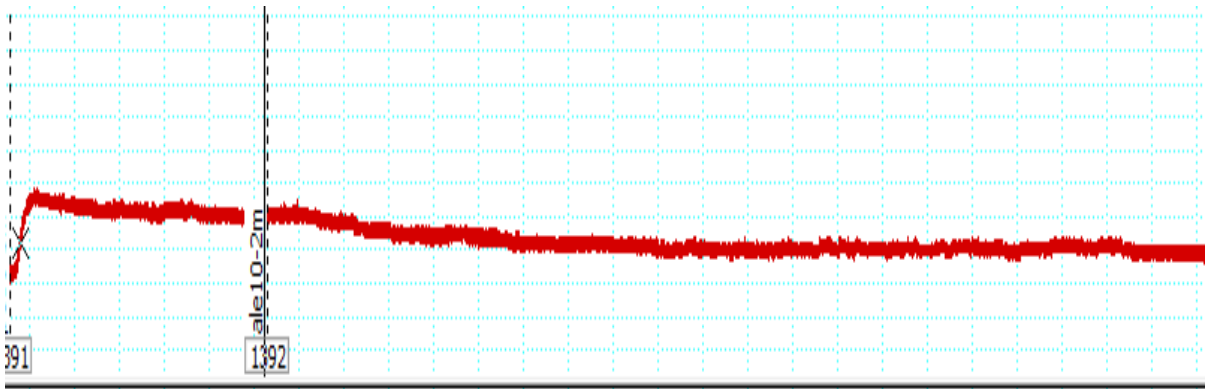
Şekil 24. TEA inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE10⁻³M gevşeme yanıtı

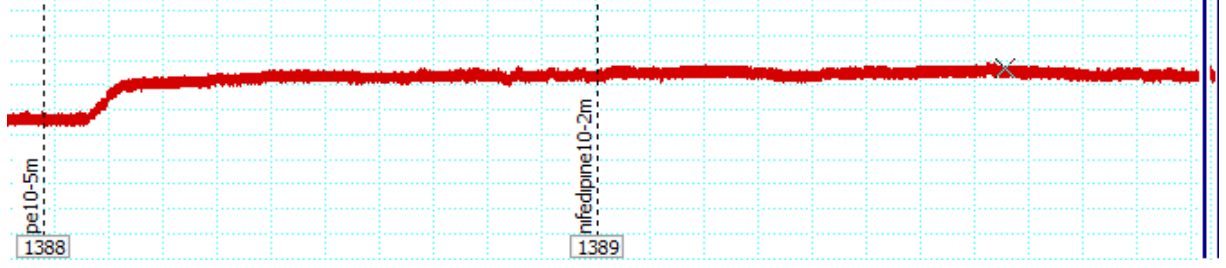


Şekil 25. BAYK inkübasyonu sonrası Et(+) damarda ALE10⁻³M gevşeme yanıtları

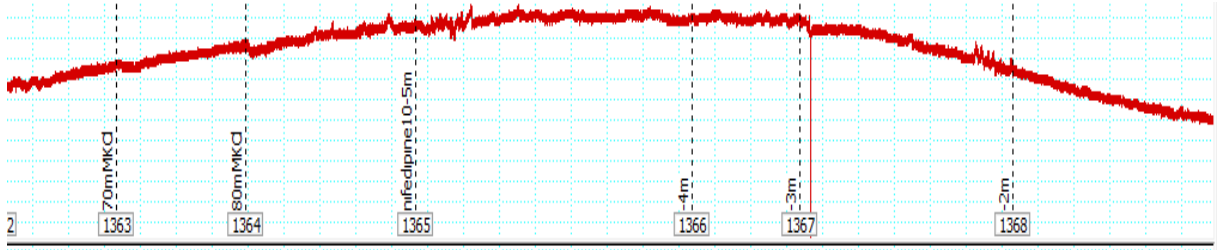


Şekil 26. BAYK inkübasyonu sonrası Et(-) damarda ALE 10⁻³M gevşeme yanıtları

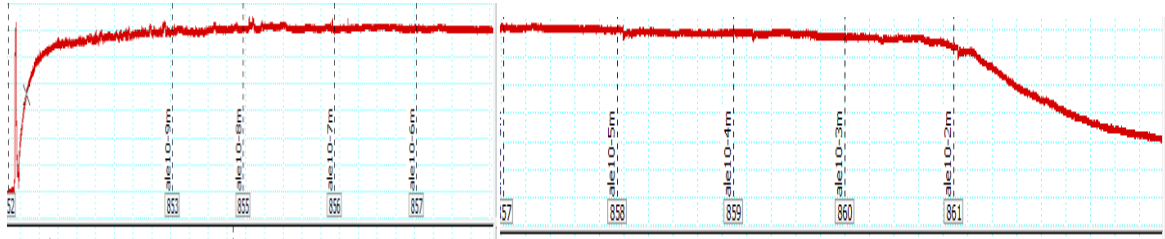




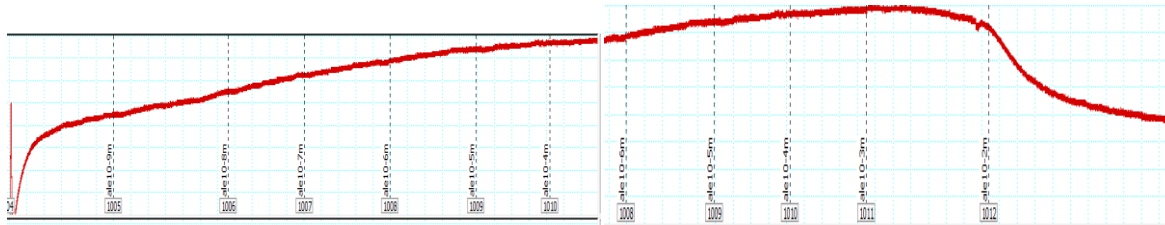
Şekil 27. BAYK inkübasyonu sonrası Et(-) damarda NFD $10^{-3}M$ gevşeme yanıtları



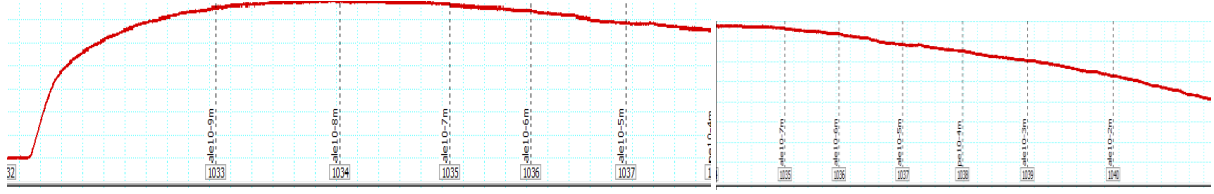
Şekil 28.KCl kasılmasına nifedipine yanıtı



Şekil 29.120mMKCl kasılmasına ALE kümülatif gevşeme yanıtı



Şekil 30. 60mMKCl kasılmasına ALE kümülatif gevşeme yanıtı



Şekil 31. PE kasılmasına ALE kümülatif gevşeme yanıtı

İstatiksel Analiz

Alebrium'un izole sıçan karotis arterinde etkisini değerlendirmek amacıyla Minitab 16 istatistik paket programı ve IBM SPSS 21 programı kullanılarak tek faktör tekrarlı 2 yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Tüm deneylerde kullanılan gruplar ort±standart hata olarak verilmiştir. 0,05'ten küçük p degeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Et (+) ve Et(-) karotis arterlerinde 7 farklı madde kullanılarak 14 farklı grup oluşturulmuştur. Yapılan analizler sonucunda gruplar önemli derecede farklı bulunmuştur ($p<0,001$).

ALE 10^{-3} M %gevşeme yanıtı Et(+) ve (-) damarlarda karşılaştırılmıştır. Independent sample t test (bağımsız örnekler t testi) kullanılmıştır. Et(-) ve Et(+) gruplarının varyanslarının homojenliği Levene testi ile araştırılmıştır. Bunun sonucunda varyansların homojen olmadığı gözlemlenmiştir ($p<0.001$). ALE10-3 gevşeme yüzdeleri açısından Et(-) ve Et(+) grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir. Et(+) 'de gevşeme yüzdesi Et(-)'e göre daha fazladır.

ALE'un kümülatif dozlardaki etkisi Et(+) ve Et(-) damarlarda değerlendirilmiştir. kullanılan gruplar ort±standart hata olarak verilmiştir. 0,05'ten küçük p degeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

ALE'un kümülatif dozlardaki etkisi farklı ajanlarla stimüle edilen (PE, 120mM KCl, 60mM KCl) damarlarda değerlendirilmiştir. kullanılan gruplar ort±standart hata olarak verilmiştir. 0,05'ten küçük p degeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Grafikler *Graph Pad Prism 6* programı kullanılarak yapılmıştır.

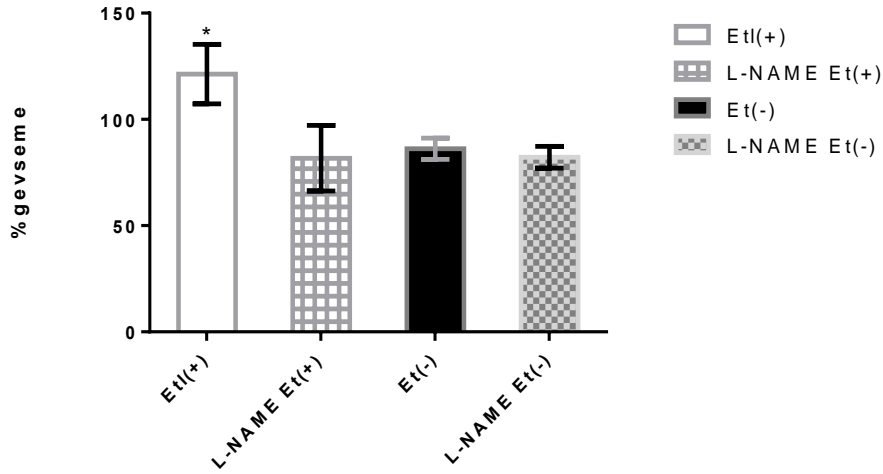
BULGULAR

ALE'un İzole Sıçan Karotis Arter Yanıtları

PE indüklü kasılmalarda L-NAME inkübasyonu sonrası ALE yanıtları

Et (+) ve Et(-) karotis arter örneklerinde normal gevşeme yanıtları ve L-NAME inkübasyonu sonrası gevşeme yanıtları değerlendirilmiştir. Et (+) ve L-NAME Et (+) damarlar arasında %gevşeme oranı açısından anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Et (-) ve L-NAME Et (-) damarlar arasındaki %gevşeme oranları karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark bulunamamıştır ($P=0,1675$).

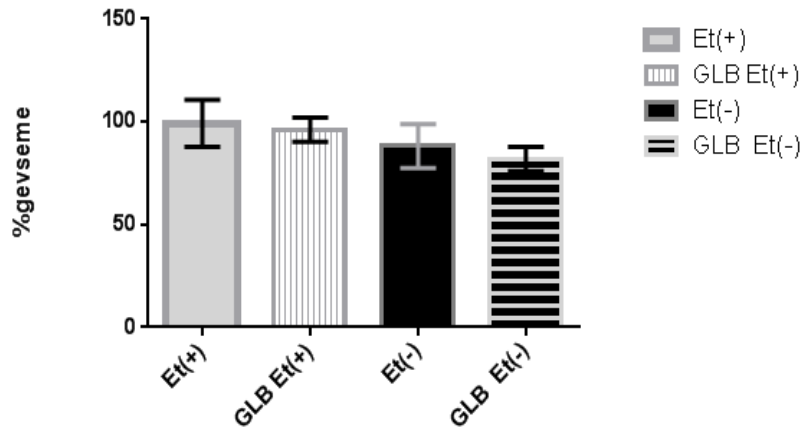


Şekil 32. PE indüklü kasılmalarda L-NAME inkübasyonu sonrası ALE yanıtları (%gevşeme) ($n_1:7, n_2:7, n_3:17, n_4:17$)

(*) Et (+) damar, L-NAME Et(+) damara göre gevşeme yüzdesi açısından karşılaştırıldığında önemli derecede farklıdır ($p<0,05$).

PE indüklü kasılmalarda GLB inkübasyonu sonrası ALE yanıtları

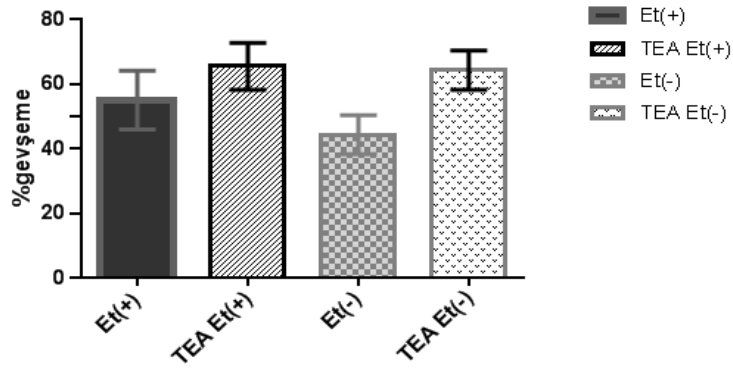
Miyograf yöntemiyle değerlendirilen Et (+) ve Et(-) karotis arter örneklerinde normal gevşeme yanıtları ve GLB inkübasyonu sonrası gevşeme yanıtları değerlendirilmiştir. Et (+) ve GLB Et (+) damarlar arasında %gevşeme oranı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=1,000$). Et (-) ve GLB Et (-) damarlar arasındaki % gevşeme oranları karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=1,0000$).



Şekil 33. PE indüklü kasılmalarda GLB inkübasyonu sonrası ALE yanıtları (%gevşeme) ($n_1:10, n_2:10, n_3:7, n_4:7$)

PE indüklü kasımlarda TEA inkübasyonu sonrası ALE yanıtları

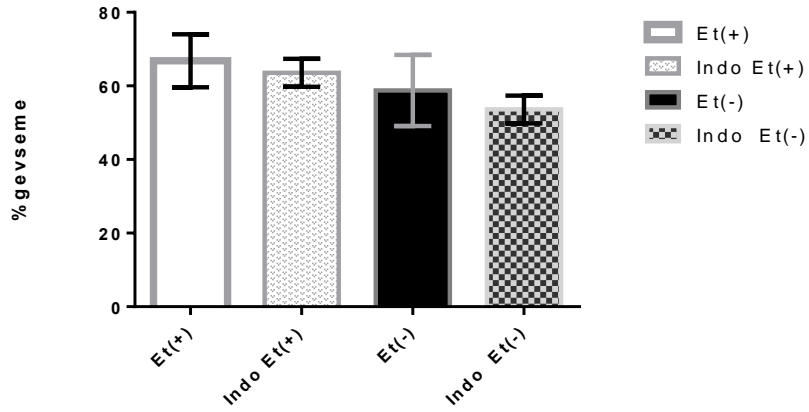
TEA inkübasyonu sonrası ALE etkisi Et (+) ve Et (-) damarlarda değerlendirilmiştir. Et (+) ve TEA Et (+) grupları arasında % gevşeme oranı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=1,0000$). (-) gruplar da değerlendirildiğinde aralarında anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0,9254$).



Şekil34. PE indüklü kasımlarda TEA inkübasyonu sonrası ALE yanıtları

PE indüklü kasımlarda İndometazin inkübasyonu sonrası ALE yanıtları

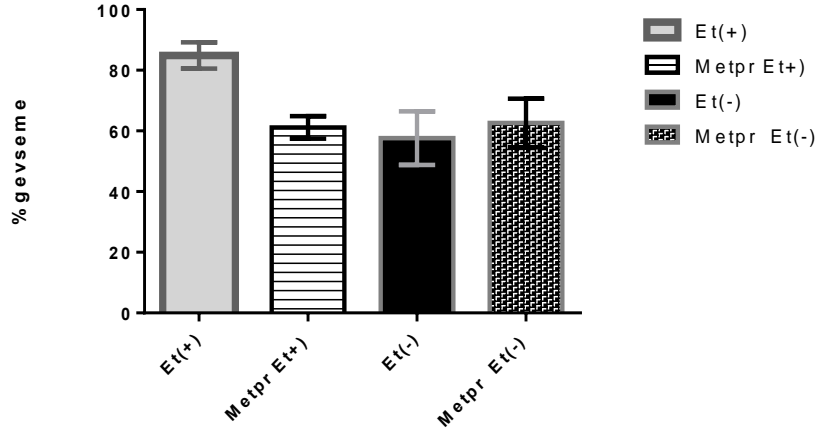
Et (+) ve Et(-) karotis arter örneklerinde normal gevşeme yanıtları ve İndometazin inkübasyonu sonrası gevşeme yanıtları değerlendirilmiştir. Et (+) ve İndo Et (+) grupları arasında %gevşeme oranı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=1,0000$). Et (-) ve İndo Et (-) damarlar arasındaki % gevşeme oranları karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,9998$).



Şekil 35. PE indüklü kasımlarda İndo inkübasyonu sonrası ALE yanıtları (%gevşeme) ($n_1:7, n_2:7, n_3:7, n_4:7$)

PE indüklü kasılmalarda Metoprolol inkübasyonu sonrası ALE yanıtları

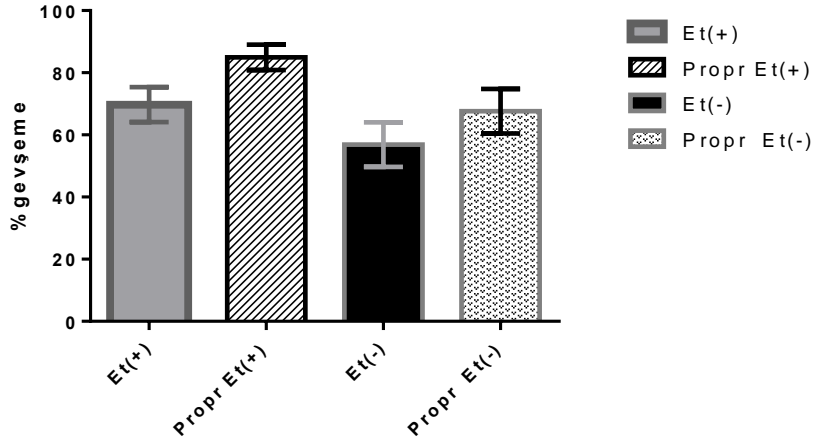
Metopr inkübasyonu sonrası ALE etkisi Et (+) ve Et (-) damarlarda değerlendirilmiştir. Et (+) ve Metpr Et (+) grupları arasında % gevşeme oranı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=1,0000$). (-) gruplar da değerlendirildiğinde aralarında anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0,9045$).



Şekil 36. PE indüklü kasılmalarda Metopr inkübasyonu sonrası ALE yanıtları ($n_1:7, n_2:7, n_3:6, n_4:6$)

PE indüklü kasımlarda Propranolol inkübasyonu sonrası ALE yanıtları

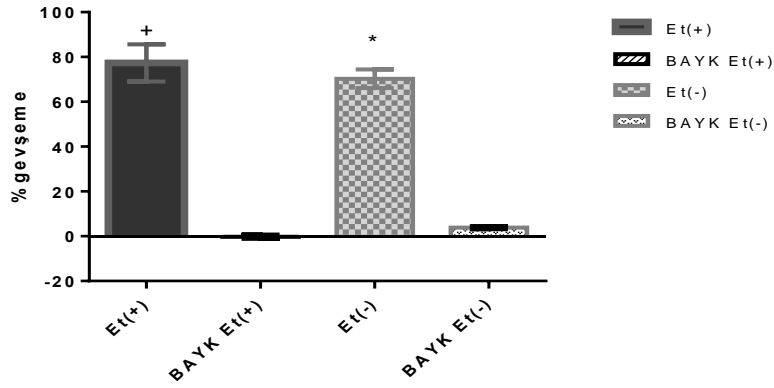
Propr inkübasyonu sonrası ALE etkisi Et (+) ve Et (-) damarlarda değerlendirilmiştir. Et (+) ve Propr Et (+) grupları arasında % gevşeme oranı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=1,0000$). (-) gruplar da değerlendirildiğinde aralarında anlamlı fark bulunamamıştır ($p=1,0000$).



Şekil 37. PE indüklü kasımlarda Propr inkübasyonu sonrası ALE yanıtları ($n_1:7, n_2:7, n_3:7, n_4:7$)

PE indüklü kasılmalarda BAYK8644 inkübasyonu sonrası ALE yanıtları

Miyograf yöntemiyle değerlendirilen Et (+) ve Et(-) karotis arter örneklerinde normal gevşeme yanıtları ve BAYK 8644 inkübasyonu sonrası gevşeme yanıtları değerlendirilmiştir. Normal Et (+) grubu BAYK ile inkübe edilen grupla karşılaştırıldığında % gevşeme açısından anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p=0,0001$). Et (-) gruplar kıyaslandığında yine karşılaştırıldığında % gevşeme açısından anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p=0,0001$).



Şekil38.PE indüklü kasılmalarda BAYK8644 inkübasyonu sonrası ALE yanıtları(n₁:6,n₂:6,n₃:7,n₄:7)

(+) Et (+) damar, BAYK Et (+) damara göre gevşeme yüzdesi açısından karşılaştırıldığında önrmli derecede farklıdır ($p<0,05$).

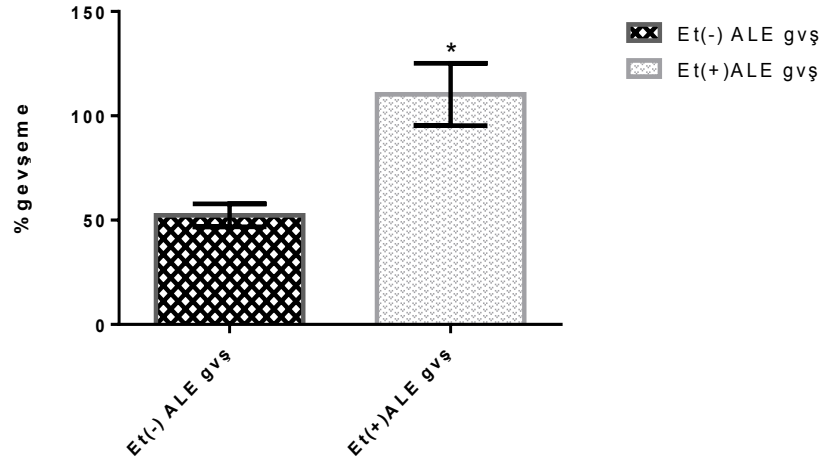
(*) Et (-) damar, BAYK Et (-) damara göre gevşeme yüzdesi açısından karşılaştırıldığında önrmli derecede farklıdır ($p<0,05$).

Tablo 6. Bulguların ortalama ve SEM değerleri

	Et	n	%geşeme ort 1	SEM 1	%geşeme ort 2	SEM 2
L-NAME	Et (+)	7	121,3261	13,99426	81,7471	15,41118
	Et (-)	17	86,2249	5,00759	82,1656	5,15178
GIB	Et (+)	7	99,2052	11,42047	96,1290	5,92448
	Et (-)	10	88,2103	10,66418	81,8253	5,94937
İNDÖ	Et (+)	7	66,8150	7,20972	63,5582	3,77782
	Et (-)	7	58,7611	9,67338	53,6107	3,77455
METOPR	Et (+)	6	84,8781	4,33021	61,1626	3,69932
	Et (-)	7	57,6202	8,84960	62,6175	7,98818
PROPR	Et (+)	7	69,7451	5,64187	84,9570	4,07510
	Et (-)	7	56,8742	7,15773	67,6353	7,16609
BAYK	Et (+)	7	77,2899	8,27565	0,7566	0,41864
	Et (-)	6	70,3722	4,17914	3,8559	0,73889
TEA	Et (+)	7	55,1008	9,06226	65,6064	7,25626
	Et (-)	7	44,4847	6,00662	64,3430	6,05533

Et(+) ve Et(-) damarlarda PE indüklü kasılmalarda ALE 10⁻³M yanıtları

PE ile indüklenen karotis kasılma yanıtlarında ALE'un etkisi Et(+) ve Et(-) olarak karşılaştırılmıştır. %Gevşeme açısından her iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir (p=0<0,05)

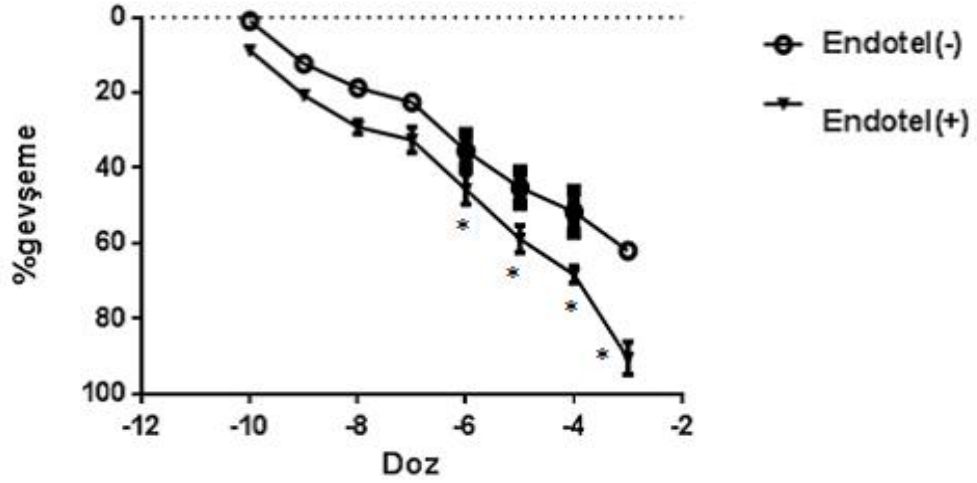


Şekil 39. Et(+) ve Et(-) damarlarda ALE 10⁻³M yanıtları

(*Et(+) damar, Et(-) göre gevşeme yüzdesi açısından karşılaştırıldığında önemli derecede farklıdır (p<0,05).

Et(+) ve Et(-) damarlarda PE indüklü kasılmalarda ALE kümülatif yanıtları

PE ile indüklenen karotis damarlarda ALE'un etkisi kümülatif dozlarda (10^{-10} M- 10^{-3} M) değerlendirilmiştir. 10^{-10} M- 10^{-3} M dozlarında ALE'un etkisi %gevşeme açısından karşılaştırıldığında Et (+) ve Et (-) damarlar arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 40. PE indüklü kasılmalarda ALE kümülatif yanıtları (n₊:7,n₋:7)

(*Et (+) damar, Et(-) damara göre gevşeme yüzdesi açısından karşılaştırıldığında önemli derecede farklıdır ($p<0,05$).

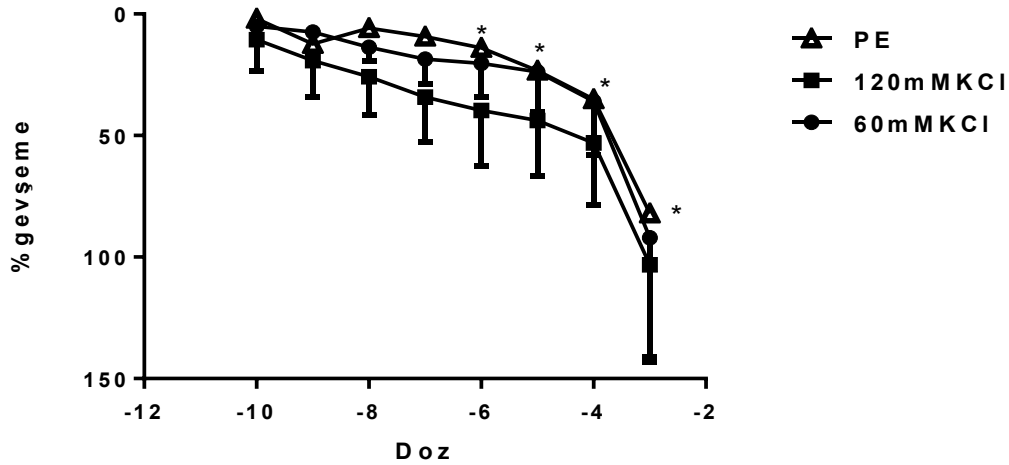
PE, 120mM KCl ve 60mM KCl indüklü kasılmalarda ALE kümülatif yanıtları

PE, 120mM KCl ve 60mM KCl indüklenen damarlarda ALE (10^{-10} M- 10^{-3} M) yanıtları incelenmiştir. ALE kümülatif dozunda (10^{-10} M- 10^{-3} M) %gevşeme yanıtları üç farklı kasıcı ajan ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=1,0000$).

PE ile indüklü kasılmada ALE dozları karşılaştırıldığında 10^{-10} M- 10^{-4} M dozları arasında anlamlı bir fark bulunamamış ($p=1,0000$) fakat bu dozlar 10^{-3} M ALE ile %gevşeme açısından karşılaştırıldığında çok anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0,01$).

120mM ile indüklü kasılmada ALE dozları karşılaştırıldığında 10^{-10} M- 10^{-4} M dozları arasında anlamlı bir fark bulunamamış ($p=1,0000$) fakat bu dozlar 10^{-3} M ALE ile %gevşeme açısından karşılaştırıldığında çok anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).

60mM ile indüklü kasılmada ALE dozları karşılaştırıldığında 10^{-10} M- 10^{-4} M dozları arasında anlamlı bir fark bulunamamış ($p=1,0000$) fakat bu dozlar 10^{-3} M ALE ile %gevşeme açısından karşılaştırıldığında çok anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 41. PE, 120mMKCl ve 60mMKCl indüklü kasılmalarda ALE kümülatif yanıtları ($n_{PE}:7, n_{120}:7, n_{60}:7$)

(*) PE kasılması, 120mM KCl kasılmasına göre gevşeme yüzdesi açısından önemli derecede farklıdır ($p<0,05$).

TARTIŞMA

Birçok metabolik değişim ile birlikte görülen doğal yaşılanma sürecinde ilerlemiş glikasyon son ürünlerinin (AGE) oluşumu, birikimleri ve reseptörleri ile etkileşimleri özellikle diyabette olduğu gibi hücre ve dokulara zarar veren en önemli etkenlerden biri olarak kabul edilmektedir. Buna göre doğal yaşılanma sürecinde glikasyon ile yapıları değişen proteinler ve lipitler başta kardiyovasküler sistem olmak üzere birçok dokuda hasarlanmaya neden olurlar. KVS’de kolajen ve elastin yapılarında oluşan çapraz bağ ürünleri kalp ve damarlarda esnekliğin ve elastikiyetin azalmasına yol açmaktadır.

Çalışmalarda; ECM bileşenlerindeki AGE formasyonu diabette kolajen çapraz bağları oluşumunu hızlandırıp, miyokardiyal rijiditeye katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca diabetik kalpte AGE , RAGE, AGE R3, ekspresyonunda çok önemli düzeyde artış gözlenmiş ve buna bağlı olarak da konnektif doku büyüme faktörü gen ve protein ekspresyonunda artış gözlenmiştir. ALT-711 tedavisi SV kolajen çözünürlüğü ve kardiyak BNP, AGE düzeylerinde azalma ve RAGE, AGE-R3, KDBF ve kolajen III ekspresyonunu artışımlı da ortadan kaldırdığı gözlenmiştir (12).

Yapılan bir başka çalışmada; STZ ile indüklenmiş diabetik sıçanlarda karotid arter balon hasarı oluşturulmuş modelde ALT-711’in neointimal proliferasyonu üzerine inhibitör etkisi araştırılmıştır. ALT-711’in doğrudan sıçan aortik düz kas hücrelerinde AGE’lerin pro-aterosklerotik etkisini inhibe ettiği gözlenmiştir. ALT-711 neointimal formasyon üzerindeki inhibitör etkisini ECM ürünlerinin azalması aracılı da olabileceği düşünülmektedir (30).

Günümüzde AGE oluşumunu önleyen/azaltan, AGE çapraz bağların kırılmasını sağlayan veya AGE-RAGE etkileşimini önleyen çeşitli bileşikler özellikle diyabetik komplikasyonlara karşı denenmektedir.

Çalışmamızda, proteinler arasında oluşmuş çapraz bağların kırılmasını sağlayan ALE bileşiği kullanılmıştır. ALE’nin çapraz bağ kırıcı özelliğinin olası vazodilatör etkileri ile

bağlantısını aydınlatmak amacıyla izole sıçan karotis arterlerinde kasılma-gevşeme yanıtları incelenmiş, agonist-antagonist yanıtların olası mekanizmaları aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Çalışmamızda PE prekontrakte karotis damar yanıtlarında ALE'un Et (+) karotis gevşeme yanıtlarının Et(-) yanıtlardan anlamlı derecede farklı olduğunu görmekteyiz. (**Şekil 39**) Hatta bazal tonusun altında belirgin gevşeme yanıtlarının oluştuğunu görmekteyiz. ALE'un agonist aracılı (PE) ve hiperpolarizasyon aracılı (KCl 60-120mM) kasılması sonrası alınan kümülatif gevşeme yanıtlarında karşılaştırıldığında 120mM KCl kasılmalarına ALE'un aynı konsantrasyonlarda PE yanıtlarına oranla anlamlı derecede yüksek gevşeme yanıtları oluşturduklarını görmekteyiz ($10^{-6}M-10^{-3}M$) (**Şekil 41**).

ALE gerek endotelli gerek endotelsiz damarlarda PE prekontraksiyonu sonrası belirgin gevşeme yanıtları oluşturmuş özellikle L-NAME inkübasyonu sonrası ALE'un gevşetici yanıtlarında anlamlı azalma olmuştur (**Şekil 32**). Et(-) damarlarda L-NAME inkübasyonu ALE gevşeme yanıtlarında beklendiği şekilde değişim sağlamamıştır. Burada ALE'un gevşeme yanıtında endotel kaynaklı bir faktörün etkili olduğunu görmekteyiz. Bunun da NO sentez sürecinde yer aldığını düşünmekteyiz, ayrıca Et(-) damarlarda gevşeme yanıtlarının belirgin derecede olması bize farklı süreçleri göz önüne alma zorunluluğu doğurmuştur.

Yapılan çalışmada; medial tabaka kaynaklı non-endotelyal gevşeme yanıtlarında alagebriumun belirgin katkılarının olduğu görülmektedir. İntima-media kalınlaşmasında AGE'lerin aracılık ettiği alagebriumun ise glikozile çapraz bağları kırarak ve AGE'lerin birikimini engelleyerek arteriyal kalınlaşmayı azalttığı gösterilmiştir. Bu durum da alagebriumun endotelden bağımsız yanıtlardaki katkılarını açıklamaktadır (6).

Yapılan bir başka çalışmada; ALT-711 ile 4 hafta tedavi edilen diabetik sıçanlarda , kolajen III azalması ve kolajen çözünürlüğünün arttığı ve RAGE seviyesinin ve AGE-R3 mRNA seviyesinin placeboya göre azaldığı saptanmıştır (37,38).

Yapılan in vivo çalışmalarda; ALT-711'in sol ventrikül fonksiyonunu iyileştirdiği, venriküler kolajeni azalttığı ve diyabetik yaşlı sıçanlarda sol ventrikül rijiditesini azalttığı ve yaşam süresini uzattığı gözlenmiştir (5,57).

Başka bir çalışmada; yaşlı insanlarda, ALT-711'in arteriyal kompliyansı iyileştirdiği ve nabız basıncını düşürdüğü bildirilmiştir (36). İzole sistolik hipertansiyonlu 13 hasta, alegebrum tedavisinden sonra arteryel rijidite (karotis artış index) ve brakiyal arter distensibilite değerleri tonometri ve Doppler eko ile endotel fonksiyonu brakiyal FAD (flow aracılı dilatasyon) ile değerlendirilmiştir. ALE'un periferal arter endotelial fonksiyonunu artırdığı gözlenmiştir. Endotelial fonksiyon artması vasküler fibrozis, inflamasyon markerlarının azalması ile korelasyon göstermektedir. AGE çapraz bağ kırıcıları yetişkinlerde arteryel rijiditeyi ve vasküler yeniden yapılanmayı azaltarak, kardiyovasküler riski azaltabilmektedir (65).

Vasküler gevşeme yanıtlarında önemli yollardan direkt etkili vazodilatör aktiviteyi test etmek amacıyla; K_{ATP} kanallarının rolü için Glibenklamid, BK_{Ca} (kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları) için TEA kullanılmıştır. GLB inkübasyonu sonrasında ALE gevşeme yanıtlarının gerek endotelli gerekse endotelsiz segmentlerde farklılık göstermediğini gevşeme yanıtlarını geri çeviremediğini gördük. K_{ATP} kanallarının gevşeme yanıtlarında rolü olmadığını göstermiştir. (**Şekil33**) TEA inkübasyonu sonrası ALE gevşeme yanıtlarının gerek endotelli gerekse endotelsiz segmentlerde farklılık göstermediğini gevşeme yanıtlarını geri çeviremediğini gördük (**Şekil34**).

Yapılan çalışmada, Patch-clamp tekniği kullanılarak L tipi kalsiyum kanalı boyunca Ca^{+2} akımı analiz edilmiştir. BAYK uygulanmasıyla kalsiyum akımı anlamlı derecede 97.7 ± 8.3 bazal düzeyin üstünde stümüle olmuştur. Aksine, nifedipin kullanımı da bazal düzeyi anlamlı derecede azaltmıştır. Yüksek ekstrasellüler KCl konsantrasyonu, VKKK (voltaj kapılı kalsiyum kanalı) na özellikle L tipi kalsiyum kanalına Ca^{+2} girişini aktive ederek plazmatik membran depolarizasyonunu sağlar ve bu da kas kasılmasını sağlamaktadır. BAYK doğrudan ve özellikle LTKK'nı açar ve intrasellüler Ca^{+2} artırarak vasküler düz kas hücrelerini indüklediği gözlenmiştir (18).

İndometasin sonrası ALE gevşeme yanıtları karşılaştırıldığında gerek endotelli gerekse endotelsiz segmentlerde farklılık göstermediğini gevşeme yanıtlarını geri çeviremediğini gördük (*Şekil35*). Böylece ALE gevşeme yanıtları açısından prostasiklin aracılı bir gevşeme yolağını kullanmadığını düşünebiliriz. Bilindiği üzere birçok vazodilatör siklik endoperoksitler üzerinden vazodilatör etki göstermektedir. ALE'un prostaglandinler aracılı bir vazodilatör aktivitesi olsaydı, gevşeme yanıtlarında belirgin bir azalma görecektik.

Metoprolol ve propranolol ALE gevşeme yanıtları karşılaştırıldığında gerek endotelli gerekse endotelsiz segmentlerde farklılık göstermediğini gevşeme yanıtlarını geri çeviremediğini gördük. Propranolol uygulanan endotel (+) gruplarda artmış gevşeme yanıtlarının β -blokör aktiviteden bağımsız direkt vazodilatör aktivitesine bağlı bir yanıt olduğunu düşünebiliriz. Bu konuda yapılan bazı çalışmalar söz konusudur. B-mimetik etki ile ALE'un vazodilatasyon yapması söz konusu olsaydı β -blokör inkübasyonu sonrası azalmış gevşeme yanıtlarını görmemiz gerekirdi (*Şekil36,37*).

Ventriküler diastolik disfonksiyon, diabetik kardiomyopatinin ilk evresidir ve yaklaşık %50 asemptomatik hastada tanımlanmıştır. Çünkü intrasellüler Ca^{+2} homeostazı eksitasyon-kasılma bağlantısı için önemlidir, kronik diabetes mellitus Ca^{+2} homeostazını değiştirerek kardiyak kontraktilitenin ve myokard gevşemesinin bozulmasıyla ilişkilendirilmiştir. Ancak, yapılan çalışmalarda; Ca^{+2} homeostazının bozulması ile kesin mekanizmalar ve bu hasta popülasyonu için spesifik terapötik mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır (3,32).

SR fonksiyonları, intrasellüler Ca^{+2} esas düzenleyicisi ve kardiyak kasılma ve gevşemede major belirleyicidir. L-tip Ca^{+2} kanalı boyunca Ca^{+2} girişi SR'dan Ca^{+2} salınımını aktive eder. SR Ca^{+2} kanallardan salınımı, ryanodin reseptörleri, kasılma için gerekli major Ca^{+2} yi salar ve SR Ca^{+2} ATPaz (SERCA2a) pompaları kardiyak myositlerin relaksasyonu sırasında Ca^{+2} büyük çoğunluğu geri alınır. Birçok grupta kardiyak disfonksiyonlu tip 1 diyabetik sıçanlarda bu SR Ca^{+2} düzenleyici proteinlerin ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (52).

AGE apraz bağ kırıcıların diabette kardiyak disfonksiyona yol açan, SR Ca^{+2} döngüsündeki değişiklikleri önleyip önleyemeyeceği araştırılmıştır. En önemli bulgunun; AGE apraz bağ kırıcısı, uzun dönem ALE tedavisi ile, kardiyak myositlerde, tedavi edilmemiş diabetik ratlara göre, SR Ca^{+2} taşımının kısmen onarılmış olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, ALT-711 tedavisinin tip-1 diyabetik sıçan modelinde, diabetik myokardiumda diastolik disfonksiyonunu in vivo kısmen önlemiş olduğu gözlenmiştir (3,32).

L-tipi kalsiyum kanalı aktivatörü BAYK 8644 inkübasyonu sonrasında gerek endotelli gerekse endotelsiz damarlarda vazodilatör aktivitenin tamamen ortadan kalkması ALE'un Ca kanal blokajı yaparak vazodilatör aktivite gösterdiğini düşündürmektedir (*Şekil38*). Yapılan alışmalarda; Diabetik myositlerde SR dan myosit içerisine diastol sırasında anormal Ca^{+2} salınımı olduğu bildirilmiştir, bir başka hipoteze göre de, diabetik myositlerin relaksasyon fazında RyR aracılı SR Ca^{+2} salınımını stabilize ederek ALT-711 tedavisinin Ca^{+2} homeostazını sağladığı ve bu da AGE birikiminin RyR fonksiyonunu bozduğunu ve anormal diastolik Ca^{+2} sızmasına neden olduğunu düşündürmektedir. Bu yüzden bu bulgular da, AGE birikmesinin diastolik disfonksiyon ve diastolik kalp yetmezliğinde sistolik disfonksiyondan daha önemli patolojik role sahip olabileceğini desteklemektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Alagebrium, klinik çalışmalarda faz 3 aşamasına gelmiş gözlemlerinde diabet hipertansiyon vasküler sklerotik patolojilerde kardiyovasküler hipertrofi ve benzeri süreçlere olumlu düzeltici etkileri gösterilmiş bir moleküldür. İlaç olarak ruhsatlandırılmamıştır. AGE çapraz bağ kırıcı olarak yapısal düzenlemelerde bu denli etkin olması yanında bu maddeye ilişkin in vitro çalışmalar oldukça az sayıda olup, alagebriumun özellikle vasküler fonksiyonel yanıtlara etkisi bilinmemektedir.

Bu çalışma ile alagebriumun vazodilatör etkinliğini gösterilmiştir. Ayrıca bu vazodilatör etkisinin kalsiyum kanalları blokajı ve endotel- nitrik oksid aracılığı ile olduğuna dair önemli bulgular elde edilmiştir. Bu konuda yapılacak detaylı in vitro izole damar yanıtları çalışmaları ile etkinin detaylı analizi yapılabilecektir. Çalışmamızda olası mekanizmalar incelenmiş fakat kasılma gevşeme süreçleri açısından daha da detaylandırılması olumlu olacaktır. Diabetik ve hipertansif modellerde yapılacak izole damar çalışmalarında uzun süreli alagebriumun yapısal düzenlemelerinin fonksiyonel yanıtlara etkisinin araştırılmasında devam eden süreçte planlanmalıdır. Literatüre bu konudaki ilk çalışma olarak bir katkı sunacağımızı düşündüğümüz bu çalışmanın devam edecek planlamalarla önemli bir boşluğu dolduracağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- 1.Ahmed N, Thornalley PJ., 2003,Quantitative screening of protein biomarkers of early glycation, oxidation and nitrosation in cellular and extracellular proteins by tandem mass spectrometry multiple reaction monitoring.Biochem Soc Trans31:1417-1422
- 2.Akçakoyun M, 2004, Koroner Arter Hastalığı Olgularında Koroner Risk Faktörleri İle Endotel Fonksiyonları Arasındaki İlişki, 5
- 3.Allyson L. Kranstuber, Carlos del Rio, [...], and Véronique A. Lacombe, 2012, Advanced glycation end product cross-link breaker attenuates diabetes-induced cardiac dysfunction by improving sarcoplasmic reticulum calcium handling
- 4.Arı N, 2008, Yaşlanmada Crosslinkage Teorisi: İlerlemiş Glikasyon Son Ürünlerinin (AGEs) Rolü, Türkiye Klinikleri J Med Sci,s12-s15
- 5.Asif M, Egan J, Vasan S, Jyothirmayi GN, Masurekar MR, Lopez S, Williams C, Torres RL, Wagle D, Ulrich P, Cerami A, Brines M, Regan TJ, 2000, An advanced glycation end product cross-link breaker can reverse age-related increases in myocardial stiffness, Proc Natl Acad Sci USA,;97:2809-2813
- 6.Atlı Ö, Sırmagül B ,2011, Pulmoner hipertansiyonda basınç artışına sekonder olarak gelişen MMP aktivite farklılıklarının fonksiyonel yanıtlarla karşılaştırılması
- 7.Beisswenger PJ, Howell SK, Touchette AD, et al., 1999, Metformin Reduces Systemic Methylglyoxal Levels in Type 2 Diabetes. Diabetes 1999;48:198-202. doi:10.2337/diabetes.48.1.198
- 8.Bierhaus, A., Humpert, P.M., Morcos, M., Wendt, T, (2005), Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *Journal of Molecular Medicine*, **28**:128-134.
- 9.Bierhaus, A., Hoffmann, M. A. , Ziegler, R., Nawroth, P. P., (1998), AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept. *Circ. Res.*, **37**: 586–600.
- 10.Brownlee, M., Cerami, A., Vlassara, H., (1988), Advanced glycation endproducts in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N. Engl. J. Med.*, **318**:1315-1321.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

11. Bülbül A, Soylu M, 2008, Nitrik oksitin kalp damar sistemi üzerine etkileri, Veteriner Hekim Derneği Dergisi, 79(2):49-54.
12. Candido R, Forbes JM, Thomas MC, Thallas V, Dean RG, Burns WC, Tikellis C, Ritchie RH, Twigg SM, Cooper ME, Burrell LM, 2003, A breaker of advanced glycation end products attenuates diabetes-induced myocardial structural changes, 18;92(7):785-92.
13. Chang, P.C., Chen, T.H., Chang, C.J., Hou, C.C., Chan, P., Lee, A, (2004), Advanced Glycosilation End Products Induce Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) expression via a p38 MAPK-Dependent Pathway. *Kidney International*, **65**:1664-1675.
14. Cheng G, Wang LL, Long L, et al., 2007, Beneficial effects of C36, a novel breaker of advanced glycation endproducts cross-links, on the cardiovascular system of diabetic rats. *Br J Pharmacol* 152:1196-1206. doi:10,1038/sj.bjp.0707533
15. Chibber R, Molinatti PA, Rosatto N, et al., 1997, Toxic action of advanced glycation endproducts on cultured retinal capillary pericytes and endothelial cells: relevance to diabetic retinopathy. *Diabetologica* 40:156-64. doi:10,1007/s001250050657
16. Creagh-Brown BC, 2010, The RAGE axis in systemic inflammation, acute lung injury and myocardial dysfunction: an important therapeutic target? *Intensive Care Med*;36:1644-56.
17. Cooper ME, Thallas V, Forbes J, et al. The cross-link breaker, N-phenacylthiazolium bromide prevents vascular advanced glycation end-product accumulation. *Diabetologia* 2000;43:660-4. doi:10,1007/s001250051355
18. Cairrao E, Alvarez E, Miguel Carvas J, Antonio Non-genomic vasorelaxant effects of 17 β -estradiol and progesterone on rat aorta are mediated by L-type Ca⁺² current inhibition
19. Daroux M, Prevost G, Maillard-Lefebvre H. Advanced glycation end-products: Implications for diabetic and non-diabetic nephropathies. *Diabetes Metab* 2010;36:1-10. doi:10.1016/j.diabet.2009.06.005
20. Degenhardt TP, Alderson NL, Arrington DD, 2002, Pyridoxamine inhibits early renal disease and dyslipidemia in the streptozotocin-diabetic rat. *Kidney Int*;61:939-50. Doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00207.x

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- 21.**Dinerman JL, Mehta JL, Endothelial platelet and leukocyte interactions in ischemic heart disease:insights potential mechanisms and their clinical relevance. *JAm Coll Cadiol* 1990;16:207-22
- 22.**Dyer, D.G. ,(1993), Accumulation of maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging. *J. Clin. Inv.*, 91: 2463-2469.
- 23.**Emre M, Özcal I, Şan M, Endoteldeki İyon Kanalları ve İşlevleri, 2004 Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal) 26 (4) 186-193.
- 24.**Forbes, J., Soldatos, G., Thomas, M., (2005), Below the radar: Advanced glycation end products that detour “around the side”. *Clin Biochem Rev.*, **26**:123-129.
- 25.**Forster A, Kuhne Y, Henle T., 2005, Studies on absorption and elimination of dietary maillard reaction products. *Ann N Y Acad Sci* 1043:474-81.
- 26.**Furber,J.D.,2010,The Future of Aging,Dordrecht:Springer Netherlands,doi:10,1007/978-90-481-3999-6,587-621 p.
- 27.**Giacco F, Brownlee M, 2010, Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* 107(9):1058-70.
- 28.**Goh SY, Cooper ME. The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 93:1143-52. doi:10,1210/jc,2007-1817
- 29.**Goldin A, Joshua A. Beckman, Ann Marie Schmidt and Mark A. Creager, 2006, Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *J Clin Endocrinol Metab* 114(6):597-605.
- 30.**Goova MT, Kislinger JLT, Bucciarelli WLG, et al. Blockade of receptors for advanced glycation endproducts restores effective wound healing in diabetic mice, *Am J Pathol* 2001;159:513-25. doi:10,1016/S0002-9440(10)61723-3

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- 31.** Hammes HP, Du X, Edelstein D, et al., 2003, Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy. *Nat Med* 9:294-9. doi:10.1038/nm834.
- 32.** Hartog J. W., Voors, A. A., Bakker, S. J., Smit, A. J., van Veldhuisen, D. J., (2007), Advanced Glycation end products (AGEs) and heart failure: pathophysiology and clinical implications. *Eur. J. Heart Fail.* 9, 1146-1155.
- 33.** Herold K, Moser B, Chen Y, et al., 2007, Receptor for advanced glycation end products (RAGE) in a dash to the rescue: Inflammatory signals gone away in the primal response to stress. *J Leukoc Biol*;82(2):204-12.
- 34.** Jakus, V., Rietbrock, N., (2004), Advanced Glycation End-Products and the Progress of Diabetic Vascular Complications. *Physiol. Res.*, **53**:131-142
- 35.** Kamer K, 2011, Protein Glikasyonu, Hacettepe Tıp Dergisi;42:95-104
- 36.** Kaur H, Prabhakar S., 2011, Novel therapies of diabetic nephropathy. *Nephrology Reviews* 3:e4:2335. doi:10.4081/nr.2011.e4
- 37.** Kass DA, Shapiro EP, Kawaguchi M, Capriotti AR, Scuteri A, deGroot RC, Lakatta EG., 2001, Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker, *Circulation* 104:1464-1470.
- 38.** Kass DA, 2003, Getting better without AGE: new insights into the diabetic heart, *Circ Res.*;92:704-706.
- 39.** Kim J, Song B, Park S, MD, Hwang K, 2010, Alagebrium Chloride a Novel Advanced Glycation End-Product Cross Linkage Breaker, Inhibits Neointimal Proliferation in a Diabetic Rat Carotid Balloon Injury Model

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

40. Little, W.C., Zile, M.R., Kitzman, D.W., Hundley, W.G., O'Brien, T.X. and de Groof, R.C., 2005, The effect of alagebrium chloride (ALT-711), a novel glucose cross-link breaker, in the treatment of elderly patients with diastolic heart failure, *J Card Fail*, 11, 3, 191-195 p.
41. Lo Twc, Selwood T. Thornalley Pj, (1994), The reaction of methylglyoxal with aminoguanidine under physiological conditions and prevention of methylglyoxal binding to plasma proteins. *Biochem Pharmacology* 48:1865-1870.
42. Matsumoto K, Ikeda K, Horouchi S, Zhao H, Abraham EC, (1997), Immunochemical evidence for increased formation of advanced glycation end products and inhibition by aminoguanidine in diabetic rat lens. *Biochem. Biophys. Res. Comm* 241:352-354
43. Miyata, T., Maeda, K., Kurokawa, K., Van, Ypersele De Strihou, C., (1997), Oxidation conspires with glycation to generate noxious advanced glycation end-products in renal failure. *Nephrol Dial Transplant.*, 12:255-258.
44. Monnier, VM., Glomb, M., Elgawish, A., Sell, D.R. ,(1996), The mechanism of collagen cross-linking in diabetes: a puzzle nearing resolution. *Diabetes*, 45:367-372.
45. Monnier VM, Miyata S, Sell Dr: Relevance of early and advanced Maillard reaction in diabetic neuropathy. *Diabetes. Med.* (1993)10(Suppl.2):103S-106S.
46. Nessar, A., (2005), Advanced glycation end products-role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract.*, 67:3-21.
47. Özyazgan S, Diyabetin vasküler etkileri, Sıçan aortu ve internal mammaryan arter çalışmalarımızdan örnekler
48. Parmaksız İ, 2011; İleri Glikasyon Son Ürünleri ve Diyabet, *Marmara Medical Journal* 24:141-8.
49. Peyroux J, Sternberg M., 2006, Advanced glycation endproducts (AGEs): pharmacological inhibition in diabetes. *Pathol Biol (Paris)* 54:405-19. Doi:10.1016/j.patbio.2006.07.006

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- 50.**Riehl A, Nemeth J, 2009, The receptor RAGE:bridging inflammation ad cancer. Cell Communication and Signaling 7:12,doi:10.1186/1478-811X-7-12,
- 51.**Schalkwijk CG. Therapeutic interventions in the glyc(oxid)ation pathway. Immunol Endocr Metab Agents Med Chem 2007;7:57-68.
- 52.**Shao, C. H., Rozanski , G. J., Patel, K. P., Bidasee, K. R.(2007), Dyssynchronous Ca⁺² release in myocytes from streptozotocin-induced diabetic rats. J. Mol. Cell. Cardiol. 42,234-246
- 53.**Singh, R., Barden, A., Mori, T., Beilin, L., (2001), Advanced glycation endproducts:a review. *Diabetologia*, **44**:129-146.
- 54.** Sırmagül B, Deneysel DOCA-Tuz Hipertansiyon modelinde Amlodipin, Silazapril ve Mibefradil'in hemodinamik ve yapısal parametrelere etkileri, 1999.
- 55.**Sugiyama S, Miyata T, Horie K, et al., 1996, Advanced glycation endproducts in diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 11:91-4.
- 56.**Stitt A, Gardiner TA, Alderson NL, et al. The AGE inhibitor pyridoxamine inhibits development of retinopathy in experimental diabetes. *Diabetes* 2002;51:2826-32. doi:10.23337/diabetes.51.9.2826
- 57.**Susic D, Varagic J, Ahn J, Frolich ED, 2004, Crosslink breaker: a new approach to cardiovascular therapy. *Car Opin Cardiol*, 19:336-340.
- 58.**Thornalley PJ.Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts.*Arch Biochem Biophys* 2003;419:31-40.doi:10.1016/j.abb.2003.08.013
- 59.**Ulrich, P., Cerami, A., (2001), Protein glycation, diabetes and aging. *Recent Progress in Hormone Research*, **56**:1-22.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- 60.** Wang , K., Zhou, Z., Zhang, M., Forudi ,F., Zhou, X., Lincoff, L.M.,Schmidt, A.M., QU, W.,Topol, E.J., Penn, M.S., (2006), Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Down-Regulates Receptor for Advanced Glycation End Products and Inhibits Smooth Muscle Cell Proliferation in a Diabetic and Nondiabetic Rat Carotid Artery Injury Model. *JPET*, **317**:37-43.
- 61.** Wautier, J.L., Guillausseau, P.J., (2001), Advanced glycation end products ,their receptors and diabetic angiopathy.*Diabetes metab.*, **27**:535-542.
- 62.** Vasan, S., Zhang, X., (1996), An agent cleaving glucose-derived protein cross-linking in vitro and in vivo. *Nature*, **382**:275-278.
- 63.** Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T, et al, 2007, Oral administration of AST-120(Kremezin) is a promising therapeutic strategy for advanced glycation end product (AGE)-related disorders. *Med Hypotheses* 69:666-8. doi:10.1016/j.mehy.2006.12.045
- 64.** Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM, Mechanisms of Disease, 2008, Advanced glycation end-products and their receptor in inflammation and diabetes complications. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*;4(5):285-93
- 65.** Zieman S., Kass, D.A., (2004), Advanced Glycation End Product Cross-Linking:Pathophysiologic Role and Therapeutic Target in Cardiovascular Disease. *Congestive Heart Failure*,**10**:144-151.
- 66.** Ziemann SJ, Melenovsky V, Clattenburg L, Corretti MC, Capriotti A, Gerstenblith G, Kass DA, 2007, Advanced glycation endproduct crosslink breaker (alagebrum) improves endothelial function in patients with isolated systolic hypertension, *25*(3):577-83.

ÇİĞDEM TOPRAK

Kişisel Bilgiler :

Doğum Tarihi : 11.10. 1983
Doğum Yeri : Ankara
Uyruğu : T.C.
Medeni Hali : Bekar

Eğitim Durumu :

Yıl	Üniversite
Yüksek Lisans 2011- halen	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji A.D
Yüksek Lisans 2006- 2009	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik A.D
Üniversite 2002-2006	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji bölümü
Lise 09.1997- 02.2000	Ankara Kocatepe Mimar Kemal Lisesi

Yabancı Diller :

İngilizce
(İyi Seviyede)