

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA METILGLİOKSAL İLE İNDÜKLENEN ENDOTEL  
DISFONKSİYONUNA BERBERİN'İN ETKİSİ: AMPK/PI3K/AKT/ENOS  
YOLAĞININ ROLÜ**

Ayşe BARUTÇUGİL

DOKTORA TEZİ

2022-ANTALYA

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA METILGLİOKSAL İLE İNDÜKLENEN ENDOTEL  
DISFONKSİYONUNA BERBERİN’İN ETKİSİ: AMPK/PI3K/AKT/ENOS  
YOLAĞININ ROLÜ**

Ayşe BARUTÇUGİL

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

**Prof. Dr. Arda TAŞATARGİL**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2019-4922 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2022-ANTALYA

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼ne;**

Bu alışma j¼rimiz tarafından Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Tıbbi Farmakoloji Programında doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 12/05/2022

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Arda TAşATARGİL  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

¼ye : Prof. Dr. Sadi ¼ZDEM  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

¼ye : Prof. Dr. Filiz BASRALI  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi  
Fizyoloji Anabilim Dalı

¼ye : Doç Dr. Mehtap SAVRAN  
S¼leyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

¼ye : Dr. ¼ęr. ¼yesi ř¼kriye YEşİLOT  
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi  
Bucak Sağlık Y¼ksekokulu

Bu tez, Enstit¼ Y¼netim Kurulunca belirlenen yukarıdaki j¼ri ¼yeleri tarafından uygun g¼r¼lm¼ř ve Enstit¼ Y¼netim Kurulu'nun ...../...../..... tarih ve ...../..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Melek CENGİZ

Enstit¼ M¼d¼r¼

## ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Ayşe BARUTÇUGİL

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin her aşamasında bilgi ve tecrübesinden yararlandığım danışman hocam Prof. Dr. Arda TAŞATARGİL'e,

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma,

Öğrenimim süresince her konuda yardımcı olan Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına,

Bu süreçte her konuda yanımda olup yol gösteren arkadaşlarım Zinnet Şevval AKSOYALP, Dilara NEMUTLU SAMUR, Ayşe Gül GÖNEN ve Melike Nur AKBAŞ'a,

Hayatımın her aşamasında her türlü desteğiyle yanımda olan sevgili eşim ile biricik kızım ve oğluma tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunuyorum.

## ÖZET

**Amaç:** Berberinin kardiyovasküler sistem üzerindeki faydalı etkilerine dair birçok veri mevcuttur. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda metilglioksal (MGO) ile indüklenen endotel disfonksiyonuna berberin'in koruyucu etkisi ve bu etkide AMPK/PI3K/Akt/eNOS yolağının rolünü araştırmaktır.

**Yöntem:** Çalışmamızda toplam 48 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol, MGO maruziyeti yapılanlar ve MGO ile birlikte berberin uygulanan sıçanlar ve tek başına berberin uygulanan sıçanlar olmak üzere 4 gruba ayrıldı. MGO grubu sıçanlara sırt bölgesine osmotik pompa ile 4 hafta sürekli infüzyon ile MGO uygulandı. MGO berberin grubu sıçanlarda MGO pompası uygulamasının yanısıra günde tek doz oral gavaj yoluyla berberin uygulandı. Son grupta oral gavaj yoluyla sadece berberin uygulandı. 4 hafta sonra sıçanların torasik aortları çıkarıldı. İzole organ banyosunda asetilkolin (ACh), sodyum nitroprussid (SNP), potasyum klorür (KCl) ve fenilefrin (Phe) yanıtları elde edildi. Ayrıca L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonrasında ACh yanıtları elde edildi.

**Bulgular:** MGO uygulaması ACh ile indüklenen endotel bağımlı yanıtlarda anlamlı azalmaya neden olurken MGO berberin grubunda bu yanıtlarda anlamlı artış elde edildi. Endotelden bağımsız SNP yanıtlarında gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi. Hem Fe hem KCl kasılmalarında da gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi. L-NAME, ODQ, Wortmannin inkübasyonu ile ACh yanıtlarında azalma elde edilirken, Compound C inkübasyonu bu yanıtı etkilemedi.

**Sonuç:** MGO'in endotel bağımlı gevşeme yanıtlarını bozduğu ve berberin'in bu yanıtta önemli artış oluşturarak endotel fonksiyonda düzelme sağladığı sonucuna varıldı. Berberin bu koruyucu etkiyi NOS ve PI3K/Akt yolağı aracılığıyla ortaya çıkarıyor olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Endotel, Berberin, Metilglioksal

## ABSTRACT

**Objective:** There are many data on the beneficial effects of berberine on the cardiovascular system. The aim of this study is to investigate the protective effect of berberine on methylglyoxal (MGO)-induced endothelial dysfunction in rats and the role of AMPK/PI3K/AKT/eNOS pathway in this effect.

**Method:** A total of 48 male rats were used in our study. The rats were divided into 4 groups as control, those exposed to MGO, rats treated with MGO together with berberine and rats treated with berberine alone. MGO was administered to rats in the MGO group with an osmotic pump to the dorsal region for 4 weeks. In the MGO berberine group rats berberine was applied through gavage a single dosage a day with MGO osmotic pump application. In the last group, only berberine was administered by oral gavage. After 4 weeks, the thoracic aorta of the rats was removed. Acetylcholine (ACh), sodium nitroprusside (SNP), potassium chloride (KCl) and phenylephrine (Phe) responses were obtained in the isolated organ bath. In addition, ACh responses were obtained after incubation of L-NAME, ODQ, Wortmannin and Compound C.

**Results:** While MGO administration caused a significant decrease in ACh-induced endothelial-dependent responses, a significant increase was obtained in these responses in the MGO berberine group. No significant difference was observed between the groups in endothelial-independent SNP responses. No significant difference was observed between the groups in both Fe and KCl contractions. A decrease in ACh responses was obtained with L-NAME, ODQ, Wortmannin incubation, while Compound C incubation did not affect this response.

**Conclusion:** it was concluded that MGO impairs endothelial-dependent relaxation responses and berberine provides an improvement in endothelial function by creating a significant increase in this response. Berberine may exert this protective effect through the NOS and PI3K/Akt pathway.

**Key Words:** Endothelium, Berberine, Methylglyoxal

## İÇİNDEKİLER

|                                                                            |             |
|----------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>ABSTRACT</b>                                                            | <b>vii</b>  |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>                                                         | <b>viii</b> |
| <b>TABLolar DİZİNİ</b>                                                     | <b>xi</b>   |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>                                                     | <b>xii</b>  |
| <b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>                                             | <b>xiii</b> |
| <b>1. GİRİŞ</b>                                                            | <b>1</b>    |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>                                                   | <b>2</b>    |
| 1. Endotel                                                                 | 2           |
| 1.1. Endotel disfonksiyonu                                                 | 3           |
| 2. Metilglioksal glioksalaz dengesi ve vasküler hasarla ilişkisi           | 3           |
| 3. MGO ile indüklenen insülin direnci ve endotel disfonksiyonuyla ilişkisi | 9           |
| 4. Berberin                                                                | 11          |
| 4.1. Berberin'in temel karakteristiği ve tarihi                            | 12          |
| 4.2. Berberin'in fizikokimyasal özellikleri                                | 12          |
| 4.3. Biyoyararlanım ve metabolizması                                       | 13          |
| 4.4. Güvenlik                                                              | 15          |
| 5. Kardiyovasküler Hastalıklarda Berberin                                  | 16          |
| 5.1. Ateroskleroz                                                          | 16          |
| 5.1.1. Aterosklerozda berberin'in etkisi                                   | 17          |
| 5.2. Kalp yetmezliği                                                       | 22          |
| 5.3. Hipertansiyon                                                         | 23          |

|                                                                                                     |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.4. İskemi reperfüzyon hasarı                                                                      | 25        |
| 5.5. İnme                                                                                           | 26        |
| 6. Metabolik hastalıklarda berberin                                                                 | 27        |
| 6.1. Glikoz metabolizmasında berberin                                                               | 27        |
| 6.2. Lipid metabolizmasında berberin                                                                | 30        |
| 6.3. Barsak mikrobiyotası düzenlenmesinde berberinin etkisi                                         | 34        |
| 7. Klinik araştırmalar                                                                              | 34        |
| 7.1. Tip 2 diyabetli hastalarda berberinin etkisi                                                   | 35        |
| 7.2. Tip 2 diyabetli ve dislipidemi hastalarda berberinin etkisi                                    | 35        |
| 7.3. Kardiyovasküler hastalıklardaki klinik araştırmalar                                            | 35        |
| 8. Kardiyovasküler hastalıklarda yeni berberin türevlerinin geliştirilmesi                          | 36        |
| 9. Sonuç uyarılar ve gelecek perspektifler                                                          | 38        |
| <b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>                                                                           | <b>40</b> |
| 3.1. Deney modeli                                                                                   | 40        |
| 3.2. Protokol                                                                                       | 42        |
| 3.3. İlaçlar                                                                                        | 42        |
| 3.4. İstatistiksel analizler                                                                        | 42        |
| <b>4. BULGULAR</b>                                                                                  | <b>43</b> |
| 4.1. Asetilkolinle elde edilen endotel bağımlı gevşeme yanıtları                                    | 43        |
| 4.2. L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonucu ACh ile elde edilen gevşeme yanıtları | 44        |
| 4.3. Aort halkalarında endotelden bağımsız SNP ile elde edilen gevşeme yanıtları                    | 47        |
| 4.4. KCl ve fenilefrin ile elde edilen kasılma yanıtları                                            | 48        |
| <b>5. TARTIŞMA</b>                                                                                  | <b>50</b> |

|                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| <b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b> | <b>54</b> |
| <b>KAYNAKLAR</b>            | <b>55</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>             | <b>77</b> |



## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1: Endotel kaynaklı gevşetici ve kasıcı faktörler. .... | 2  |
| Tablo 2: Deney grupları .....                                 | 40 |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1: Vasküler fonksiyonda MGO akümülayonunun etkisi.....                                                                                                                                                  | 6  |
| Şekil 2: Berberin ve metabolitlerinin kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                   | 14 |
| Şekil 5: İnmede berberinin etkisinin potansiyel hedefleri ve mekanizması.....                                                                                                                                 | 27 |
| Şekil 6: Berberinin glikoz düşürücü etkisinin mekanizması.....                                                                                                                                                | 29 |
| Şekil 7: Berberinin lipid düşürücü etki mekanizması .....                                                                                                                                                     | 31 |
| Şekil 10: Elde edilen doku preparatlarının hazırlanması .....                                                                                                                                                 | 41 |
| Şekil 11: Hazırlanan preparatların yerleştirildiği organ banyosu .....                                                                                                                                        | 41 |
| Şekil 12: Asetilkolinle elde edilen gevşeme yanıtı. * $p < 0,05$ kontrole göre, ** $p < 0.05$ MGO'ya göre anlamlı .....                                                                                       | 43 |
| Şekil 13: Kontrol grubundaki aort halkalarında L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonrası ACh ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı * $p < 0,05$ kontrole göre anlamlı .....          | 44 |
| Şekil 14: MGO grubundaki aort halkalarında L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonrası ACh ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı .....                                                 | 45 |
| Şekil 15: Kontrol berberin grubundaki aort halkalarında L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonrası ACh ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı * $p < 0,05$ kontrole göre anlamlı ..... | 46 |
| Şekil 16: MGO berberin grubundaki aort halkalarında L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonrası ACh ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı * $p < 0,05$ MGO berberin grubuna göre.....  | 46 |
| Şekil 17: Aort halkalarında SNP ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı .....                                                                                                                          | 47 |
| Şekil 18: 20-80 mM KCl ile oluşan kasılma yanıtları.....                                                                                                                                                      | 48 |
| Şekil 19: Fenilefrinle elde edilen konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları .....                                                                                                                              | 48 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR

**EDRF:** Endotel kaynaklı gevşetici faktör

**EDCF:** Endotel kaynaklı kasıcı faktör

**NO:** Nitrik oksit

**PGI<sub>2</sub>:** Prostrasiklin

**EDRF:** Endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Hidrojen peroksit

**TXA<sub>2</sub>:** Tromboksan A<sub>2</sub>

**ROS:** Reaktif oksijen türleri

**eNOS:** Endotelial nitrik oksit sentaz

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>:** Süperoksit radikali

**ONOO<sup>-</sup>:** Peroksinitrit

**MGO:** Metilglioksal

**AGE:** İleri glikasyon son ürünü

**Glo1:** Glioksalaz 1

**Glo2:** Glioksalaz 2

**GSH:** Glutasyon

**HbA1c :** Hemoglobin A1c

**ARE:** Antioksidan yanıt verici element

**HIF1:** Hipoksiyle indüklenebilir faktör

**Nrf2:** Nükleer faktör eritroid 2

**NF-κB:** Nükleer faktör kappa B

**RAGE:** İleri glikasyon son ürünleri reseptörü

**SNP:** Tek nükleotid polimorfizmi

**VCAM:** Vasküler hücre adezyon molekülü

**MCP-1:** Monosit kemoatraktan protein

**NADPH:** Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

**IRS:** insülin reseptör substrat

**PI3K :** Fosfatidilinositol 3-kinaz

**Akt:** Protein kinaz B

**SIRT1:** survival faktör sirtuin-1

**MAPK:** Mitojenle aktive olan protein kinaz

**ERK:** Ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz

**EPC:** Endotel progenitör hücre

**LD50:** Letal doz

**AMPK:** Adenozin monofosfatla aktive edilen protein kinaz

**p-eNOS:** Fosforile eNOS

**TNF- $\alpha$ :** Tümör nekrozis faktör alfa

**LDL:** Düşük yoğunluklu lipoprotein

**HDL:** Yüksek yoğunluklu lipoprotein

**LDLR:** LDL reseptörü

**PCSK9:** Proprotein konvertaz subtilisin kexin tip 9

**mRNA:** Mesajcı ribonükleik asit

**HNF:** Hepatosit nükleer faktör

**SREBP:** Sterol düzenleme elemanına bağlanan protein

**EMMPRIN:** Ekstraselüler matriks metalloproteinaz indükleyici

**MMP:** Matriks metalloproteinaz

**IL-1 $\beta$ :** İnterlökin 1 beta

**IL-6:**İnterlökün 6

**LV:** Sol ventrikül

**ER:** Endoplazmik retikulum

**RAS:** Renin anjiotensin sistemi

**MLC:** Miyozin hafif zinciri

**TRPV4:** Transient reseptör potansiyel vanilloid 4

**PERK:** Endoplazmik retikulum stres değıştirici

**ADP/ATP:** Adenozin difosfat/ adenozin trifosfat

**AMP/ATP:** Adenozin monofosfat/adenozin trifosfat

**GSK3 $\beta$ :** Glikojen sentaz kinaz 3 $\beta$

**CREB:** Siklik adenozin monofosfat yanıt elemanı bağlayıcı protein

**GLUT4:** Glikoz transporter 4

**InsR:** .İnsülin reseptörü

**GLP:** Glukagon benzeri peptit

**RBP:** Retinol bağlayıcı protein

**PPAR:** Peroksizom proliferatörle aktive olan reseptör

**hnRNP D:** Heterojen nükleer ribonükleoprotein D

**Raf:** Rasla ilişkili faktör

**HMG-CoA:** Hidroksi metil glutaril koenzim A

**SRE:** Sterol düzenleyici element

**LOX-1:** Okside LDL reseptörü

**SOD:** Süperoksit dismutaz

**mTOR:** Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi

**ACh:** Asetilkolin

**SNP:** Sodyum nitropurussid

**Phe:** Fenilefrin

**KCl:** Potasyum Klorür



## 1. GİRİŞ

Endotel; hemostaz, damar geçirgenliği ve kan basıncı gibi kardiyovasküler birçok temel fonksiyonu kontrol etmektedir. Damar endotel fonksiyon bozukluğu (endotel disfonksiyonu) kardiyovasküler hastalıkların gelişiminin erken bir bulgusudur ve ateroskleroz ile hipertansiyonlu hastalardaki klinik olaylar ile yakından ilişkilidir. Bu nedenle, endotel disfonksiyonu gelişiminin mekanizmaları ile ilişkili bilgiler ve endotel disfonksiyonunu önlemeye yönelik farmakolojik stratejiler bu hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için büyük önem taşımaktadır.

Hiperglisemi ve metilglioksal (MGO) düzeylerinde artış diyabetik hastalarda görülen iki temel semptomdur ve MGO maruziyetinin tek başına, hiperglisemi olmaksızın, diyabet-benzeri komplikasyonları oluşturabileceği bildirilmiştir.

MGO düzeylerinin arttığı diğer önemli klinik durumlar arasında diyabet dışında hipertansiyon, hiperlipidemi, obezite ve yaşlılık bulunmaktadır. Bu gibi klinik durumlarda MGO aracılı zararlı etkileri önleme potansiyeline sahip olan bileşikler, MGO düzeylerinin arttığı bu klinik durumlarda gözlenen endotel disfonksiyonu gibi komplikasyonların önlenmesinde yararlı olabilir.

Çeşitli çalışmalar berberinin PI3K/AKT/AMPK aktivasyonu aracılığıyla endotel hasarının önlenmesi için terapötik bir hedef olabileceğini göstermektedir. Berberin'in vazoaktif özellikleri üzerine çalışmalar olmasına rağmen, damarlar üzerinde yüksek MGO maruziyetine bağlı gelişen hasara karşı etkileri daha önce hiç çalışılmamıştır.

Tüm bu bilgiler eşliğinde, MGO düzeylerinin artması kan glikoz düzeylerinden bağımsız olarak endotel disfonksiyonu ve hipertansiyon gelişimine neden olan önemli bir faktördür. Bu nedenle bu çalışmada sıçanlarda MGO ile indüklenen endotel disfonksiyonuna berberin'in koruyucu etkisi ve bu etkide AMPK/PI3K/AKT/eNOS yolağının rolü araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 1. Endotel

Endotel damar lümen alanında yer alan kan ve dokular arasında madde alışverişini sağlamak için geniş yüzey alanına sahip olan ince düz hücre tabakasıdır. Vasküler endotel hücreleri kardiyovasküler homeostazın sağlanmasında önemli rol oynamaktadır. Endotel damar duvarı ve lümen arasında fiziksel bir bariyer sağlamanın yanısıra çeşitli vazokonstriktör ve vazodilatör faktörler salgılayarak kan basıncı düzenlenmesinde kritik fonksiyona sahiptir. 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki endotel hücrelerin varlığı durumunda asetilkolin ile gevşeme oluştuğunu, asetilkolin'in endoteli hemen altında bulunan düz kası gevşetecek faktörleri salgılayacak şekilde stimüle ettiğini bildirmişlerdir. Günümüzde endotelin hücre koşullarına bağlı olarak; nörotransmitterlerle, hormonlarla, platelet kaynaklı maddelerle ve mekanik akım stres aracılığıyla endotel kaynaklı gevşetici faktörleri (EDRF) ve/veya endotel kaynaklı kasıcı faktörleri (EDCF) salgıladığı bilinmektedir (Tablo 1) (Furchgott ve Zawadzki, 1980).

| EDRF'ler                                                   | EDCF'ler                                      |
|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Nitrik oksit (NO)                                          | Endotelin - I                                 |
| Prostasiklin (PGI <sub>2</sub> )                           | Anjiotensin - II                              |
| Endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktörler (EDRF'ler); | Tromboksan A <sub>2</sub> (TxA <sub>2</sub> ) |
| Potasyum İyonları (K <sup>+</sup> )                        | Prostoglandin H <sub>2</sub>                  |
| Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )         | Reaktif Oksijen Türleri (ROS)                 |

Tablo 1: Endotel kaynaklı gevşetici ve kasıcı faktörler.

Endotel kaynaklı gevşetici faktör terimi klasik olarak nitrik oksit (NO) olarak düşünülmekle birlikte; endotel kaynaklı gevşetici faktörler NO, prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) ve endotel kaynaklı hiperpolarizan faktördür (EDHF). Bu faktörler kendi yolları aracılığıyla gevşemeyi indüklemektedir. Endotel kaynaklı kasıcı faktörler ise diğer etkilerinin yanısıra vasküler kasılmaya neden olmaktadır. (Endemann ve Schiffman, 2004). Böylece endotel EDRF ve EDCF'ler aracılığı ile vasküler tonusun düzenlenmesinde rol oynamaktadır.

### 1.1. Endotel disfonksiyonu

Endotel disfonksiyonu; asetilkolin, bradikinin ve akım stresi gibi agonistlere yanıt olarak oluşan endotel bağımlı gevşemenin bozulması olarak nitelendirilebilir. Patofizyolojik mekanizmasında EDRF'de azalma ya da EDCF'de artma sonucu endotel kaynaklı vazoaaktif faktörlerin dengesinde bozulma göze çarpmaktadır. Endotel disfonksiyonu patogenezinde diğer EDRF ve EDCF'ler de rol oynamakla birlikte, temel olarak NO üretiminde ve/veya biyoyararlanımında azalma temel mekanizma olarak düşünülmektedir. NO üretiminde azalma endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonu veya aktivasyonunda azalma ile ilişkilendirilmektedir (Kang, 2014). Çeşitli çalışmalarda anjiotensin II infüze edilen hipertansif sıçanlarda, deoksikortikosteron asetat tuzu ile hipertansif sıçan modelinde (Sullivan ve ark., 2002), spontan hipertansif sıçanlarda (Nava ve ark., 1996), diyabetik sıçanlarda (Hink ve ark., 2001) ve aterosklerotik sıçan modelinde (Laursen ve ark., 2001) eNOS ekspresyonunun değiştiği hatta arttığı bildirilmiştir. Bu nedenle; NO üretiminde azalma eNOS ekspresyonundan ziyade aktivitesinin değişimiyle ilişkilendirilmiştir. Çeşitli hipertansiyon modellerinde bu aktivite değişiminin muhtemelen yanlış lokalizasyon, uncoupling ve/veya substrat yararlanımında azalma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Diğer yandan; oksidatif stres koşullarında artan süperoksit radikal ( $O_2^-$ ) oluşumundaki artış sonucu NO ve  $O_2^-$  reaksiyona girerek peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) oluşturmakta ve bu durum hem vazokonstriksiyonu indüklemekte hem de NOS uncouplingi, lipid peroksidasyonu ve vasküler hasara neden olmaktadır (Forstermann ve Munzel, 2006).

Endotel disfonksiyonu hipertansiyon, koroner arter hastalığı, kronik kalp yetmezliği, periferik arter hastalığı, diyabet ve kronik renal yetmezlik gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Endotel disfonksiyonu ateroskleroz patogeneziyle de yakından ilgilidir; çünkü protrombotik, proinflamatuvar, ve proliferatif koşulların başlaması ve ilerlemesine katkıda bulunmaktadır.

### 2. Metilgliksal gliksalaz dengesi ve vasküler hasarla ilişkisi

Metilgliksal (MGO) temel olarak glikolizin yan ürünü olarak oluşan bir dikarbonil aldehittir (Phillips ve Thornalley, 1993). Doğası gereği organizmadaki diğer moleküllerle reaksiyona girerek hücre ve doku disfonksiyonuna neden olmaktadır (Rabbani ve ark.,

2016a). Hücreler temel enerji kaynağı olarak glikozu kullanırken kalan glikozu glikojen gibi reaktif olmayan moleküller şeklinde depolamakta, ancak bu süreçte memeli hücrelerinde spontan ve kaçınılmaz olarak Embden Meyerhof yolağı ile MGO oluşmaktadır (Phillips ve Thornalley, 1993). Normal glisemik koşullar altında glikoliz sonucu günde 125  $\mu\text{mol/kg}$  MGO oluşumu sağlamaktadır (Thornalley, 1988). Bu durum hiperglisemi gibi glikoz metabolizmasının arttığı koşullarda (Babaei-Jadidi ve ark., 2003), pentoz yolağındaki bozukluklarda, yada hipoksi gibi anaerobik glikolizin arttığı koşullarda artabilir (Seagroves ve ark., 2001). Küçük bir miktar MGO keton cisimciklerinin katabolizması sırasında aseton oksidasyonu ile (Beisswenger ve ark., 2005), threonin katabolizması sırasında aminoaseton oksidasyonu ile (Lyles ve Chalmers, 1992), glike proteinlerin ve monosakkaritlerin degradasyonu ve lipid peroksidasyonu ile de oluşabilmektedir (Thornalley ve ark., 1999).

Eksojen kaynakların MGO düzeylerine katkısı halen tartışmalıdır. Bal gibi doğal ürünlerde, işlem görmüş yiyecek ve içeceklerde, kahvede, süt ürünlerinde yüksek miktarda MGO tespit edilmiştir (Degen ve ark., 2012). Gıda maddelerindeki MGO düzeyi ısıtma işlemi, depolanma süresi ve fermentasyondan önemli derecede etkilenmektedir (Martins ve Van Boekel, 2003). Alkollü içeceklerde ve peynirlerde mikroorganizmalar MGO salgılamaktadır. Beklenmedik şekilde; ozonlanma ya da klorlanmaya maruz bırakılmış içme suyunda bile çeşitli miktarlarda MGO bulunabilmektedir (Nemet ve ark., 2006). Kirli hava da eksojen bir MGO kaynağıdır. Özellikle sigara kapalı ortam kontaminasyonunun majör bileşenidir (Fujioka ve Shibamoto, 2006). Bununla birlikte; bu eksojen MGO kaynaklarının plazma MGO düzeyi için anlamlı olup olmadığı netlik kazanmamıştır. Çeşitli çalışmalar serbest MGO'nun sindirim sırasında bağırsaklarda hızla degrede olarak in vivo MGO düzeyini etkilemediğini bildirmektedir. Ancak MGO kaynaklı ileri glikasyon son ürünlerin (AGE'ler) en az %10'unun absorbe olarak damarlar, kalp, karaciğer, böbrek ve adipoz dokuda biriktiği hakkında da veriler mevcuttur (Maessen ve ark., 2015).

Sağlıklı kişilerde MGO düzeyi plazmada 50-150 nM, dokularda 1-4  $\mu\text{M}$  olarak kabul edilmektedir (Rabbani ve Thornalley, 2014a). MGO biriktiğinde bu düzeyler aşılarak MGO metabolizmasındaki oluşum/atılım dengesinin bozulmasının sonucu olarak dikarbonil stresi oluşur (Rabbani ve Thornalley, 2015).

Fizyolojik koşullarda MGO'nun %99'dan fazlası glioksalaz sistemiyle detoksifiye edilmektedir (Rabbani ve Thornalley, 2014b). Minör metabolizması ise aldoketoredüktazlar ve aldehit dehidrogenazlar ile MGO'nun hidroksiaseton ve pirüvata dönüştürülmesi şeklinde meydana gelmektedir (Baba ve ark., 2009). Glioksalaz sistemi glioksalaz 1 (Glo1), glioksalaz 2 (Glo2) ve katalitik miktarda glutatyon (GSH) dan oluşmaktadır. Hız kısıtlayıcı enzim olarak görev yapan Glo1 spontan oluşan MGO-GSH hemithioasetal'i tiyoester S-D-laktoylglutatyon'a dönüştürerek primer detoksifikasyonu katalizler (Sousa Silva ve ark., 2013). Aktivitesi direk olarak GSH konsantrasyonuyla orantılıdır. Oksidatif stres gibi GSH konsantrasyonunun azaldığı durumlarda Glo1 aktivitesi zayıflamaktadır. Glo2; S-D-laktoylglutatyonun D-laktat ve GSH'a hidrolizini katalizler (Thornalley, 1993).

Glo1 aktivitesinin modülasyonu hem gen ekspresyonunun hem de post translasyonel modifikasyonların regülasyonuna bağlıdır. Glo1 geni exon-1de antioksidan yanıt verici elementi (ARE) içeren regülatör elementleri içerir ve ekspresyonu hipoksik koşullarda ARE'ye bağlanan hipoksiyle indüklenebilir faktör (HIF1 $\alpha$ ) ile negatif regüledir (Zhang ve ark., 2012a). Aslında hipoksi dikarbonil stresinin önemli bir fizyolojik indükleyicisi olup anaerobik glikoliz aracılı metabolik akışı artırarak MGO oluşumunu hızlandırmaktadır (Sullivan ve ark., 2002). Hipoksi Glo1 ekspresyonunu da azaltır (Rabbani ve ark., 2016b). Dahası bazal ve indüklenen Glo1 ekspresyonu regülatör ARE'ler aracılı nükleer faktör eritroid 2 (Nrf2) ile kontrol edilen stres yanıtıyla da ilişkilidir (Xue ve ark., 2012). Kronik hiperglisemi ve bununla ilgili enflamasyon da nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B) nin yapısal aktivasyonunun Glo1 ekspresyonu ve aktivitesinin bozulmasına aracılık ettiği bildirilmiştir (Bierhaus ve ark., 2001). Daha sonra NF- $\kappa$ B'nin Nrf2 nin transkripsiyonel aktivitesini antagonize ettiğinin gösterilmesi, diyabet ve obezitede tipik olarak görülen proinflamatuvar koşullarda NF- $\kappa$ B aktivasyonunun Nrf2 etkisini inhibe ederek Glo1 ekspresyonunu bozduğunu telkin etmektedir. Glo1 ekspresyonu ileri glikasyon son ürünleri reseptörü (RAGE) ile negatif regülasyon göstermekte ve yine NF- $\kappa$ B bu yolda önemli rol oynamaktadır (Rabbani ve ark., 2014).

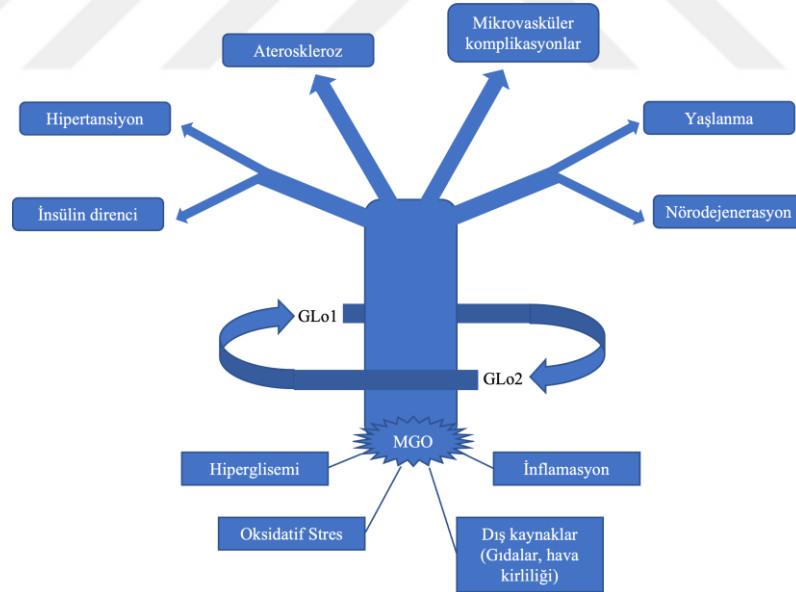
Glo2 de genetik polimorfizmler nadirken, Glo1 geninde farklı tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) tespit edilmiş ve enzim aktivitesinde azalma, diyabetik nöropati

prevalansında ve kardiyovasküler komplikasyonlarda artışla ilişkilendirilmiştir (Rabbani ve Thornalley, 2011).

Morcos ve arkadaşlarının *Caenorhabditis elegans* nematodlarında yapmış oldukları çalışmada da Glo1 aktivitesi ve ekspresyonunda yaşlanmayla birlikte fizyolojik bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada yaşlanma ve Glo1 ekspresyonu arasında ters korelasyon saptanmıştır (Morcos ve ark., 2008). Aynı etki kemirgenlerde de elde edilmiştir (Gu ve ark., 2014).

Dikarbonil metaboliti MGO'nun anormal hücresel birikimi yüksek glikoz konsantrasyonuna maruziyet, oksidatif stres, enflamasyon , hücre yaşlanması ve yaşlanma ile oluşmaktadır. MGO düzeyi ve Glo1 aktivitesi arasında yeterli dengenin sağlanması MGO detoksifikasyonunun sağlanması açısından elzemdir.

Son yıllarda vasküler disfonksiyonda MGO'nun temel rolüne dair veriler artış göstermektedir (Şekil 1) (Shamsaldeen ve ark., 2016).



Şekil 1: Vasküler fonksiyonda MGO akümüülasyonunun etkisi

Endotel disfonksiyonu kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda majör faktörlerden biridir. Vasküler endotel vasküler homeostazı regüle eden otokrin ve parakrin bir organ gibi davranmaktadır (Szmitko ve ark., 2003). Çeşitli stimülanlara yanıt olarak çözünebilir faktörlerin ve ekstraselüler matriks komponentlerinin üretimi aracılığıyla vasküler

tonusun, hücre etkileşiminin, geçirgenliğinin ve koagülasyon sistemlerinin kontrolü sağlanmaktadır. Bu denge bozulduğunda lökosit yapışması, platelet aktivasyonu, mitogenez, prooksidasyon, tromboz ve bozulmuş koagülasyon, vasküler enflamasyon ile ateroskleroz gelişimi ve vazokonstriksiyon oluşabilmektedir. Endotel tarafından üretilen biyoaktif moleküllerin arasında vasküler homeostazın sağlanması açısından NO önem arz etmektedir. NO bazal ve indüklenabilir vasküler düz kas gevşemesini sağlayarak ve Angiotensin II, endotelin-1 gibi güçlü kasıcı faktörlere zıt etki oluşturarak vasküler tonusu kontrol eder. Dahası NO; platelet aktivasyonu, lökosit adezyonu, sitokinle indüklenen vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM) ve monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ekspresyonunu inhibe ederek antiinflamatuvar etki sağlar (Verma ve Anderson, 2002).

Diyabet, obezite, santral sinir sistemi bozuklukları ve kardiyovasküler hastalıklar gibi yaşla ilişkili hastalıklar MGO birikimi ve Glo1 downregülasyonunun yanı sıra, endotel disfonksiyonunu da ortak patolojik paydada ihtiva etmektedir (Eringa ve ark., 2004). MGO, metilglioksal hidroimidazolon ile birlikte baskın olarak proteinlerin arginin rezidüleriyle reaksiyona girerek in vivo koşullarda en yaygın MGO kaynaklı AGE modifikasyonunu oluşturmakta; ve bu yolla da hedef proteinlerin degradasyonu ve inaktivasyonu sonucu yapısal değişikliklere yol açmaktadır (Schalkwijk, 2015). Böylece MGO düzeyindeki artış çeşitli yollarla endotel fonksiyonlarını bozmaktadır. Birçok çalışmada MGO'nun endotel bağımlı damar gevşemesini oksidatif stres aracılığıyla bozduğu gösterilmiştir. Sıçan aort dokusunda hem yüksek glikoz hem de MGO asetilkolin ile indüklenen damar gevşemesini bozmaktadır. Bu etki MGO süpürücüler aminoguanidin ve N-asetil sistein ile (Dhar ve ark., 2010), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz inhibisyonu ile (Mukohda ve ark., 2013), zayıflamakta, Glo-1 overekspresyonuyla engellenmektedir (Brouwers ve ark., 2010). Polifenoller gibi antioksidanların fare korpus kavernozum dokusunda MGO aracılı NO salımındaki bozulmayı engellediği ve endotel aracılı gevşemede iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Boydens ve ark., 2016). MGO'nun ROS'u artırmasının ve apoptotik süreci desteklemesinin sitoprotektif protein thioredoxin transkripsiyonunu azaltması aracılığıyla olduğu düşünülmektedir (Oba ve ark., 2012).

Goto Kakizaki diyabetik sıçanlarında yapılan bir çalışmada MGO uygulamasının oksidatif stresi, AGE oluşumunu ve enflamasyonu artırdığı, NO biyoyararlanımını azalttığı ve

endotel fonksiyonunu bozduğu gösterilmiştir (Sena ve ark., 2012). Spontan hipertansif sıçanlarda MGO birikimi arter duvarında vasküler kontraktıl disfonksiyona neden olmaktadır (Mukohda ve ark., 2012). Dhar ve arkadaşları Sprague Dawley sıçanlarında MGO uygulamasının RAGE aracılığıyla NF-KB'yi aktive ederek renin angiotensin düzeyini ve kan basıncını artırdığını göstermişlerdir (Dhar ve ark., 2014). Bu veriler MGO'nun ateroskleroz sürecinde ve makrovasküler diyabetik komplikasyonların oluşumunda nedensel bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır. Tip 1 diyabetli insanlarda MGO kaynaklı AGE'ler ile endotel disfonksiyonu belirteçleri arasında bir ilişki saptanmıştır. Dahası diyabetik olmayan kişilerde aterosklerotik lezyonlarda Glo1 aktivitesinde azalma hemoglobin A1c (HbA1c) düzeyinde artışla ilişkilendirilmiştir (Peters ve ark., 2016).

Endotel bağımlı NO salınımı ve sonucunda düz kas gevşemesinin önemli bir mediyatörü olan eNOS, MGO'nun zararlı etkilerinin hedeflerindendir. Sıçan izole mezenterik arterlerinde ve torasik aort halkalarında uzun dönem MGO uygulaması eNOS protein düzeyini ve serin 1177'de aktive edilen fosforile formunu azaltmaktadır (Turkseven ve ark., 2014). Ayrıca  $O_2^-$  oluşumu ve eNOS kofaktörü bioplerin deplesyonu ile ilişkili eNOS uncouplingi'nin, MGO ile ortaya çıkan redoks duyarlı mikrovasküler sızıntı ve lökosit alımına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Su ve ark., 2013). Dahası; endotel disfonksiyonuyla sonuçlanan yaşlanmayla alakalı glikatif ve oksidatif stres Glo1 transgenik sıçanlarda azalmaktadır. (Jo-Watanabe ve ark., 2014).

Makrovasküler fonksiyonun yanısıra, MGO ve MGO kaynaklı AGE'ler mikrovasküler fonksiyon üzerinde de zararlı etkiler oluşturarak nefropati ve nöropati oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Glo1 enzim regülasyonunun deneysel diyabette erken renal bozukluğun önlenmesinde önemli olduğu kanıtlanmıştır (Brouwers ve ark., 2014). Bu durum diyabetik Goto-Kakizaki sıçanlarında aşamalı olarak gözlenen çeşitli renal hastalık belirteçlerinin normal Wistar sıçanlarında MGO birikimi sonucunda bozulmasıyla da doğrulanmaktadır (Rodrigues ve ark., 2014). MGO beyin endotel hücrelerinin permeabilitesini artırıp bütünlüğünü azaltarak kan beyin bariyerinde hasarı indüklemektedir (Toth ve ark., 2014). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada; okludin MGO eklentisi oluşumunun sıkı bağlantılarda disfonksiyonu ve beyin mikrovasküler endotel hücrelerinde permeabilite artışına neden olduğu gösterilmiştir (Li ve ark., 2015). Beyin mikrovasküler endotel

hücreleri beyin vasküler tamiri ve devamlılığı açısından önem arz etmektedir. Elde edilen veriler hem diyabetik sıçanlarda hem in vitro hem in vivo beyin iskemi modellerinde MGO'nun beyin mikrovasküler endotel hücre hasarını indükleyerek iskemi reperfüzyon hasarını hızlandırdığını ortaya koymaktadır (Alomar ve ark., 2016; Fang ve ark., 2015).

Bu veriler ışığında; MGO birikiminde azalma sağlamanın vasküler fonksiyonu koruma açısından önemi ortadadır. Son yıllarda MGO süpürücüler ile dikarbonil stresin azaltılması stratejik olarak önem kazanmıştır. Ancak bu denemelerde etkinlik elde edilememesi, güvenlik sorunları ve istenmeyen yan etkiler sebebiyle başarı elde edilememiştir (Maessen ve ark., 2015). Ümit veren diğer bir strateji Glo1 fonksiyonel ARE'ye Nrf2 bağlanması aracılığı ile Glo1 indükleyicilerin geliştirilmesidir. Şimdiye kadar Glo1 indükleyici kombinasyon trans-resveratrol ve hesperetin faz 1 de değerlendirilmiş ve faz 2 ye geçmiştir. Yüksek kilolu kişilerde bu kombinasyon arteriel dilatasyonu iyileştirmekte, vasküler enflamasyon belirteci VCAM-1'i azaltmaktadır (Xue ve ark., 2016). Diyabet ve diğer yaşla ilişkili hastalıklarda dikarbonil stresini azaltmaya yönelik farmakolojik yaklaşımların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

### **3. MGO ile indüklenen insülin direnci ve endotel disfonksiyonuyla ilişkisi**

Yüksek reaktif doğası gereği MGO protein rezidülerinde arginin ve lizin bölgelerine yüksek afinite ile bağlanma eğilimindedir (Rabbani ve Thornalley, 2012). Arginin ve lizin rezidüleri ise insülin sinyal transdüksiyonuyla ilişkili kinazları içeren fonksiyonel protein bölgelerinde lokalize halde bulunmaktadır (Rabbani ve ark., 2016b). İnsülin direnci oluşumunda MGO'nun rolü hakkında veriler mevcuttur.

L6 iskelet kası ve beta hücrelerinde MGO insülin sinyaliyle etkileşim halindedir. INS-1E beta hücrelerinde insülin reseptör substrat (IRS)/ fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) /protein kinaz B (Akt) yolak aktivasyonunun inhibisyonu aracılığıyla ve ROS üretiminden bağımsız olarak insülin sekresyonunu azaltmaktadır. MGO'nun inhibitör etkisi ve IRS'de AGE oluşumu MGO süpürücüler tarafından tersine çevrilebilmektedir (Riboulet-Chavey ve ark., 2006). Dahası in vivo koşullarda MGO uygulaması izole beta hücrelerinde insülin sekresyonunu inhibe etmekte; sonuçta da kas, karaciğer ve adipoz dokuda MGO kaynaklı AGE'lerin düzeyinde artış ve insülin direnci oluşmaktadır (Cai ve ark., 2012). Bu etkilerin MGO süpürücü alagebrium ile inhibe edilmesi MGO spesifik etkilere işaret etmektedir.

Hayvan modeli çalışmalarının sonuçları ve yakın zamanda sağlıklı yüksek kilolu bireylerde yapılan bir çalışmada düşük AGE içeriği uygulanan diyetin insülin duyarlılığını artırarak tip 2 diyabet riskini azalttığı sonucuna varılmıştır (de Courten ve ark., 2016). Standart hedef dokuda insülin etkisinin yanısıra MGO santral sinir sisteminde nöronal hücre ölümünü indüklemektedir. MGO maruziyetine tabi tutulan astrositlerde insülin sinyalinde bozulma saptanmıştır (Chu ve ark., 2014). Hem farelerde hem de insanlarda diyetle alınan MGO ve AGE'ler kognitif bozukluklarla pozitif korelasyon gösterirken survival faktör sirtuin-1 (SIRT1) düzeyi ve insülin duyarlılığının diğer belirteçleriyle zıt ilişki göstermesi; insülin direnci ve nörodejenerasyon arasındaki muhtemel bağlantının MGO bağımlı SIRT1 downregülasyonu olduğunu telkin etmektedir (Cai ve ark., 2014).

İnsülin hemodinamik etkilerde de önemli rol oynamaktadır. Jialal ve arkadaşları 1985 yılında hem büyük hem küçük kan damarlarında insülin reseptörlerini tespit etmişlerdir. Moleküler düzeyde insülin endotel hücrelerinde benzer reseptörüne bağlanarak ve IRS, PI3K ve Akt'yi aktive ederek eNOS aktivasyonuna neden olmaktadır (Montagnani ve ark., 2002). eNOS ise arginin'in sitrulin ve NO'e dönüşümünü katalizler. Bu enzimin aktivitesi çeşitli bölgelerinden fosforilasyonu ile regüle edilmektedir. En iyi karakterize edilen bölgeler serin 1177 ve treonin 495 kısmıdır. Serin 1177 bölgesi insüline yanıt olarak Akt aracılığıyla hızla fosforile olmaktadır. Treonin 495 ise endotel hücrelerinde yapısal olarak fosforile olur ve negatif regülatör bölge olduğu düşünülmektedir (Fleming ve Busse, 2003). İnsülin mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) kaskatı aracılığıyla endotelin salınımına da neden olmaktadır ve bu salınım endotel hücrelerde endotelin dönüştürücü enzim aktivasyonunu indüklemekte, sonuçta da vasküler düz kas hücrelerinde vazokonstriksiyon ve proliferasyon oluşmaktadır. İnsülin sinyal transdüksiyonunun vazodilatasyondaki nedensel rolünün anlaşılması amacıyla genetik olarak modifiye edilmiş hayvan modelleri kullanılmıştır. IRS-1'i bulunmayan farelerde hipertansiyon ve endotel bağımlı damar gevşemesinde bozulma gözlenmektedir (Abe ve ark., 1998). İnsanlarda arginin 972 IRS-1'deki polimorfizm plazma NO düzeyi ve endotel hücrelerinde eNOS ekspresyonunda azalma ile ilişkilendirilmiştir (Huang ve ark., 2015a). Dahası eNOS knock out fareler hipertansiftir ve kontrol farelerle karşılaştırıldığında insülinle stimüle edilen glikoz uptake'inin %40 oranında azaldığı görülmektedir. Bu

durum insülin dağıtımı ve hedef dokudaki etkisi için insülin aracılı vazodilatasyon ve kapiller güçlenmeye ihtiyaç duyulduğuna dikkat çekmektedir.

MGO insülin duyarlılığı üzerindeki zararlı etkilerinden dolayı endotelyal insülin direnci indükleyici molekül olarak tanımlanabilir (Nigro ve ark., 2014). Eksojen MGO yada Glo1 inhibitörü S-p-bromobenzenilglutamat siklopentil diester uygulanan fare aort endotel hücrelerinde ve kronik olarak in vivo MGO'ya maruz bırakılan sağlıklı farelerde artan MGO düzeyleri insülin etkisinin bozulmasından sorumludur. MGO maruziyeti insülin aracılı IRS-1 tirozin fosforilasyonunun indüklenmesini, p85 ile etkileşimini, Akt aktivasyonunu ve devamında serin 1177'de eNOS fosforilasyonunu engellemektedir. Ayrıca MGO birikimi eNOS'un treonin 497 inhibitör fosforilasyonunu engellemektedir. eNOS inaktivasyonu insülin bağımlı NO üretimi artışında kayıpla sonuçlanır. Aksine MGO uygulanan farelerin aort dokularında ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz (ERK1/2) aktivasyonu artmakta ve buna IRS-1'in inhibitör bölge serin 616'daki fosforilasyonundaki artış eşlik etmektedir. ERK1/2 inhibisyonunun kimyasal inhibisyonunu takiben IRS-1/Akt/eNOS yolak aktivasyonunun düzelmesi MGO'nun IRS-1/Akt yolağı üzerindeki zararlı etkilerine en azından kısmen aracılık ettiğini düşündürmektedir. Dahası ERK1/2 aktivasyonunun fare aort endotel hücresinde proliferasyon artışına neden olmazken hem insülin varlığında hem yokluğunda endotelin-1 üretiminde artışa neden olması MGO'nun endotelyal insülin sinyalini değiştirdiği ve NO ile endotelin-1 üretimi arasında dengesizliğe sebep olduğunu ve bu yolla vazokonstriksiyonu kolaylaştırdığını ortaya koymaktadır (Nigro ve ark., 2017).

#### **4. Berberin**

Ateroskleroz, miyokard infarktüsü, hipertansiyon, kardiyak hipertrofi ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, obezite ve alkolle ilişkili olmayan yağlı karaciğer hastalığı gibi metabolik hastalıklar dünya genelinde ölüme yol açan nedenler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hastalıklara çeşitli patolojik faktörlerin kombine etkileri sebep olmakla birlikte patogeneze halen daha netlik kazanamamıştır. Kardiyovasküler ve metabolik hastalıkların tedavisi ve önlenmesinde son 20 yılda ilerleme kaydedilmekle birlikte, morbidite ve mortalite oranları halen yüksek seyretmektedir (Saklayan, 2018). Bu hastalıkların tedavisinde hipoglisemik ajanlar, statinler, antikoagülanlar, beta reseptör

blokörler, nitratlar ve antitrombotik ilaçlar gibi çeşitli konvansiyonel ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçlar tedavide başarı sağlamakla birlikte potansiyel ciddi yan etkiler de ortaya çıkabilmektedir (Bodmer ve ark., 2008). Diyet ve fiziksel aktivite koruyucu yaklaşım olarak önerilmekle birlikte uzun süre takibi zordur ve bazı durumlarda, örneğin hiperkolestrolemi, risk parametrelerini düşürme açısından yeterli gelmeyebilmektedir (Cicero ve ark., 2009). Bu nedenle alternatif ve tamamlayıcı terapilere ihtiyaç vardır. Bu bağlamda karşımıza çok sayıda supplement, nutrasötik ve fonksiyonel gıda çıkmaktadır.

Bunların içinde yer alan berberin, berberis cinsi farklı bitkilerde (*Berberis aristata*, *Berberis aquifolium*, *Hydrastis canadensis*, *Xanthorhiza simplicissima*, *Phelodendron amurense*, *Coptis chinensis*, *Tinospora cardifolia*, *Arcangelisia flava*, *Cortex rhellodendri*, *Argemone mexicana*, *Eschscholzia californica*, *Berberis vulgaris* gibi) bulunan izokinolon alkaloidlerinin protoberberin grubundan bir kuaterner amonyum tuzudur. (Amin ve ark., 1969; Sabir ve Bhide, 1971). Farmakolojik araştırmalar berberin'in kardiyovasküler ve metabolik hastalıklarda ümit verici doğal kaynaklı bir ürün olarak dikkat çekmesine neden olmaktadır.

#### **4.1. Berberin'in temel karakteristiği ve tarihi**

Berberin geleneksel Çin tıbbında diyabetes mellitus ve inflamatuvar rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan Çin'de Huang Lian olarak adlandırılan *Rhizoma captidis* bitkisinin biyoaktif içeriğidir. *Rhizoma captidis* kullanımından ilk olarak milattan sonra 200 yılında 'Shen Nong Ben Cao Jing' kitabında bahsedilmiştir (Pang ve ark., 2015; Tan ve ark., 2016). Antidiyabetik etkisinden ise ilk olarak 1500 yıl önce Note of Elite Physicians' kitabında söz edilmektedir (Zhang ve ark., 2014). Kokusuz ve karakteristik alkaloid tadına sahip sarı bir toz şeklindedir. Koyu sarı renginde olduğundan geçmişte yün, deri ve odun boyamada kullanılmıştır (Dogru ve ark., 2006).

#### **4.2. Berberin'in fizikokimyasal özellikleri**

Berberin ( $C_{20}H_{18}NO_4$ ) moleküler ağırlığı 336,36 g/mol olan izokinolon alkaloidi kaynaklı bir kuaterner amonyum tuzudur. Suda ve etanolde az çözünmekle birlikte tuz formunun

suda çözünürlüğü daha iyidir (Liu ve ark., 2009). Bitkisel olarak yada sentez yoluyla elde edilebilmektedir (Kong ve ark., 2004).

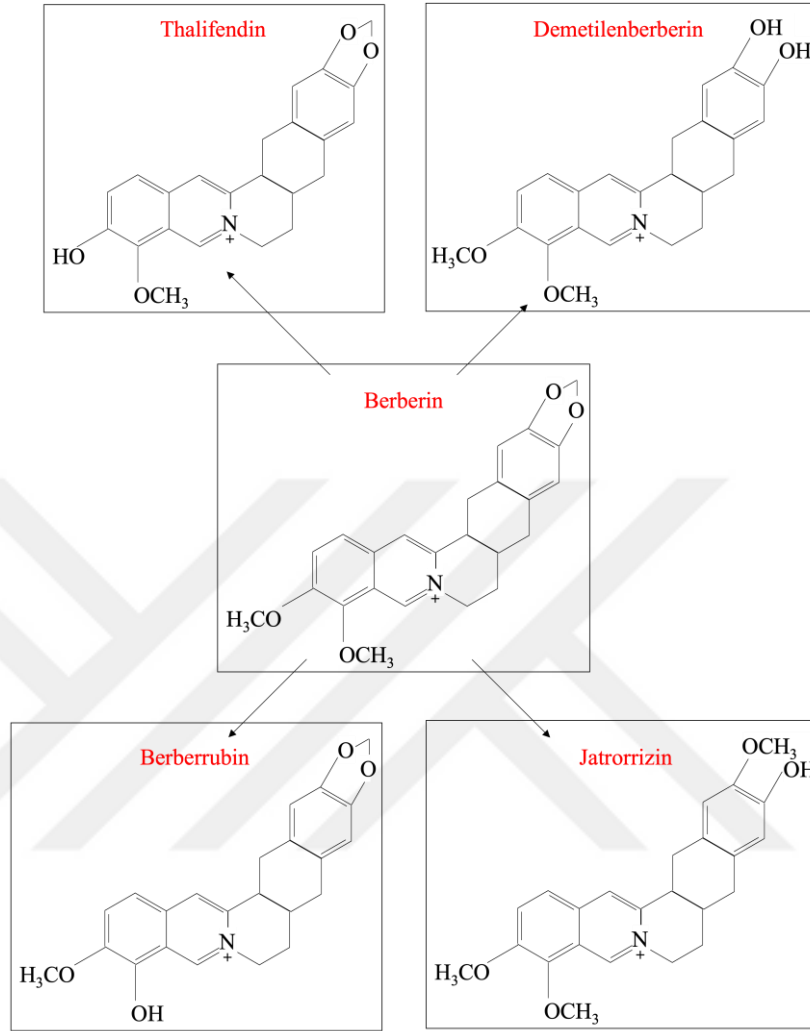
pKa, çözünürlük ve lipofilite gibi fizyokimyasal özellikler berberin'in intestinal absorpsiyonu ve farklı organ ve vücut sıvılarına dağılımıyla ilişkilidir. Berberin'in asit baz karakteriyle ilgili veriler çelişkilidir. 2.47 ve 15.7 olmak üzere iki pKa değeri bildirilmiştir (Roja ve ark., 2005).

Berberin'in suda çözünürlüğü ısıya ve buffer kompozisyonuna bağlı olarak pH'dan bağımsızdır. Suda çözünürlüğü sıcaklıkla artar (25 C°'de  $5.27 \pm 0.29$  mM, 37 C°'de  $8.50 \pm 0.40$  mM). Maksimum çözünürlüğü fosfat bufferında sağlanmaktadır (Battu ve ark., 2010).

Zayıf intestinal absorpsiyon ve biyoyararlanım berberin'in oral kullanımındaki temel engeldir ve zayıf absorpsiyon sulu medium ve zayıf lipofiliteyle ilişkilendirilmiştir (Zhang ve ark., 2013b).

#### **4.3. Biyoyararlanım ve metabolizması**

Klinik amaçla berberin klorid yada sülfat kullanılmaktadır (Jin ve ark., 2016). Yine de rodentlerde ve insanlarda absorpsiyonu az, metabolizması hızlıdır; bu da biyoyararlanımının düşük olmasına neden olmaktadır (Wang ve ark., 2017). Fizyolojik koşullarda iyonik forma dönüşür ve düşük pH değerinde agregasyon olur. Bu agregasyon gastrointestinal sistemde çözünürlüğünü ve barsak duvarından geçişini azaltır. Epitel hücre membranında lokalize p-glikoprotein de berberin'in oral biyoyararlanımını sınırlandırmaktadır (Pan ve ark., 2002). D-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate gibi p-glikoprotein inhibitörleri berberin'in biyoyararlanımını artırma amacıyla adjuvan olarak kullanılabilir. Dahası penetrasyon artırıcılar ve lipid partikül sistemleri de berberin'in biyoyararlanımını artırabilir (Liu ve ark., 2016). Berberin karaciğerde oksidatif demetilasyon ve glukronidasyonla berberrubin, thalifendin, demetilen berberin ve jatrorrhizine'e metabolize olur (Şekil 2).



Şekil 2: Berberin ve metabolitlerinin kimyasal yapısı

Berberine metabolizmasında majör sitokrom p450 enzimleri CYP2D6, CYP1A2,3A4,2E1 ve CYP2C19'dur. Sonuç olarak metabolitler safra, feçes ve idrarla atılır (Wang ve ark., 2017).

Berberin'in düşük plazma düzeyi ve düşük biyoyararlanımına rağmen metabolitleri plazmada daha yüksek konsantrasyonda bulunmakta ve berberin'in aktif formları olarak davranmaktadırlar (Zhou ve ark., 2014). Dahası oral alımdan sonra berberin hızla maksimum konsantrasyonda karaciğerde sonra böbrek, kas, akciğer, beyin, kalp, pankreas ve yağda distrübe olur (Tan ve ark., 2013). En çok karaciğerde distrübe olması glikoz ve lipid metabolizmasındaki faydalı etkilerinde bu durumun rol oynadığını telkin etmektedir.

Berberin metabolitlerinin plazmada berberinden yüksek konsantrasyonda bulunması biyolojik aktiviteden sorumlu moleküllerin metabolitler olduğunu telkin etmektedir (Cao ve ark., 2013). Bu yüzden bu bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerinin bilinmesi önem arz etmektedir.

#### **4.4. Güvenlik**

Berberin klorid ve berberin sülfat berberin'in klinik kullanımda yararlanılan difüze tuz formlarıdır. Klorid formu ticari olarak tablet yada kapsül olarak ulaşılan formudur. Günlük dozu değişken olmakla birlikte genel olarak 400-1000 mg/gündür. Bazı klinik denemelerde günde 1500 mg da kullanılmıştır (Barbagallo ve ark., 2015).

Berberin'in konvansiyonel dozlarda güvenli olduğu ve gastrointestinal rahatsızlık ve geçici plazma bilirubin artışı gibi yan etki insidansının da düşük olduğu gösterilmiştir (Imenshahidi ve Hosseinzadeh, 2016). Letal dozu (LD50) 25 mg/kg'dır (Guan ve ark., 2010). En çok karşılaşılan yan etki gastrointestinal sistemle ilgili şikayetlerdir. Aslında berberin ve türevlerinin hayvanlarda gastrik lezyon oluşturduğu görülmüştür. Sorbitolle intestinal geçiş zaman ölçümleri ve nefes hidrojen testi berberin'in barsaktan geçiş süresini uzattığını göstermiş olup bu etkinin de gastrointestinal yan etkilerin sebebi olduğu düşünülmektedir (Chen ve ark., 2014a).

Güvenliği yüksek olmakla birlikte spesifik durumlarda yan etkileri engellemek için dikkatli kullanılmalıdır. Örneğin berberin albümine bağlanarak bilirubini serbestler bu yüzden berberin içeren bitkiler sarılık riski nedeniyle hamilelerde ve bebeklerde kullanılmamalıdır (Chan, 1993).

Berberin ile ilişkili temel güvenlik riski farmakolojik etkileşimlerdir. Berberin makrolidlerle etkileşip potansiyel ciddi aritmilere neden olabilir (Zhi ve ark., 2015). Statinlerle kombinasyonu CYP3A4 inhibisyonu ile kardiyotoksisiteyi artırır (Feng ve ark., 2018). Diğer yandan berberin farklı dokularda sisplatin, siklofosfamid, doksurobisin ve bleomisin gibi antitümör ilaçların neden olduğu toksik reaksiyonları ve asetaminofen gibi analjeziklerin yan etkilerini engelleyebilmektedir (Janbaz ve Gilani, 2000).

Berberin ayrıca karaciğer ve barsak duvarında CYP3A4 ve p-glikoprotein inhibisyonu ve gastrik boşalma süresinde artmayla siklosporin A'nın metabolizmasını azaltıp

biyoyararlanımını artırarak kan düzeyinin artmasına neden olmaktadır (Xin ve ark., 2006). Günde iki kez 3 mg/kg siklosporin kullanan renal transplantasyon hastaları 3 ay boyunca 0.2 g/gün berberini mevcut tedavilerine eklediklerinde biyoyararlanımın %34.5 yarılanma ömrünün 2.7 saat arttığı görülmüştür (Wu ve ark., 2005).

Berberin CYP1A1'i de inhibe etmektedir, bu nedenle bu sitokrom izoformuyla metabolize olan ilaçlarla da etkileşecektir. Ancak bu enzimle metabolize olan ilaçlar nadir olduğundan klinik uygulamada bu etkisi henüz değerlendirilmemiştir (Cicero ve ark., 2014).

Genel olarak bakılacak olursa günde 500-1000 mg berberin dozu güvenli olarak değerlendirilmektedir ve farmakolojik etkileşim açısından siklosporin ve varfarinle kullanımı risk içerebilir.

## **5. Kardiyovasküler Hastalıklarda Berberin**

Kardiyovasküler hastalıklar dünya genelinde ölüm sebeplerinin başında gelmektedir. Kardiyovasküler hastalıklara bağlı ölümlerin %75'inden fazlasından ateroskleroz sorumludur. 1980'lerin sonlarında berberin'in antidiyareik, antiaritmik, antihipertansif, glikoz ve kolesterol düşürücü, antitümör ve immünmodülatör aktivitesini bildirilen çok sayıda çalışma yapılmıştır (Chang ve ark., 2012b; Huang ve ark., 2002; Zhang ve Shen, 1989).

### **5.1. Ateroskleroz**

Ateroskleroz birden fazla kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalığın temelini oluşturan lipid metabolik bir bozukluktur. Ateroskleroz endotel disfonksiyonuyla başlar; devamında neointima oluşumu, lipid akümülyasyonu, köpük hücre oluşumu ve plak rüptürü gözlenir (Geovanini ve Libby, 2018).

Ateroskleroz uzun yıllar boyunca asemptomatiktir. Semptomlar ve belirtiler hayati organlara kan akışında engel oluştuğunda görülmeye başlar. Genel olarak hastalar aterosklerozisi inme yada kalp krizi gerçekleştiğinde farkedebilirler. Aterosklerozun endotel hücrelerde LDL partiküllerinin birikmesiyle ilişkili inflamatuvar bir ilerleyişle başladığı doğrulanmıştır (Williams ve Tabas, 1995). Bu nedenle endotel disfonksiyonu ve dislipidemiye iyileştirmek, inflamatuvar süreci bloke etmek aterosklerozu engelleme

açısından etkili yöntemlerdir. Berberin ile yapılan birçok çalışmada farklı mekanizmalarla antiaterosklerotik etki sağlanabilmiştir. Berberin çeşitli pro-atherojenik hücresel olayları modüle ederek ateroskleroza karşı koruyucu etki göstermektedir. Bununla birlikte; berberin ile ilgili antiaterosklerotik araştırmalar halen deneysel düzeydedir.

### **5.1.1. Aterosklerozda berberin'in etkisi**

#### *Endotel fonksiyonu normalleştirme;*

Endotel disfonksiyonu ateroskleroz gelişimindeki primer olaylardan biridir (Pirillo ve Catapano, 2015). Endotel fonksiyonun iyileştirilmesi ateroskleroz tedavisi açısından gerekli bir yaklaşımdır. Sağlam aort halkalarının berberin ile muamele edilmesi sonucu NO artmaktadır. Berberin aort halkalarında doz bağımlı olarak gevşemeyi indüklemiştir (Kang ve ark., 2002). Sonra bu alanda daha yoğun çalışmalar yürütülmüştür. Bu çalışmaların sonuçları berberin'in hipertansiyon ve tip 2 diyabet durumunda endotel fonksiyonu koruduğunu telkin etmektedir (Liu ve ark., 2015; Xiao ve ark., 2014). Oksidatif stresin yüksek düzeylerinin NO üretimini azalttığı ve bu iki durumun endotel disfonksiyonu başlamasına katkıda bulunduğu kabul edilmektedir (Zhang ve ark., 2013a). Tip 2 diyabet ve palmitatla indüklenen endotel disfonksiyonunda berberin ROS üretimini azaltmış, eNOS ekspresyonu ve aktivasyonunu artırmış sonuç olarak palmitata maruz bırakılmış endotel hücrelerinde NO oluşumuyla sonuçlanmıştır (Wang ve ark., 2009a). Wang ve arkadaşları hem izole sıçan aortunda hem de endotel hücre kültürlerinde berberin'in etkisi üzerinde çalışmışlar ve berberin'in doz bağımlı olarak eNOS fosforilasyonunu artırdığını bildirmişlerdir. Berberin yüksek glikoz la indüklenen ROS oluşumunu, hücresel apoptozu, NF-KB aktivasyonunu ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltarak endotel hücrelere monosit bağlanmasını engellemektedir. Berberin'in eNOS fosforilasyonu üzerindeki etkisinin (adenozin monofosfatla aktive edilen protein kinaz) AMPK aktivasyonu aracılı olduğu görülmektedir. AMPK'nın farmakolojik inhibisyonu veya adenovirüs aracılı dominant negatif AMPK overekspresyonu endotelde berberinin etkisini ortadan kaldırabilmektedir (Wang ve ark., 2009c). Diyabet durumunda da berberin ile indüklenen AMPK aktivasyonu endotel fonksiyonun iyileşmesini sağlayan faktör olabilir. Dahası berberin endotel hücre fonksiyonlarını MCP-1 ve VCAM-1 sekresyonu ve ekspresyonunu inhibe ederek ve

monositlerde MCP-1 reseptör ekspresyonunu azaltarak endotel hücrelere monosit adhezyonunu azaltarak düzeltir (Ko ve ark., 2007).

Endotel hücrelerin kendileri dışında; sirküle endotel progenitör hücreler de (EPC) normal endotel hücre fonksiyonunun sağlanmasında önemli rol oynarlar. Xu ve arkadaşları 1 ay berberin uygulaması sonucunda sağlıklı bireylerde EPC sayısının arttığını, endotel fonksiyon markerı küçük arter elastisite indeksini iyileştirdiğini bildirmişlerdir (Xu ve ark., 2008). Dahası Xiao ve arkadaşları berberin'in PI3K/Akt/eNOS ve fosforile eNOS (p-eNOS) protein ekspresyonunu artırarak tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) ile inhibe edilen EPC proliferasyonunu iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Berberin'in bu faydalı etkisi PI3K ve eNOS blokajıyla azalmaktadır. Bu çalışma inflamatuvar sitokin stimülasyonuna yanıt olarak EPC proliferasyonunun azalabileceğini ve berberin'in inflamatuvar uyarana maruz kalan EPC proliferasyonunu iyileştirebileceğine dikkat çekmektedir (Xiao ve ark., 2014).

#### *Dislipidemi inhibisyonu;*

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) partiküllerinin birikmesi aterosklerozla ilişkili kritik patojenik faktörlerden biridir. Normalde LDL partikülleri kolestrol, fosfolipidler, kolestrol esterleri, trigliseritler ve diğer yağları içeren molekülleri taşırlar. LDL partikülleri damar duvarının içinde oksidasyona daha yatkın hale gelir. Lipid oksidasyonundan sonra endotel hücreleri monositleri çekip makrofajlara dönüşümünü indüklerler. Makrofajların okside LDL partiküllerini yutması immün yanıt kaskatını başlatır. Makrofajlar okside LDL partiküllerini absorbe edip köpük hücrelerine dönüştürürler. Bu köpük hücreleri artıp büyürse ve rüptüre olursa selüler membran fragmanları, okside maddeler ve yağlar salınarak daha fazla beyaz kan hücresini çekerek döngüyü kötüleştirirler (Williams ve Tabas, 1995).

Berberin kolestrol düşürücü aktivitesiyle ilişkili olarak aterosklerozda koruyucu rol oynar. Hayvanlarda ve hiperlipidemik kişilerde lipid düşürücü özellikleri gösterilmiştir. Hiperkolestrolemlili kişilerde berberin total kolestrol, trigliserit ve LDL-C 'u anlamlı olarak düşürürken yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL-C)'i artırmıştır (Kong ve ark., 2004). Başka bir çalışmada Avusturalya'daki hiperkolestrolemlili hastalarında berberin hidrokloridin (0.5 g günde iki kez) 3 ay kullanımı LDL'yi düşürürken HDL'yi

etkilememiştir (Doggrell, 2005). Berberinin kolesterol üzerindeki faydalı etkileri Avrupa'lı hasta grubunda da gösterilmiştir (Affuso ve ark., 2010). 2013'te yapılan ve diyabet, hiperlipidemi ya da ikisinde olan 874 Çinli 'yi kapsayan 11 randomize kontrollü klinik çalışmayı içeren bir metaanalizde berberin tedavisinin total kolesterol, trigliserit ve LDL kolesterolde anlamlı azalma sağlarken, HDL'de az ama anlamlı artış oluşturduğu ortaya çıkmıştır (Dong ve ark., 2013). 2569 hastayı içeren 27 randomize klinik çalışmanın değerlendirildiği metaanalizde ise berberin kullanımının yanında yaşam stili değişikliğine kıyasla yaşam stili değişikliğinin ve lipid düşürücü ilaç kullanımına berberin eklenmesine kıyasla lipid düşürücü ilaç kullanımının total kolesterol ve LDL-C düzeyini düşürmede HDL-C'ü yükseltmede daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Lan ve ark., 2015).

LDL reseptörü (LDLR) klatrin kaplı veziküller oluşturmak üzere biraraya gelebilen hücre yüzey reseptörüdür. LDLR LDL'ye bağlanınca endositozla internalize olur ve LDL'nin membran yüzeyi etrafında difüze olmasını engeller. Bu endositoz sirkülasyondaki LDL'den %70 daha fazla olmak üzere temel olarak karaciğerde gerçekleşir (Nykjaer ve Willnow, 2002). Proprotein konvertaz subtilisin kexin tip 9 (PCSK9) LDL reseptörü aracılı kolesterol metabolizması düzenlenmesinde kritik öneme sahiptir. PCSK9 inhibitörleri statin intoleransı olan hiperkolestrolemi hastalarında kullanılabilmektedir (Mayor, 2016). Hiperlipidemik hayvanların berberin tedavisi alması sonucunda serum kolesterol ve LDL kolesterolün azaldığı, hepatik LDLR protein düzeyinin arttığı görülmüştür (Kong ve ark., 2004). Berberinin LDLR ekspresyonunu posttranskripsiyonel mekanizma aracılığıyla upregüle ettiği gösterilmiştir (Li ve ark., 2009a). İlginç olarak berberinin HepG2 hücrelerinde PCSK9 protein ve mesajcı ribonükleik asit (mRNA) ekspresyonu üzerinde inhibitör etki gösterdiğini bildirilmiştir. Mevcut veriler berberinin LDLR üzerinde mRNA yarıömrünü uzatma ve PCSK9 aracılı degradasyonun blokajı aracılı protein artışıyla LDLR metabolizmasını etkilediğine dikkat çekmektedir. Li ve arkadaşları berberinin PCSK9 transkripsiyonu üzerindeki baskılayıcı etkisinin sebebinin hepatosit nükleer faktör 1 alfa (HNF1α) ve nükleer (sterol düzenleme elemanına bağlanan protein) SREBP2'de azalma sonucu ortaya çıkabileceğini göstermişlerdir (Li ve ark., 2009b). Bununla birlikte başka bir çalışmada berberinin yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda SREBP-2 yolağı aracılığıyla sirküle PCSK9 konsantrasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Jia ve ark., 2014). Bu nedenle dislipidemi tedavisinde berberinin moleküler

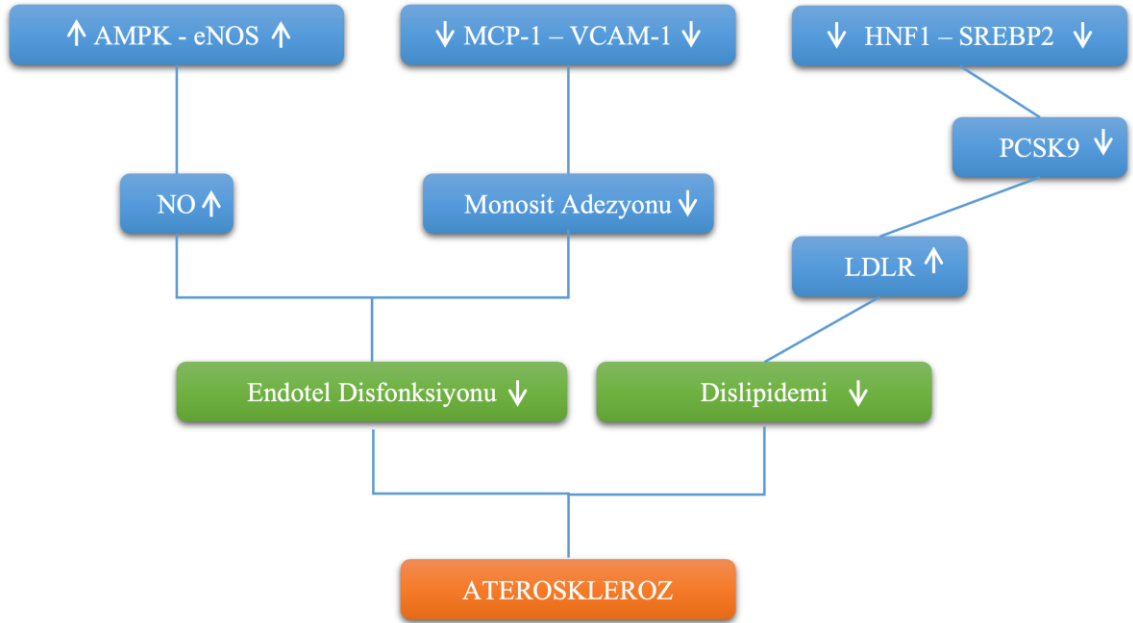
mekanizması hakkında ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Dahası barsak mikrobiyotasının adipoz doku, karaciğer yağ birikimi, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar üzerinde etkisi hakkında veriler her geçen gün artış göstermektedir. Berberinin terapötik etkilerinin mekanizmalarından birinin de barsak mikrobiyotası üzerindeki modülatör etkisi olduğu düşünülmektedir (Han ve ark., 2011). Zhang ve arkadaşları yüksek yağlı beslenen sıçanlarda berberinin obezite ve insülin direnci üzerindeki etkisine kısmen barsak mikrobiyotasının yapısal modifikasyonunun aracılık ettiğini bildirmişlerdir (Zhang ve ark., 2015). Berberinin lipid metabolizması regülasyonu üzerindeki etkisinin birden fazla mekanizması bildirilmekle beraber, klinikte antidişlipidemik olarak kullanımı için bu konunun daha fazla aydınlatılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

#### *Berberinin aterosklerozdaki diğer etkileri;*

Endotel disfonksiyonu iyileştirme ve lipid profilinde iyileşme sağlamanın yanısıra berberinin antiinflatuar, antioksidan, vasküler düz kas hücre proliferasyonunun inhibisyonu gibi başka bazı ateroprotektif etkileri de mevcuttur. Berberinin angiotensin II'yi ve heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörüyle indüklenen vasküler düz kas hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Dahası berberin oksidatif stres azalması aracılı endotel bağımlı damar gevşemesini indüklemekte ve endotel bağımlı vasküler düz kas hücre dilatasyonunu artırmaktadır (Wang ve ark., 2009c). Berberinin antiinflatuar etkisi yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Çünkü enflamasyon ateroskleroz oluşumunda anahtar faktörlerdendir ve berberinin antiinflatuar etkisi aterosklerotik koşullarda gözlenmektedir. Zimetti ve arkadaşları berberinin kolesterol homeostazı üzerindeki koruyucu etkisini köpük hücre oluşumu ve inflammatuar fenotiple ilişkilendirmiştir (Zimetti ve ark., 2015). Monositler ve makrofajlar tarafından overeksprese olan matriks metalloproteinazlar ve ekstraselüler matriks metalloproteinaz indükleyiciler (EMMPRIN) ekstraselüler matriksi deşede edebilir ve devamında aterosklerotik plak rüptürüne neden olabilir. Berberin makrofajlarda p38 yolak aktivasyonunu baskılayarak matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9) ve EMMPRIN ekspresyonunu azaltmaktadır. Bu durum berberinin aterosklerotik plak stabilizasyonunda potansiyel rolü olduğunu telkin etmektedir. Dahası berberinin tipik hedefi AMPK da berberinin antiinflatuar etkisinde rol oynamaktadır. Berberinin makrofajlarda proinflammatuar yanıtları AMPK aracılığıyla baskıladığı bildirilmiştir. Berberin tedavisi

obez diyabetli fare adipoz dokusunda TNF- $\alpha$ , interlökin 1 beta (IL-1 $\beta$ ), interlökin 6 (IL-6) ve MCP-1 ekspresyonunu anlamlı olarak azaltmaktadır (34). Peritoneal makrofajlarda ve RAW264.7 hücrelerinde berberin LPS ile indüklenen IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1 ve MMP-9 gibi proinflamatuvar genlerin ekspresyonunu inhibe eder (Huang ve ark., 2011). Makrofajlarda serbest yağ asitleri, hidrojen peroksit gibi çeşitli proinflamatuvar sinyallere yanıt olarak berberin p38, ERK ve c-Jun N-terminal kinaz (JNK) gibi MAP kinazların fosforilasyonunu ve ROS miktarını baskılamaktadır. Dahası berberinin inhibitör etkileri AMPK inhibitörü Compound C veya dominant negatif AMPK ile ortadan kalkmaktadır. Bu durum berberinin makrofajlarda proinflamatuvar yanıtları AMPK stimülasyonu aracılığıyla downregüle ettiğini telkin etmektedir (Jeong ve ark., 2009). Başka bir çalışmada apoE<sup>-/-</sup> ve apo E<sup>-/-</sup>/AMPK  $\alpha 2^{(-/-)}$  fareler kullanılmıştır. Çalışmacılar berberin uygulamasının aortik lezyonları, aortta oksidatif stresi ve adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu anlamlı olarak azalttığını bulmuşlardır. Bu sonuçlar berberinin AMPK aracılığıyla oksidatif stres ve vasküler enflamasyonu azaltabileceğine dikkat çekmektedir (Wang ve ark., 2011).

Tüm bu veriler ışığında berberin uygulaması ateroskleroz tedavisi için terapötik bir yaklaşım olabilir. Bu konudaki güvenliğini ve etkinliğini değerlendirmek için iyi tasarlanmış kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.



Şekil 3: Aterosklerozda berberinin etkisinin potansiyel hedefleri ve mekanizması

## 5.2. Kalp yetmezliği

Kalp yetmezliği farklı kardiyak hastalıkların son safhasını temsil eden klinik bir sendromdur. Ciddi bir durum olmakla birlikte tedavisi yoktur. Yapısal veya fonksiyonel kardiyak bozukluklar ventrikül dolması veya kan pompalanmasını bozabilmektedir.

Hayvan modellerinde berberin kalp yetmezliği düzeyini azaltabilmektedir. Örneğin iskemik sol ventriküler kalp yetmezlikli köpeklere 10 ardışık gün boyunca berberin infüzyonu kardiyak outputu ve sağ ventriküler basıç artışıındaki pik oranında artışa sol ventriküler son diyastolik basıncı, diyastolik kan basıncı ve sistemik vasküler dirençte azalmaya neden olmaktadır (Huang ve ark., 1992). Yüksek doz izoprotenol enjekte edilerek oluşturulan sıçan kalp yetmezliği modelinde hayvanlara 12 gün boyunca berberinle (20 mg/kg/gün) kombine ginseng saponinleri (20 mg/kg/gün) ve kaptopril tedavi grupları oluşturulmuş ve iki grupta da benzer iyileşme gözlenmiştir. Berberin kardiyomiyositlerde Ca yükünü inhibe ettiğinden kalp yetmezliği semptomları açısından potansiyele sahiptir.

1988’de şiddetli kongestif kalp yetmezliğinde berberinin koruyucu etkileri klinik bir çalışmada bildirilmiştir. Refraktör kongestif kalp yetmezliği bulunan 12 hastada 0.2 mg/kg/dk berberin intravenöz infüzyonu sistemik ve pulmoner vasküler rezistansı ve sağ atrium ve sol ventriküler son diyastolik basıncı düşürmektedir. Ayrıca kardiyak indeks, inme indeksi ve sol ventrikül (LV) ejeksiyon fraksiyonunu da artırmıştır. Dahası bu tedavi LV ‘ün hemodinamik ve ekokardiyografik indekslerinde artışa neden olmuştur. Sonuçta da total vücut oksijen alımında değişiklik olmadan arteriovenöz oksijen farkında, arteriel oksijen gerilimi veya hemoglobin ayrışma özelliğinde düşüş sağlamıştır (Marin-Neto ve ark., 1988).

2003’te kronik konjestif kalp yetmezliği olan 156 hastada berberinin efikasite ve güvenliği değerlendirilmiş, 79 hastaya günde 1.2 ila 2 g berberin verilirken kalan 77 hasta plasebo almıştır. Berberin uygulanan grupta sol ventriküler ejeksiyon fraksiyonunda ve egzersiz kapasitesinde anlamlı artış, dispne-yorgunluk indeksi ve ventriküler prematür kompleks oranında anlamlı iyileşmeler görölmüştür. Dahası uzun dönem takipte mortalite anlamlı olarak azalmıştır. Berberinin konjestif kalp yetmezliği olan kişilerde hayat kalitesini artırdığı ve mortaliteyi azalttığı sonucuna varılmıştır (Zeng ve ark., 2003).

Eldeki veriler berberinin kalp yetmezliğindeki faydalı etkilerini ve farmakolojik aktivitesini ortaya koymakla birlikte bu faydalı etkilerin altında yatan mekanizmaların aydınlatılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

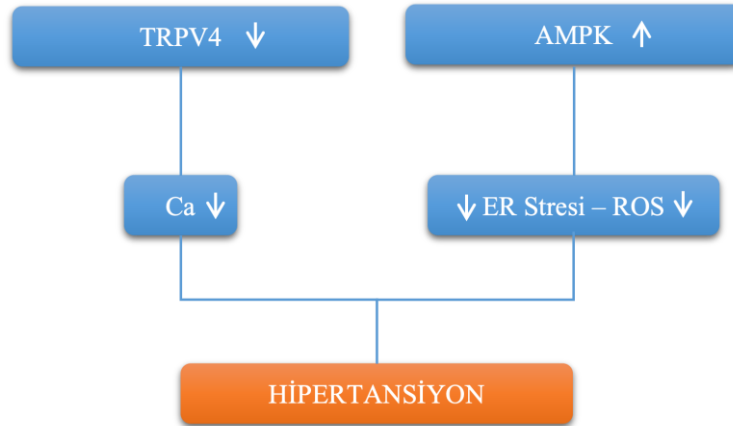
### 5.3. Hipertansiyon

Hipertansiyon tüm dünyada en önemli engellenebilir risk faktörü ve en yaygın kronik medikal problemidir. Hipertansiyon erken teşhis edilip uygun tedavi uygulanmazsa iskemik kalp hastalığı, inme, periferel vasküler hastalık, kalp yetmezliği ve diğer kardiyovasküler hastalık riskini artırır. Kan basıncının düşürülmesi kalp hastalıkları ve inmeye bağlı ölüm riskini anlamlı olarak azaltmaktadır. Berberinin antihipertansif etkisi ve mekanizması üzerinde çeşitli klinik ve prelinik çalışmalar yürütülmüştür. Yakın zamanda yapılan klinik bir çalışmada tip 2 diyabetli hipertansif hastalarda biyokimyasal markerlar ve Doppler ultrasonografi değişiklikleri üzerinden berberinin renoprotektif etkileri tanımlanmıştır (Huang ve ark., 2015b). Yakın zamanda yapılan bir metaanalizde berberinin hipertansiyon tedavisindeki rolü vurgulanmıştır. 27 randomize kontrollü klinik çalışmanın verileri değerlendirilmiş berberinle yaşam stili değişiklikleri uygulamasının tek başına yaşam stili değişikliği uygulamasından ve berberin oral antihipertansif ilaç kombinasyonunun tek başına antihipertansif verilmesine kıyasla kan basıncını düşürmede daha etkili olduğu görülmüştür (Lan ve ark., 2015).

Berberin ve türevlerinin antihipertansif etkisi hakkında klinik ve deneysel çalışmalar mevcut olmakla birlikte, etki mekanizması halen netleşmemiştir. Endotel hücrelerde endoplazmik retikulum stresi oksidatif stresi destekler ve hücre ölümüne neden olur. Endoplazmik retikulum stresinin hipertansiyon patogeneziyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Liu ve arkadaşları spontan hipertansif sıçan karotid arterinde berberinin AMPK'yı aktive ederek endotel bağımlı kasılmaları azalttığını böylece endoplazmik retikulum (ER) stresini inhibe ederek ROS'ları süpürdüğünü bildirmişlerdir (Liu ve ark., 2015). Guo ve arkadaşları spontan hipertansif sıçanlarda berberinin renin-anjiotensin sistemi ve proinflamatuvar sitokinler üzerindeki etkilerini araştırmışlar berberinin hipertansiyon oluşumunu geciktirdiğini ve hipertansiyon şiddetini azalttığını renin anjiotensin sistemini (RAS) aktive ederek ve IL-6,IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinlerin

üretimini azaltarak hipertansiyon patofizyolojisini inhibe ettiğini göstermişlerdir (Guo ve ark., 2015).

Vasküler sertliğin vasküler tonus artışıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Vasküler düz kas hücre kontraksiyonu vasküler sertliğin temel nedenidir ve miyozin hafif zinciri (MLC) ile regüle edilir. Hücre depolarizasyonu ile başlatılan Ca influksu sitoplazmik serbest Ca konsantrasyonunu artırır ve MLC fosforilasyonunu destekler. Bu nedenle hipertansiyon tedavisinde Ca kanal blokörleri kullanılır. Transient reseptör potansiyel vanilloid 4 (TRPV4) Ca geçirgen bir katyon kanalıdır ve ilk olarak hipotonik stimulusun transducer'ı olarak kabul edilmiştir (Ueda ve ark., 2011). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada berberinin yaşlı hayvanlarda damar gevşemesini ve kan basıncı düşüşünü indüklediği ve vasküler sertliği azalttığı belirtilmiştir. Berberinin deoksikortikosteron asetatla indüklenen hipertansif farelerde kan basıncını düşürdüğü ve Apo E-KO farelerde vasküler sertliği azalttığı bildirilmiştir. Berberinin bu etkisi TRPV4 baskılanması aracılığıyla indüklenmekte, intraselüler Ca düzeyi, MLC fosforilasyonu azalmakta ve vasküler düz kas hücre gevşemesi gerçekleşmektedir. Berberin kan basıncını ve damar sertliğini azaltmada kalsiyum kanal blokörü gibi fonksiyon gösteriyor olabilir (Wang ve ark., 2015a). Kalsiyum kanallarına etkisinin yanısıra berberinin vazodilatasyon etkisine K kanallarının da katkıda bulunduğu gösterilmiştir, çünkü K kanal blokörleri endoteli uzaklaştırılmış arterlerde berberinle indüklenen vazodilatasyonu anlamlı olarak azaltmaktadır (Wang ve ark., 1996). Bu sonuç vasküler düz kas hücrelerinde berberinin K kanalları üzerindeki etkisinin aydınlatılmasında yol gösterici olabilir.



Şekil 4: Hipertansiyonda berberinin etkisinin potansiyel hedefleri ve mekanizması.

#### 5.4. İskemi reperfüzyon hasarı

İskemik kalp hastalığı genel en yaygın ölüm nedenleri arasında yer almaktadır. Koroner kalp hastalığı iskemik kalp hastalığının temel nedenidir ve akut miyokard infarktüsü ve iskemik reperfüzyon hasarını içermektedir. Reperfüzyon önemlidir ve miyokard iskemiden kurtarmak için gereklidir. Bununla birlikte miyokard hasarına neden olmaktadır. Bu durum reperfüzyon hasarı olarak adlandırılmaktadır (Hashmi ve Al-Salam, 2015). İskemi sırasında oksidatif stres, apoptoz ve enflamasyon un başladığı ve reperfüzyon sırasında birkaç saat devam ettiği gösterilmiştir (Hausenloy ve Yellon, 2013). İskemik kalp hastalığını başlatan genel olay arter oklüzyonuna neden olan aterosklerotik plak varlığıdır. Berberinin aterosklerozdaki faydalı etkisi kapsamlı olarak araştırılmaktadır. Dahası berberin miyokardiyal iskemik reperfüzyon hasarına karşı potansiyel koruyucu etki sergilemektedir.

2003 yılında yapılan bir çalışmada çalışmacılar neonatal sıçanlardan kardiyak miyositleri izole etmiş ve hipoksi ve reoksijenizasyon hücre modeli oluşturulmuştur. Berberinin laktat dehidrogenaz ve malondialdehit düzeyini azalttığı ve doz bağımlı şekilde apoptozu azalttığı görülmüştür. Berberinin kalbi iskemik reperfüzyon hasarına karşı otofajik aktivasyonu baskılayarak (Huang ve ark., 2015b), mitokondriyal disfonksiyonu azaltarak (Wang ve ark., 2015b), antioksidatif ve antiinflamatuvar aktivite aracılığıyla (Qin-Wei ve Yong-Guang, 2016) ve ER stresi ile indüklenen apoptozu azaltarak (Zhao ve ark., 2016) koruduğu bildirilmiştir. Bu süreçlere çeşitli sinyal yolları katkıda bulunmaktadır. Wang ve arkadaşları berberinin Bcl-2, Bax ve sitokrom c ekspresyonunu azaltarak mitokondri fonksiyonunu iyileştirdiği ve miyokard apoptozunu azalttığını bildirmişlerdir (Wang ve ark., 2015b). Başka bir çalışmada iskemik reperfüzyon sürecinde berberinin ER stresi ile indüklenen apoptozdaki etkisi değerlendirilmiştir. Berberin iskemik reperfüzyonlu kalpte miyokardiyal ER stres değiştirici (PERK) ekspresyonunu baskılamıştır. Kalbin hem iskemik hem iskemik olmayan bölgelerinde berberinin faydalı etkisinin AMPK regülasyonu aracılığıyla ortaya çıkabileceği bildirilmiştir. Berberin tedavisinin miyokardiyal riskli alanlarda AMPK protein konsantrasyonunu ve adenosin difosfat/ adenosin trifosfat (ADP/ATP) ve adenosin monofosfat/adenosin trifosfat (AMP/ATP) oranını azalttığı aksine kontrolle kıyaslandığında non iskemik alanlarda AMPK protein konsantrasyonunu

ve ADP/ATP ve AMP/ATP oranını anlamlı olarak artırdığı saptanmıştır (Chang ve ark., 2012a).

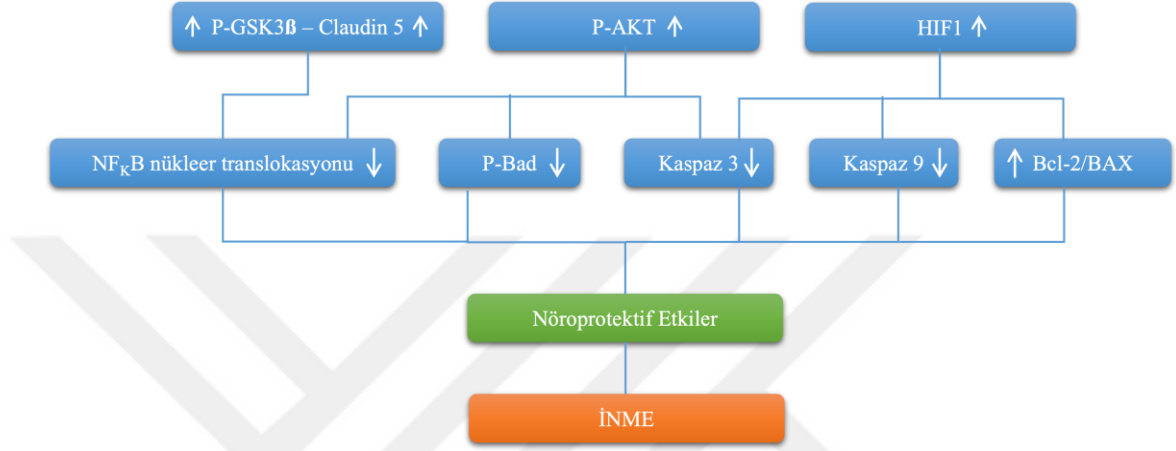
Diyabetin kardiyovasküler hastalık riskini artırdığı bilinmektedir. Bazı çalışmalar diyabetik koşullarda da berberinin iskemi reperfüzyona karşı kardiyoprotektif etki gösterdiğine dikkat çekmektedir. Diyabetik sıçan modelinde berberin AMPK ve PI3K/Akt ve eNOS sinyali aktive ederek kalbi iskemi reperfüzyona karşı korumakta, kardiyak fonksiyonu iyileştirmekte, miyokardiyal apoptozu azaltmaktadır (Chen ve ark., 2014b). Başka bir çalışmada diyabetik kontrollere kıyasla berberin ön tedavisinin AMPK aktivasyonu ve Akt fosforilasyonunu artırdığını ve glikojen sentaz kinaz 3β (GSK3β) aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (Chen ve ark., 2014b).

## 5.5. İnme

İnme, mortalite morbidite ve uzun dönem sakatlığın majör sebeplerindendir. Beyin dokusuna veya subaraknoid bölgeye yetersiz kan akımı veya kanamayla indüklenmektedir. İskemik kalp hastalığında olduğu gibi serebral iskemik hasarın tedavisi için ilk amaç iskemik alana kan akımının sağlanmasıdır. Bununla birlikte bu durum beyinde hasarı indüklemektedir.

Berberinin inme tedavisinde faydalı etkiye sahip olduğu ilk olarak 2008’de bildirilmiştir. Orta serebral arter oklüzyon modelinde berberin nörolojik sonuçları iyileştirmiş ve 48 saat sonra iskemi reperfüzyonla indüklenen serebral infarktüsü azaltmıştır. Berberinin koruyucu etkisi oksijen glikoz yoksunluğu ile indüklenen PC12 hücrelerinde doğrulanmıştır (Zhou ve ark., 2008). Benaissa ve arkadaşları berberinin sıçan yavrularında doz bağımlı olarak iskemi hipoksi hasarını azalttığını doğrulamışlardır (Benaissa ve ark., 2009). Berberinin inmedeki faydalı mekanizması nöroprotektif etkisine dayandırılmaktadır. Berberinin Akt fosforilasyonunda etkilerinin artma, Bad fosforilasyonuna neden olma ve kaspaz-3 ayrılmasını azaltma aracılığıyla serebral iske miyle indüklenen apoptozu engellediği bildirilmiştir. Dahası berberinin etkisi upstream reseptör tirozin kinaza kıyasla PI3K a daha spesifiktir (Hu ve ark., 2012a). Başka bir çalışmada HIF1 ve ilişkili apoptotik yolağın berberinin nöroprotektif etkisiyle ilişkili olduğuna dikkat çekilmektedir (Wang ve ark., 2012b). Ayrıca berberin nöron hasarını p-Akt, p-GSK3β, siklik adenosin monofosfat yanıt elemanı bağlayıcı protein (p-CREB) ve

claudin-5 ekspresyonunu upregüle ederek ve iskemik beyinde NF-KB nükleer akümülyasyonunu azaltarak engelleyebilmektedir (Zhang ve ark., 2012b). Dahası berberinin serebral iskemi reperfüzyon hasarına karşı nöroprotektif etkisi PI3K/Akt ve AMPK yolağıyla da ilişkilendirilmiştir (Simoes Pires ve ark., 2014).



Şekil 5: İnmede berberinin etkisinin potansiyel hedefleri ve mekanizması

## 6. Metabolik hastalıklarda berberin

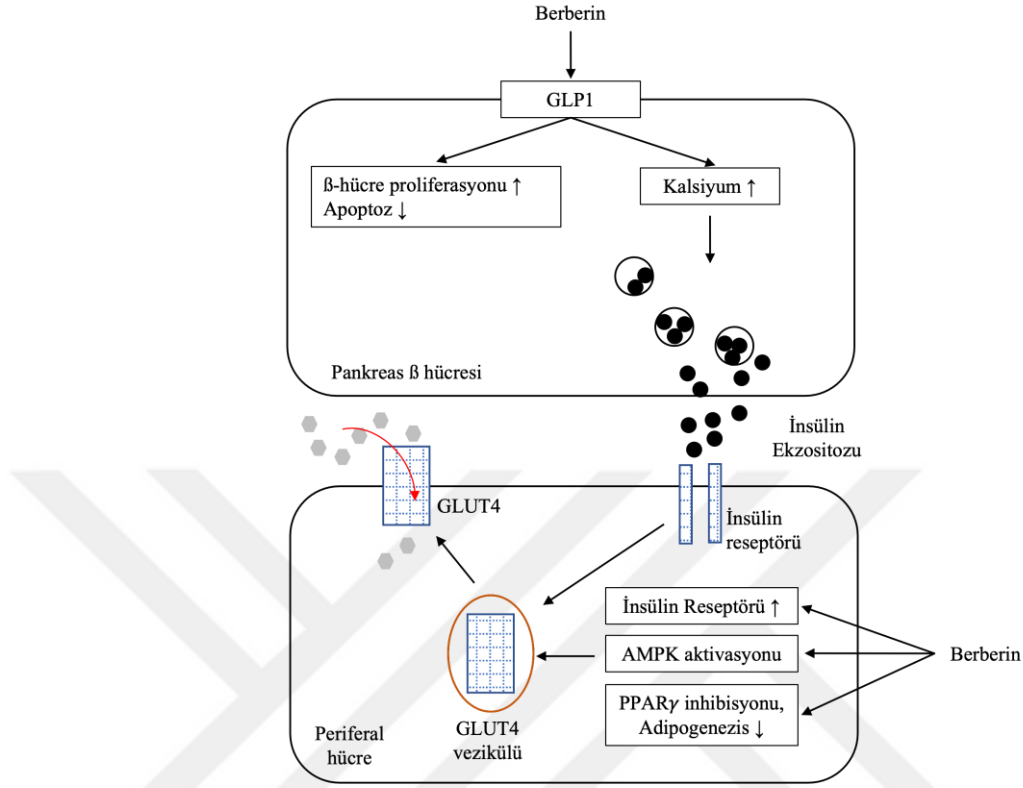
### 6.1. Glikoz metabolizmasında berberin

Birçok prelinik veri berberinin ana olarak AMPK sinyal yolağı ve sonrasında glikoliz indüksiyonu etkisiyle antidiyabetik ajan olabilmek potansiyelini desteklemektedir (Yin ve ark., 2008a).

İnsülin direnci indüklemek için insülin uygulanan H9c2 myoblast hücre hattında berberin glikoz tüketimi ve glikoz uptake'indeki azalmayı azaltır (Chang ve ark., 2013). Berberin iskelet kası L6, miyoblast C2C12 ve adipozit 3T3-L1 hücre hatlarında AMPK'yı aktive ederek glikolizi indükler. İnsülin dirençli miyotüplerde berberin akut insülin aracılı glikoz transporter 4 (GLUT4) translokasyonunu ve glikoz transportunu AMPK ve PI3K aktivasyonu aracılığıyla artırır (Liu ve ark., 2010). Diyabetik hayvanlarda berberin kısmen kardiyak fonksiyonu iyileştirmekte ve açlık kan insülini, açlık kan glikoz u, total kolesterol ve trigliserit düzeyini AMPK ve Akt aktivasyonu ve glikojen sentaz kinaz 3 beta (GSK3β) aktivasyonunun azaltılması aracılığıyla düzenlemektedir. Bu mekanizma H9c2 miyoblast hücre hattında palmitatla indüklenen hipertrofide doğrulanmıştır (Chang ve ark., 2015).

AMPK sinyalindeki rolünün yanısıra berberin çeşitli hücre hatlarında ve hepatit B virüsü transfekte edilmiş insan karaciğer hücrelerinde insülin reseptör (InsR) ekspresyonunu artırmaktadır (Kong ve ark., 2009). Zhou ve arkadaşları berberinin insülininden farklı bir mekanizmayla 3T3-L1 adipozitlerinde glikoz transportunu stimüle ettiğini bulmuşlardır (Zhou ve ark., 2007).

Hem diyabetik hem normal sıçanlarda oral glikoz uygulamasından sonra berberin ileusta plazma glukagon benzeri peptit 1 (GLP-1) düzeyini artırmıştır (Lu ve ark., 2009). Glukagon benzeri peptit 1, intestinal L hücrelerinden glikoz a yanıt olarak salınan barsak kaynaklı bir hormondur ve glikoz metabolizması regülasyonunda önemli etkilere sahiptir. Adenilat siklaz aktivasyonu ve devamında sitozolik serbest Ca artışıyla glikoz bağımlı insülin sekresyonunu stimüle eder ve beta hücre proliferasyonunu destekler. Aynı zamanda GLP-1 glukagon salımını, gastrik boşalmayı ve besin alımını inhibe eder (Burcelin ve ark., 2007). Adipozitlerden salgılanan bir sitokin olan retinol bağlayıcı protein 4 (RBP4) ün insülin direncinde GLUT4 ekspresyonuyla ters korele olduğu bulunmuştur. Adipoz doku, karaciğer veya iskelet kası gibi glikoz tüketen hücrelerde berberin hem GLUT4 hem RPB4 ü glikoz uptake i lehinde olacak şekilde etkilemekte, adipogenezisi adipozit marker peroksizom proliferatörle aktive olan reseptör  $\lambda$  (PPAR $\lambda$ ) downregülasyonu aracılığıyla inhibe etmekte sonuç olarak insülin direncini azaltmaktadır (Choi ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2008a).



Şekil 6: Berberinin glikoz düşürücü etkisinin mekanizması

Randomize klinik çalışmaların bir metaanalizinde berberin klorid desteğinin kan glikozunu ve glikolize hemoglobin düzeyini düşürmede yaşam stili değişikliklerine kıyasla daha etkin olduğu bildirilmiştir. Glikoz düşürücü ajanlar eklendiğinde berberin grubunun kan glikozunu düşürmede kontrol grubuna göre daha etkili olabildiği görülmektedir. Sonuçta diğer insülin duyarlılaştırıcı ajanlarla (metformin, rosiglitazon) karşılaştırıldığında tedavi gruplarında anlamlı fark gözlenmemiştir. Genel olarak hipoglisemik episodlar da oluşmamıştır (Lan ve ark., 2015). Başka bir çalışmada da berberin tip 2 diyabet hastalarında açlık kan glikozu, trigliserit ve insülin düzeylerini azaltmıştır (Zhang ve ark., 2010).

İnsanlarda tip 2 diyabet barsak mikrobiyotası kompozisyonunun değişimiyle de ilişkilendirilmiştir. Diyabetik hastalarda Firmicutes ve Clostridia oranı anlamlı olarak azalırken, Bacteroidetes ve Betaproteobacteria miktarı göreceli olarak artmıştır. Berberinin absorpsiyonu zayıftır, bu nedenle gastrointestinal kanalda sistemik antiinfektif etki göstermeden topikal olarak etkili bir antibakteriyel ajan olarak rol oynar. Berberinin

antidiyabetik aktivitesindeki bir mekanizmanın da barsak mikrobiyotasının modülasyonu olduğu düşünülmektedir (Han ve ark., 2011).

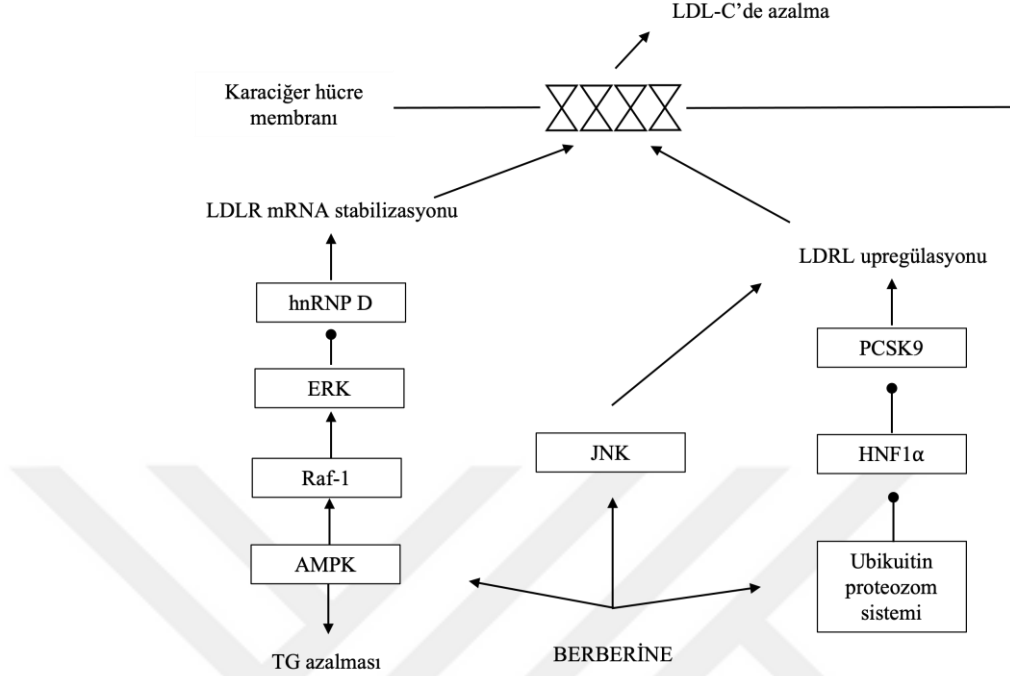
Tüm bu veriler ışığında berberin insülin direnci tedavisinde umut vaat eden bir ajan olarak karşımıza çıkmaktadır.

## **6.2. Lipid metabolizmasında berberin**

Endotel disfonksiyonu ve ateroskleroza ilerlemesi için majör risk faktörlerinden biri LDL-C ve okside LDL'nin kan damarlarında yüksek düzeyde varlığıdır. LDL reseptörünün inaktivitesi veya düşük düzeyde ekspresyonu kan damarlarında LDL-C'un akümüülasyonunu indükler (Kong ve ark., 2006).

Berberin hepatik LDLR'nin ekspresyonunu hem posttranslasyonel hem posttranskripsiyonel düzeyde artırır. Berberin proprotein konvertaz subtilisin kexin tip 9 inhibisyonu ve c-jun N-terminal kinaz (JNK) yolağını aktive ederek LDLR'ünü upregüle eder (Lee ve ark., 2007). Karaciğer dokularında PCSK9 sentezi gen transkripsiyon düzeyinde HNF1 ile kontrol edilmektedir ve Dong ve arkadaşları berberinin PCSK9'u HNF1'in ubikutinle indüklenen protozomal degradasyonu ile azalttığını bildirmişlerdir (Dong ve ark., 2015a).

Post transkripsiyonel bir mekanizma aracılığıyla berberin LDLR mRNA'yı ERK aktivasyonuna ve devamında heterojen nükleer ribonükleoprotein D (hnRNP D) nin redüksiyonuna neden olan AMPK bağımlı Rasla ilişkili faktör 1 (Raf-1) aktivasyonu ile stabilize eder.



Şekil 7: Berberinin lipid düşürücü etki mekanizması

Bu mekanizmalar statin tedavisindekinden farklıdır. Statinler, hidroksi metil glutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktaz inhibisyonu aracılığıyla intraselüler kolesterol düzeyinin deplesyonu ve sterol düzenleyici element 1-sterol regülatör element bağlayıcı proteinler (SRE1-SREBP) yolağının aktivasyonuna neden olarak hepatik LDLR ünün upregülasyonu ve böylece kanda LDL-C'ün düşmesini sağlarlar (Kong ve ark., 2004). Sıçanlarda simvastatinle berberin tedavisi LDLR gen ekspresyonunu monoterapiye göre anlamlı olarak artırmaktadır (Kong ve ark., 2008).

Okside LDL uygulanan insan makrofaj kaynaklı köpük hücrelerinde berberin hem okside LDL reseptörü (LOX-1) ekspresyonunu hem de makrofajların okside LDL uptake'ini inhibe eder ve AMPK-sirtuin 1-peroksizom proliferatörle aktive reseptör  $\gamma$  (AMPK-SIRT1-PPAR $\gamma$ ) yolağını aktive ederek doz bağımlı bir şekilde köpük hücre oluşumunu azaltır (Chi ve ark., 2014). Berberin ayrıca PI3K/AKT/eNOS sinyal yolağı aktivasyonu ile muhtemelen AMPK aktivasyonu aracılı endotel progenitör hücrelerin sağkalımını artırmaktadır (Xiao ve ark., 2014). Hem in vivo hem in vitro çalışmalarda lipopolisakkaritle indüklenen vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1) ekspresyonunu ve lökosit endotel adezyonunu azaltmıştır. Lipopolisakkaritle ile aktive edilen NF-KB

sinyal yolağının DNA bağlayıcı aktivitesini ve nükleer translokasyonunu da inhibe eder (Wu ve ark., 2012).

Makrofaj ve endotel hücrelerinde berberinin NADPH oksidazlar 2,4 downregülasyonu ve devamında ROS üretimini azaltarak ROS ile indüklenen LDL oksidasyonuna karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir (Cheng ve ark., 2013).

AMPK endotel hücrelerde NO sentezinin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Zhang ve arkadaşları palmitatle indüklenen endotel disfonksiyonu AMPK aracılığıyla eNOS upregülasyonu sağlayarak iyileşme sağladığını göstermişlerdir (Zhang ve ark., 2013a). Sıçan aortundan izole edilen endotel hücre kültüründe ve damarlarda berberinin AMPK sinyal kaskatı aktivasyonu aracılığıyla eNOS fosforilasyonunu desteklediği ve yüksek glikoz la indüklenen ROS oluşumunu, hücre sel apoptozu, NF-KB aktivasyonunu ve adezyon molekülleri ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Giancarlo ve ark., 2009).

AMPK aktivasyonu süperoksiti dismute eden antioksidan enzim süperoksit dismutazın (SOD) upregülasyonu ile ilişkilidir. Berberin uygulanan diyabetik farelerde SOD ekspresyonunun arttığı görülmüştür (Lao-ong ve ark., 2012). Diğer bir antioksidan enzim olan glutatyon organizmada redox dengesinin sağlanmasına yardımcı olur ve peroksitlerin temizlenmesinde glutatyon peroksidazın substratıdır (Ceballos-Picot ve ark., 1996). Fare karaciğerinde ve adipozitlerde berberin glutatyon peroksidaz ve SOD hiperaktivasyonunu destekler (Dong ve ark., 2015b). Dahası NSC34 motor nöron benzeri hücrelerde berberin hidrojen peroksitle indüklenen ROS üretimini azaltmakta detoksifiye edici enzimler glutatyon peroksidaz ve SOD ekspresyonunu artırmaktadır (Hsu ve ark., 2012). Antioksidan mekanizmalardaki modölatör etkilerinin yanısıra AMPK sinyal yolağı aktivasyonu kardiyak fibroblastların miyofibroblastlara transformasyonunun engellenmesini destekler. Ai ve arkadaşları (Ai ve ark., 2015) berberinin AMPK'yı indüklediğini ve kardiyak fibroblastlarda rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi (mTOR) sinyal yolağını downregüle ederek kalp yetmezliğine neden olabilen kardiyak fibrotik remodelliği baskıladığını göstermişlerdir.

AMPK sadece kolesterol için değil, yağ asitleri ve trigliserit biyosentezi açısından da önemli bir regülatördür. Cao ve arkadaşları berberin ve metabolitlerinin hepatoma hücrelerinde AMPK aktivasyonu aracılığıyla güçlü trigliserit düşürücü etki gösterdiğini

bildirmişlerdir (Cao ve ark., 2013). Dong ve arkadaşları 3T3-L1 adipositlerinde berberinin yağ akümüasyonu ve yağ damlacıklarını inhibe ettiğini ve trigliseriti düşürdüğünü bildirmişlerdir (Dong ve ark., 2015b).

Berberinin tek başına yada diğer nutrasötiklerle birlikte lipid düşürücü aktivitesi çok sayıda randomize klinik çalışmada doğrulanmıştır. Yakın zamanda yapılan randomize klinik çalışmaların meta analizinde (Dong ve ark., 2013) berberin uygulamasının total kolesterol, trigliserit ve LDL-C düzeyinde anlamlı azalma, HDL kolesterol düzeyinde dikkat çekici artış sağladığı saptanmıştır. Dahası lipidler üzerindeki etkilerinin yanısıra akut koroner sendromu takiben peruktan koroner müdahale yapılan hastalarda berberin desteği MMP-9, VCAM-1 gibi inflamatuvar markerların serum düzeyinde azamlı düzelmeye sağlamıştır (Meng ve ark., 2012).

En çok çalışılan lipid düşürücü nutrasötik 500 mg berberin ve 3 mg monakoin içeren kırmızı maya pirinci kombinasyonudur (Armolid Plus). Kırmızı maya pirinci (*Monascus purpureus*) HMG-Co A ile yarışan monakolinleri ihtiva etmektedir (Heber ve ark., 1999). Bu nedenle berberinle kombinasyonunun aditif yada sinerjistik etki oluşturabileceği düşünülmüştür. Ön çalışma sonuçları bu hipotezin doğruluğunu ispatlamıştır. Dislipidemik hasta grubunda yapılan geniş çaplı bir çalışmada 16 hafta sonunda TC'de %19,1, LDL-C'de %23,5 azalma HDL-C'de %11,6 artış bildirilmiştir (Trimarco ve ark., 2011).

Diğer bir 8 haftalık çift kör klinik çalışmada bu kombinasyonun orta seviyede dislipidemi ve metabolik sendromlu hastalarda HDL-C'ü %4,8 artırdığı, total kolesterolü %12,, LDL-C'ü %21,1 azalttığı ve sonuçların pravastatin ile benzer olduğu (%16 kolesterol azalması %22,6 LDL-C azalması) görülmektedir (Ruscica ve ark., 2014).

Berberinin yedi majör flavolignanının kompleks bir karışımı olan silymarinle kombinasyonu üzerinde de çalışılmıştır. Dislipidemik hastalarda 3 ay sonunda total kolesterol, LDL-C anlamlı olarak azalırken HDL-C'de artış saptanmıştır (Derosa ve ark., 2013). Bu nutrasötük kombinasyonunun efikasitesi ve tolere edilebilirliği statine intoleransı olan tip 2 diyabetli hiperkolestrolemi hastalarında değerlendirilmiş hem lipid paterninde hem de glikoz metabolizmasında iyileşme sağlanmıştır (Di Pierro ve ark., 2015).

### **6.3. Barsak mikrobiyotası düzenlenmesinde berberinin etkisi**

İnsan barsak mikrobiyotası tip 2 diyabeti de içeren obeziteyle ilişkili metabolik disfonksiyonda hayati bir rol oynar. Örneğin Fei ve arkadaşları (Fei ve Zhao, 2013) obez bireylerden alınan endotoksin üreten *Enterobacter cloacae*'nin steril farelerde insülin direnci ve obeziteyi indüklediğini göstermişlerdir. Başka bir çalışmada *Escherichia coli* gibi endotoksin üreten bir barsak patojeni subkutan olarak farelere uygulandığında obeziteye ve insülin direncine neden olmuştur (Cani ve ark., 2007). Berberinin intestinal infeksiyonla ilişkili diare tedavisinde etkili olduğu bilindiğinden Han ve arkadaşları (Han ve ark., 2011) barsak mikrobiyota regülasyonunun berberinin antidiyabetik etki mekanizmalarından biri olabileceğini düşünmüşlerdir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada Zhu ve arkadaşları (Zhu ve ark., 2018a) berberin tedavisinin (14 hafta 0,5 g/L içme suyuna) yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde enflamasyon, endotoksemi ve barsak barsak bariyer geçirgenli regülasyonu ile ilişkili olduğu bilinen *Akkermansia* popülasyonunu upregüle ederek ateroskleroza anlamlı olarak azalttığını bildirmişlerdir. Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (Zhang ve ark., 2012c) berberinin (18 hafta 100 mg/kg/gün oral) barsak mikrobiyotasını modüle ettiğini barsakta kısa zincirli yağ asidi miktarında artış oluşturduğunu ve bu durumun diyabet obezite ve diğer metabolik hastalıklardaki terapötik etkisine katkıda bulunduğu bildirilmiştir.

### **7. Klinik araştırmalar**

Kardiyovasküler hastalıklarda veya ilişkili durumlarda berberinin etkilerini değerlendirmek için çeşitli klinik araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda genelde berberin 4 ila 24 hafta boyunca 0.5-2 gr/gün doz aralığında test edilmiştir. Bu denemelerde berberinin kan lipid profilinde, glikoz düzeyinde, kan basıncında, insülin direncinde, endotel fonksiyonunda, vücut ağırlığında ve sistemik enflamasyon da iyileşme sağladığı gösterilmiştir (Hu ve ark., 2012b; Perez-Rubio ve ark., 2013; Wang ve ark., 2009b; Yin ve ark., 2008b; Zhang ve ark., 2008b).

Klinik araştırmalar hiperkolestrolemi, T2DM, obezite, kongestif kalp yetmezliği, akut koroner sendrom, metabolik sendrom, NAFLD ve polikistik over sendromu gibi belirli hasta gruplarında gerçekleştirilmiş olup sadece bir çalışmada sağlıklı bireyler dahil edilmiştir. 25 kişi 2 gruba ayrılmış bir grup 1.2 g/gün berberin alırken kontrol grubu

herhangi bir tedavi almamıştır. 4. haftada LDL-C, açlık kan glikoz u ve kan basıncı azalmıştır. Dahası endotel fonksiyonda iyileşme saptanmıştır (Wang ve ark., 2009b).

### **7.1. Tip 2 diyabetli hastalarda berberinin etkisi**

Tip 2 diyabetli hastalarda berberin glikoz metabolizmasını düzeltmekte insülin duyarlılığını artırmaktadır. 36 diyabetik hasta iki randomize gruba ayrılmış 12 hafta 1.5 g/gün metformin veya berberin almışlardır. Tedaviden sonra iki grupta da anlamlı olarak glikolize HbA1c, postprandiyal kan glikoz u, açlık plazma glikoz u düzeyi anlamlı olarak downregüle olmuştur. Bu sonuç berberinin metforminle karşılaştırılacak kadar anlamlı bir hipoglisemi etkisine sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca berberin trigliserit ve total kolesterol düzeylerini de anlamlı olarak azaltmıştır (Yin ve ark., 2008b). Zhang ve arkadaşları berberin (1 g/gün) ile metformin (1.5 g/gün) ve rosiglitazone (4 g/gün) un etkilerini karşılaştırmak için diyabetli hastalarda 8 hafta süren bir çalışma planlamışlar ve tedavi sonunda berberinin açlık plazma glikoz u ve HbA1c'yi düşürdüğü ve etkisinin metformin ve rosiglitazonla karşılaştırılabilecek kadar anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca berberin tedavisi öncesi ve sonrası izole edilen periferik kan lenfositlerinde InsR ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiş ve InsR eksprese eden lenfosit upregülasyonu gözlenmiştir. Bu sonuç berberinin InsR ekspresyonunu upregüle ederek insülin direncinde faydalı etki oluşturacağını telkin etmektedir (Zhang ve ark., 2010).

### **7.2. Tip 2 diyabetli ve dislipidemi hastalarda berberinin etkisi**

Zhang ve arkadaşları tip 2 diyabetli ve dislipidemili 106 hastada randomize, plasebo kontrollü çift kör çalışma yapmış ve berberinle (1 g/gün) 12 hafta tedavi sonucunda açlık plazma glikoz u, yükleme sonrası kan glikoz u, HbA1c, total kolesterol ve LDL-C düzeylerinde ve insülin duyarlılığında iyileşme sağlanmıştır. Dahası berberin sistolik ve diyastolik basıncı düşürmüştür (Zhang ve ark., 2008b). Benzer şekilde Gu ve arkadaşları berberinin (12 hafta 1 g/gün) lipid profili ve insülin duyarlılığını iyileştirdiğini göstermişlerdir (Gu ve ark., 2010).

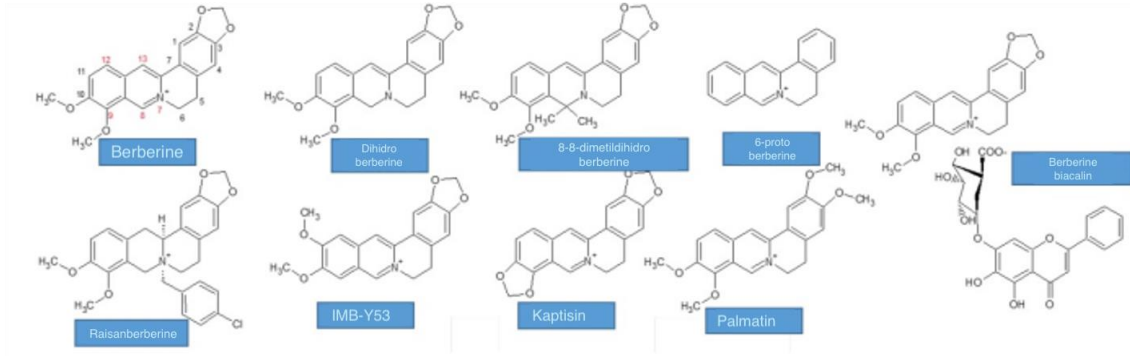
### **7.3. Kardiyovasküler hastalıklardaki klinik araştırmalar**

Refraktör konjestif kalp yetmezliği olan 12 hastaya infüzyon şeklinde (30 dk 0.02 veya 0.2 mg/kg/dk) yüksek doz berberin uygulaması sistemik vasküler direnci azaltıp kardiyak

indeksi artırırken düşük doz uygulanan grupta sadece hastaların kalp hızında azalma gözlenmiştir (Marin-Neto ve ark., 1988). Plazma konsantrasyonu 0.11 mg/L den yükseğe ulaşan hastalarda ventriküler prematür atımların frekansı ve kompleksliği anlamlı olarak azalırken sol ventriküler ejeksiyon fraksiyonu artmıştır (Zeng ve Zeng, 1999). Konjestif kalp yetmezlikli 79 hastada günde 1.2 ila 2 gr berberin tedavisi ile rutin tedavi 8 hafta boyunca uygulanmış berberin tedavisi egzersiz kapasitesi ve dispne-yorgunluk indeksini anlamlı olarak artırırken ventriküler prematür atımların frekansını ve kompleksliğini azaltmıştır (Zeng ve ark., 2003). Meng ve arkadaşları akut koroner sendromlu 130 hastada berberinin etkisini değerlendirmişler bir gruba standart tedaviye (0.9 g/gün 4 hafta) berberin eklemişler diğer grubun sadece standart tedavi almasını sağlamışlar tedavi süresinin sonunda berberin total kolesterol ve LDL-C nin yanısıra enflamasyon markerlarını azaltmıştır. Elde edilen sonuçlar berberinin kardiyovasküler hastalıklarla mücadelede etkili bir hedef olabileceğini telkin etmektedir (Meng ve ark., 2012). Yakın zamanda yapılan bir klinik çalışmada berberin içeren bir nutrasötik kombinasyon HIV ile infekte olmuş hasta grubunda subklinik enflamasyon, lipid profili, PCSK9 ve arteriel sertlik açısından değerlendirilmek üzere denenmiş, sonuçlara göre bu nutrasötiğin esasen PCSK9 ve plazma kolestrol düzeyini düşürdüğü arteriel sertlikte iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Pirro ve ark., 2019).

#### **8. Kardiyovasküler hastalıklarda yeni berberin türevlerinin geliştirilmesi**

Berberinin düşük biyoyararlanımını artırmak ve istenen terapötik etkiyi sağlayacak dozu azaltmak amacıyla çeşitli berberin türevleri sentezlenmiştir. Özellikle 7,8,9,12 ve 13 nolu kısımlar berberin modifikasyonunun hedefleridir.



Şekil 9: Kardiyovasküler ve metabolik hastalıkların tedavisi amacıyla geliştirilmiş berberin türevleri

Berberinin D halkasının alkilasyonu ve açılasyonunun biyoyararlanımı değiştirebildiği bulunmuştur (Xiao ve ark., 2018). Örnek olarak pseudoberberin (10,11-dimetoksitürevi) IMB-Y53 in vivo olarak glikoz düşürücü etkiye artma sağlamıştır ve bunun nedeninin P-gp afinitesinde azalma olduğu düşünülmektedir (Shan ve ark., 2013). Berberinin gastrointestinal kanalda P glikoprotein aracılı ilaç effluksu nedeniyle biyoyararlanımı azalmaktadır (Maeng ve ark., 2002). Bu nedenle IMB-Y53'ün gastrointestinal alımı ve devamında antidiyabetik etkisi artmıştır (Shan ve ark., 2013). IMB-Y53'ün kardiyovasküler hastalıklardaki potansiyeli gelecek için bir araştırma konusudur.

Benzer şekilde dihidroberberin ve analogu 8,8-dimetildihidroberberin sentezlenmiş ve test edilmiştir. Dihidroberberin ve 8,8-dimetildihidroberberin berberinden daha potanttir ve tip 2 diyabette daha düşük dozlarda benzer farmakodinamik etkiler göstermektedir (Cheng ve ark., 2010). Turner ve arkadaşları yüksek yağlı diyetle beslenen sıçan modelinde 560 mg/kg berberinin 100 mg/kg dihidroberberinle adipoziteyi, doku trigliserit akümülyasyonunu ve insülin direncini yavaşlatma açısından benzer etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Turner ve ark., 2008).

Diğer bir berberin türevi 12-aminometil berberrubine potansiyel antidiyabetik olarak sentezlenmiş ve 3T3-L1 adipositleri ve L6 miyotüplerinde insülin direnci ve glikoz transportu üzerindeki etkileri açısından denenmiş ve etkisinin rosiglitazone ile karşılaştırılabilir olduğu kanaatine varılmıştır (Li ve ark., 2014). İn vitro assay analizlerinde ise berberin türevlerinin  $\alpha$ -glikozidaz enzimini inhibe edici etkisi analiz edilmiş ve bu açıdan potansiyel antidiyabetik ilaç olduğu gösterilmiştir (Xiao ve ark., 2018).

Berberin bir izokinolon alkaloididir ve kuaterner amonyum iyonundan dolayı negatif şarjla diğer moleküllerle berberin-baicalin, berberin-wogonoside, berberin-glycyrrhizin gibi bileşikler oluşturabilir. Bu bileşikler berberine kıyasla daha lipofilik olduğundan dolayı biyoyararlanımları artar (Wang ve ark., 2012a).

6-protoberberine sistolik kan basıncını ve kalp hızını santral sempatolitik etkiyle düşürerek hipotansif etki gösterir (Liu ve ark., 1999). Tetrahidroprotoberberin sıçan aortunda  $\alpha$ 1-adrenoseptörlerin kompetitif antagonistidir ve endotel bağımlı damar gevşetici etki göstermez (Ko ve ark., 1996). Yeni tetrahidroprotoberberin türevleri selektif dopamin 1 reseptör inhibitörü olarak geliştirilmektedir (Qian ve ark., 2012).

Raisanberine (p-klorobenziltetrahydroberberin klorid) CPU86017 olarak da adlandırılan pulmoner arteriel hipertansiyon, kalp yetmezliği ve aritmi tedavisi için geliştirilmiş yeni bir kardiyoprotektif ilaçtır. Miyokard infarktüsü sıçan modelinde CPU86017 kalp fonksiyonu ve hemodinamik parametrelerde iyileşme sağlamıştır (Qi ve ark., 2010).

## **9. Sonuç uyarılar ve gelecek perspektifler**

Son on yılda ortaya koyulan çalışmalar berberinin kardiyak hipertrofi, kalp yetmezliği, aterosklerozis, inme, DM gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklarda çeşitli terapötik etkilere sahip olduğunu açıkça göstermektedir. Berberinin çeşitli hastalıkların tedavisindeki efikasitesine AMPK, SIRT1, PCSK9, LDLR, PPAR, NF- $\kappa$ B ve barsak mikrobiyotasının modülasyonu gibi çok sayıda hedefli farmakolojik profil aracılık etmektedir.

Berberinin güvenli olması zayıf oral absorpsiyonu nedeniyle olabilir. Yüksek doz berberin CYP3A11, CYP3A5 gibi çeşitli sitokrom enzimlerini inhibe edebilmekte ve tekrarlanan oral uygulama sağlıklı bireylerde (günde 3 kez 0.3 gr) CYP2D6, CYP2C9 ve CYP3A4 aktivitesini azaltabilir (Guo ve ark., 2012). Bu durum diğer ilaçların metabolizmasını etkileyebilmenin yanı sıra ilaç-bitki etkileşimlerine neden olabilir.

Daha önce bahsedildiği üzere, berberinin zayıf oral absorpsiyonuna bağlı olarak düşük biyoyararlanımı paratik uygulaması önündeki temel engeldir. Modern oral dozaj formları dozlama frekansında azalma, daha iyi terapötik kontrol ve daha az yan etki gibi çeşitli faydalar sağlayabilir. Polimer materyallerde, partikül mühendisliğinde ve

nanoteknolojideki ilerlemeler berberinle ilgili sorunların çözülmesine katkıda bulunabilir. Farklı tipteki nanotaşıyıcılar (polimerler, manyetik gözenekli silika, lipidler, grafin, altın ve gümüş nanopartiküller gibi) berberinle ilgili sorunlarda faydalı olabilir (Mirhadi ve ark., 2018).

Berberin içeren bitkiler geleneksel Çin tıbbında ve diğer geleneksel tıp sistemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu alkaloidin yanısıra bu bitkiler diğer ilişkili bileşikler ve berberin türevlerini de içermektedir. Geleneksel Çin tıbbındaki preparatlar genelde komplekstir ve diğer yapısal olarak farklı bitki sekonder metabolitlerini içerirler. Bu durum berberin ve diğer maddelerin birlikte kullanılması konusunda ilham verici olmuştur. Örneğin oligomerik proantosiyanidinler tarçınsuyu ekstrelerinin temel antidiyabetik bileşikleridir. Proantosiyanidinlerin berberinle kombinasyonu diyabetik farelerde Caco-2 intestinal hücrelerde P-glikoproteini inhibe ederek ve böylece berberin efluksunu azaltarak berberinin farmakokinetiğini ve hipoglisemik efikasitesini anlamlı olarak artırmaktadır (Zhang ve ark., 2018). Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde berberin ve resveratrolün kombinasyonu hipolipidemik etkide artış sağlamıştır. Mekanistik çalışmalar berberin ve resveratrol kombinasyonunun HepG2 hücrelerinde LDLR ekspresyonunu ilaçların tek başına verilmesi durumuna kıyasla anlamlı olarak artırdığını göstermektedir (Zhu ve ark., 2018b).

Sonuç olarak berberin kardiyovasküler ve metabolik hastalıkların tedavisinde umut vadeden doğal bir bileşiktir. İleri yapısal modifikasyonlarla oral biyoyararlanımı, efikasitesi artırılabilir. Bununla birlikte, berberinin diğer nutrasötiklerle veya bileşiklerle kombinasyonu dikkatli analiz edilmelidir. Dahası insanlarda iyi dizayn edilmiş, yüksek ölçekli, kalitesi yüksek, çok merkezli klinik çalışmalarla berberinin güvenlik, toksisite profili, klinik yararlanım değerlendirilmesine ihtiyaç vardır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Deney modeli

Çalışmamızda 200-250 gram ağırlığında toplam 48 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol, MGO maruziyeti yapılanlar ve MGO ile birlikte berberin uygulanan sıçanlar ve tek başına berberin uygulanan sıçanlar olmak üzere 4 gruba ayrıldı. MGO grubu sıçanlara sırt bölgesine yerleştirilecek osmotik mini pompalar (Alzet osmotik mini-pompa, model 1004) ile subkutan olarak 4 hafta süreyle sürekli infüzyon ile (0.11 mikrol/saat, 24 mg/gün) MGO uygulandı.

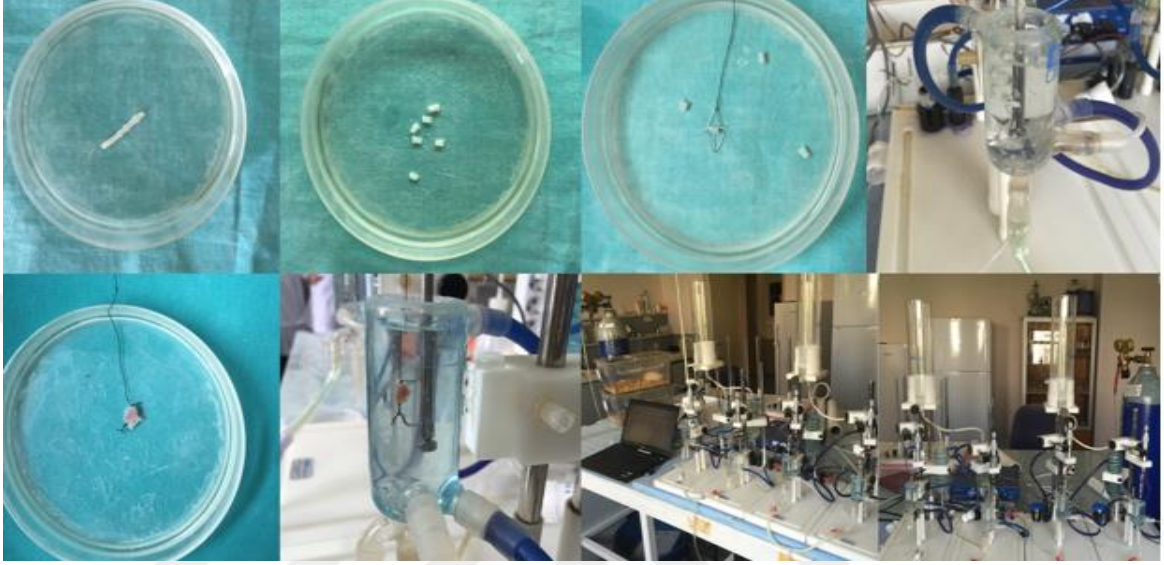
MGO ile birlikte berberin uygulanan sıçanlarda MGO aynı doz ve sürede verilirken beraberinde günde tek doz oral gavaj yoluyla berberin 100 mg/kg dozda (0.1 ml) uygulandı. Son grupta oral gavaj yoluyla aynı doz, hacim ve sürede sadece berberin uygulandı. (Tablo 2).

| Deney Grupları       | Yapılacak İşlem                                                            |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| Kontrol Grubu        | Tedavi ya da MGO maruziyeti oluşturulmadı                                  |
| MGO grubu            | MGO maruziyeti için pompa yerleştirildi                                    |
| MGO + Berberin grubu | MGO maruziyeti için pompa yerleştirildi ve berberin gavaj yoluyla verildi. |
| Berberin grubu       | Berberin gavaj yoluyla verildi.                                            |

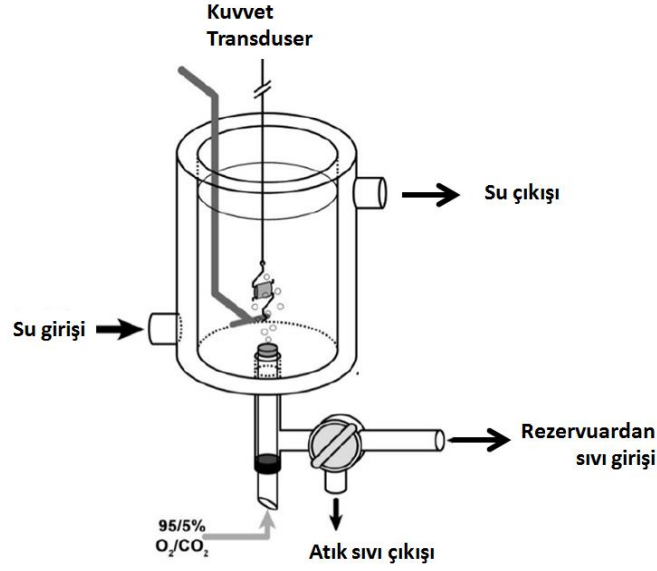
Tablo 2: Deney grupları

4 haftalık süre sonunda sıçanlar ketamin ve ksilazin anestezisi altında kanları alındıktan sonra dekapite edilerek torasik aortları çıkarılıp, etraf dokulardan dikkatle temizlendikten ve arter halkaları 2-3 mm uzunluğunda kesildikten sonra elde edilen aort halkaları damar lümeni zedelenmeden dikkatlice iki paslanmaz çelik klipten geçirilerek taze Krebs solüsyonu (mM: NaCl 118, KCl 5, NaHCO<sub>3</sub> 25, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0, MgSO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5 ve glikoz 11.2) ile dolu 20 ml'lik organ banyosunda pH 7.4 olacak şekilde %95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> ile gazlanması sağlanarak 37°C'de dinlenmeye alındı. İzometrik gerilim; bir bilgisayar-tabanlı veri toplama sistemine (MP36, Commat Ltd., Ankara, Türkiye) bağlı

bir izometrik kuvvet dönüştürücü (FDT10-A, Commat Ltd., Ankara, Türkiye) ile sürekli ölçüldü. Torasik arter halkalarına 1.5 g optimal bir dinlenme gerginliği uygulanıp dokular 60 dakika süre boyunca dengelemeye bırakıldı.



Şekil 10: Elde edilen doku preparatlarının hazırlanması



Şekil 11: Hazırlanan preparatların yerleştirildiği organ banyosu

### 3.2. Protokol

Deneylerin ilk kısmında, tüm gruplarda KCl (20-80 mM) ve fenilefrin ( $10^{-9}$ - $10^{-5}$  M) ile kasılma yanıtları alındı. Daha sonra fenilefrin ile kasılmış endoteli sağlam torasik arter halkalarının ACh (endotel bağımlı, ACh,  $10^{-9}$ -  $10^{-5}$  M) ve sodyum nitroprusid (SNP, endotelden bağımsız,  $10^{-12}$  - $10^{-5}$  M) ile gevşeme yanıtları alınmıştır. 30 dakika süreyle L-NAME (NOS inhibitörü, 100 mikromM), ODQ (solubl guanilat siklaz inhibitörü, 3 mikromM), Wortmannin (PI3K/Akt inhibitörü 100 nM) ve Compound C (AMPK inhibitörü, 5 mikromM) inkübasyonu sonrası ACh gevşeme yanıtları tekrar edildi.

### 3.3. İlaçlar

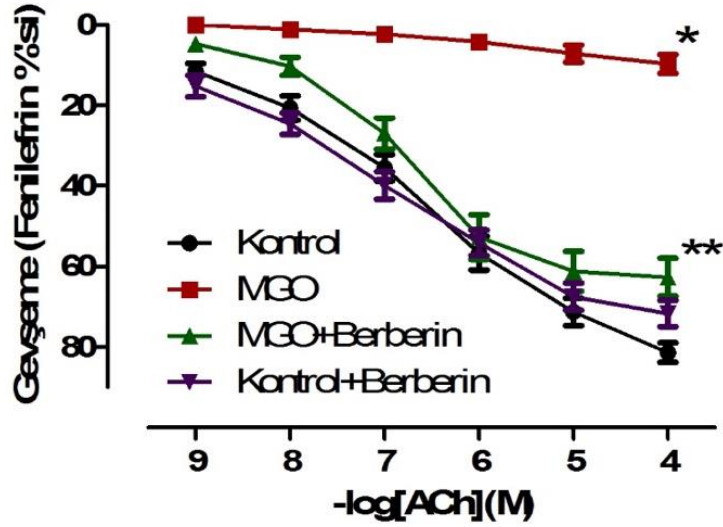
Asetilkolin klorür, L-fenilefrin hidroklorür, sodyum nitroprusid, berberin ve MGO kullanıldı. Bütün deneyler boyunca ilaçlar günlük olarak taze hazırlandı. Tüm ilaçlar distile suda çözülerek hazırlandı.

### 3.4. İstatistiksel analizler

Tüm veriler ortalama $\pm$  standart hata olarak değerlendirildi. Gevşeme yanıtları (ACh ve SNP) Phe ile elde edilen kasılmaya karşı % gevşeme yanıtı olarak hesaplandı. Phe ile elde edilen kasılma verileri 80 Mm KCl yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edildi. Tek yönlü ANOVA analiz yöntemi kullanılarak gruplar arasındaki farklar analiz edildi. Elde edilen verilerde  $p < 0,05$  sağlananlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

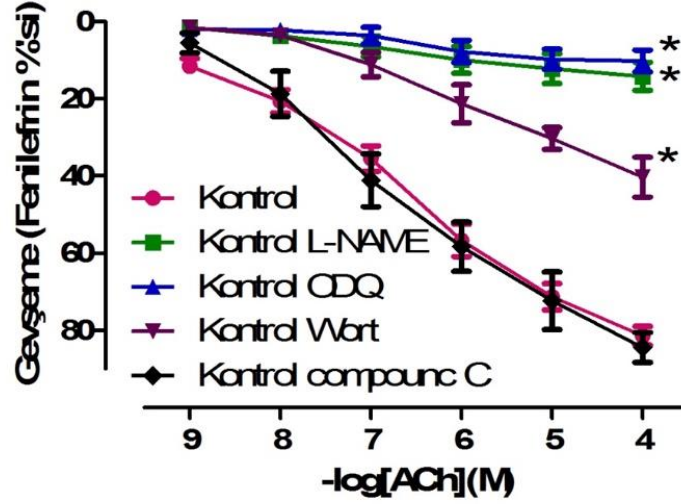
### 4.1. Asetilkolinle elde edilen endotel bağımlı gevşeme yanıtları



Şekil 12: Asetilkolinle elde edilen gevşeme yanıtı. \* $p < 0,05$  kontrole göre, \*\* $p < 0,05$  MGO'ya göre anlamlı

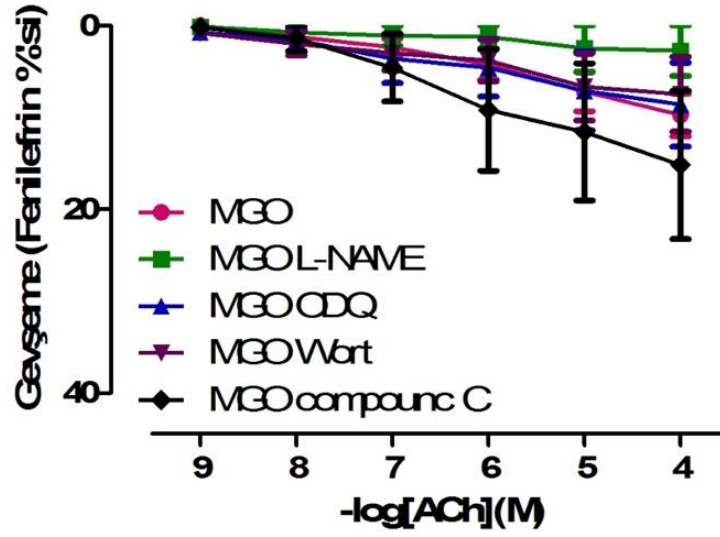
Kontrol grubu hayvanlarından elde edilen aort halkalarında asetilkolin (ACh) ile konsantrasyon bağımlı şekilde gevşeme yanıtı elde edildi (Şekil 12). Osmotik mini pompa aracılığıyla 4 hafta boyunca MGO maruziyeti uygulanan hayvanlardan elde edilen damarlarda ACh ile ilişkili gevşeme yanıtlarında anlamlı olarak inhibisyon gerçekleşti. 4 hafta boyunca hem osmotik pompa aracılı MGO maruziyeti hem de gavaj yoluyla berberin uygulaması yapılan hayvan damarlarında ACh ile ilişkili gevşeme yanıtlarındaki azalma yanıtı anlamlı olarak düzeldi. Gavajla berberin verilen kontrol grubunda ise gevşeme yanıtlarında kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik elde edilmedi.

#### 4.2. L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonucu ACh ile elde edilen gevşeme yanıtları



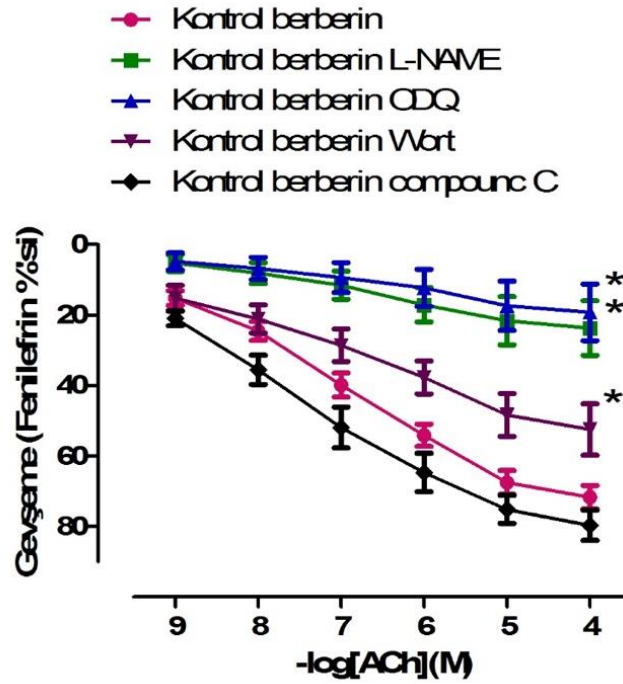
Şekil 13: Kontrol grubundaki aort halkalarında L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonrası ACh ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı \* $p < 0,05$  kontrole göre anlamlı

Kontrol grubu hayvanlardan elde edilen damarlarda ACh bağımlı gevşeme yanıtları L-NAME, ODQ ve wortmannin inkübasyonu ile anlamlı olarak azaldı. Compound C inkübasyonu ise ACh gevşeme yanıtlarında kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık oluşturmadı (Şekil 13).



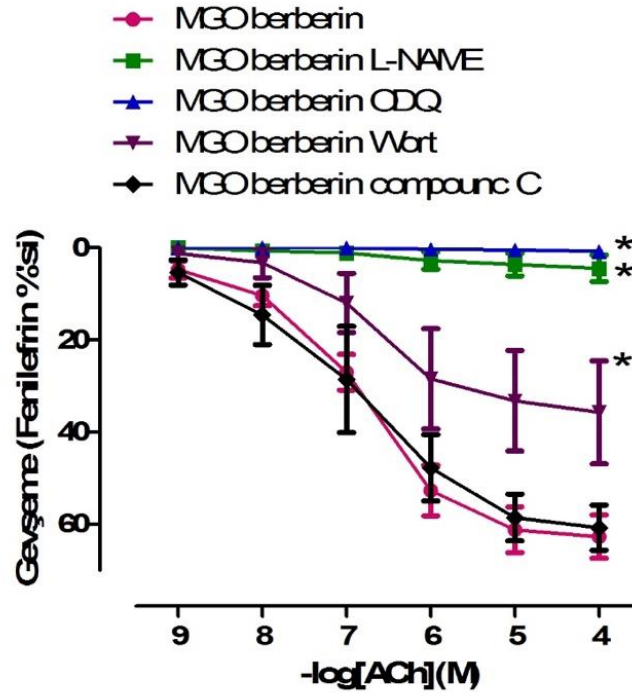
Şekil 14: MGO grubundaki aort halkalarında L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonrası ACh ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı

Osmotik minipompa aracılığıyla 4 hafta boyunca MGO uygulanan grupta L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonucunda MGO grubunda gözlenen ACh bağımlı gevşeme yanıtındaki bozulmada anlamlı bir değişiklik elde edilmedi (Şekil 14)



Şekil 15: Kontrol berberin grubundaki aort halkalarında L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonrası ACh ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı \* $p < 0,05$  kontrole göre anlamlı

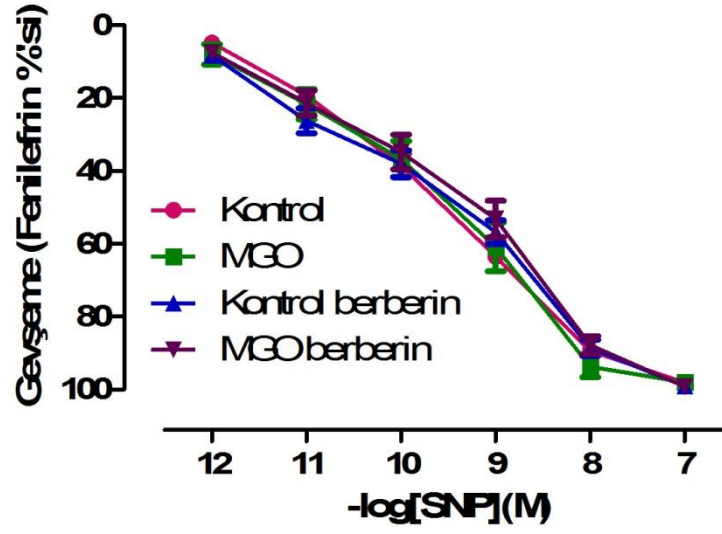
Dört hafta boyunca berberin gavajı yapılan MGO uygulanmayan gruptaki hayvanlardan elde edilen damarlarda ACh bağımlı gevşeme yanıtları L-NAME, ODQ ve wortmannin inkübasyonu ile anlamlı olarak azaldı. Compound C inkübasyonu ise ACh gevşeme yanıtlarında kontrol berberin grubuna göre anlamlı bir farklılık oluşturmadı (Şekil 15).



Şekil 16: MGO berberin grubundaki aort halkalarında L-NAME, ODQ, Wortmannin ve Compound C inkübasyonu sonrası ACh ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı \* $p < 0,05$  MGO berberin grubuna göre

Dört hafta boyunca hem MGO hem berberin uygulanan hayvanlardan elde edilen damarlardaki ACh gevşeme yanıtlarında L-NAME, ODQ ve Wortmannin inkübasyonu ile anlamlı olarak azalma gerçekleşirken compound C inkübasyonu ile gevşeme yanıtında anlamlı bir değişiklik oluşmadı (Şekil 16).

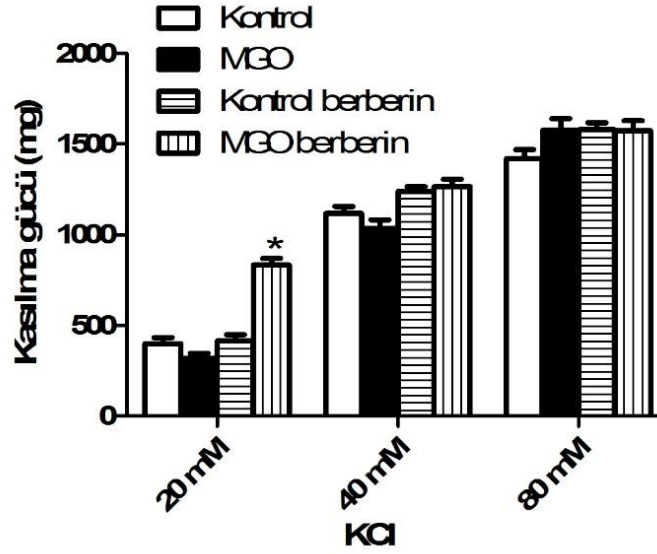
#### 4.3. Aort halkalarında endotelden bağımsız SNP ile elde edilen gevşeme yanıtları



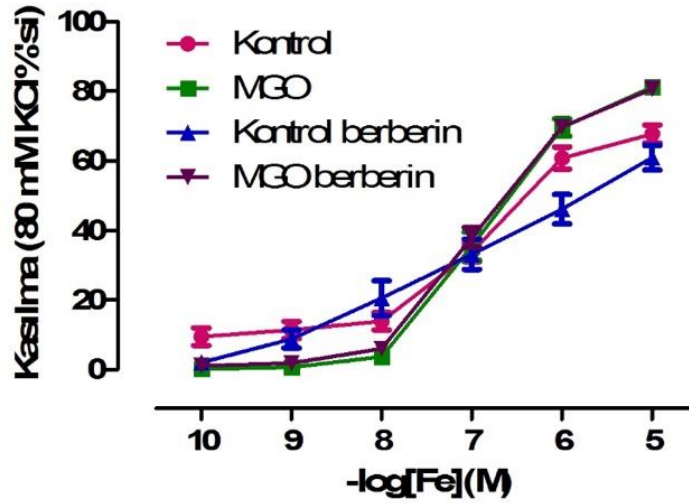
Şekil 17: Aort halkalarında SNP ile oluşan konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı

Kontrol grubu hayvanlardan elde edilen damarlarda endotelden bağımsız SNP uygulaması konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtı oluşturdu. Oluşan bu yanıt kontrol berberin, MGO ve MGO berberin gruplarında da oluştu ve oluşan yanıtta anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 17).

#### 4.4. KCl ve fenilefrin ile elde edilen kasılma yanıtları



Şekil 18: 20-80 mM KCl ile oluşan kasılma yanıtları



Şekil 19: Fenilefrinle elde edilen konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları

Kontrol grubu hayvanlarından elde edilen damarlarda hem Fe hem KCl aracılığıyla konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtı oluşurken berberin uygulanan kontrol grubu, 4 hafta boyunca osmotik pompayla MGO maruziyeti uygulanan ve MGO maruziyetinin yanısıra berberin gavajı uygulanan grupta hem Fe hem KCl kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşmadı (Şekil 18 ve 19).



## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı; 4 hafta süreyle berberin uygulamasının MGO maruziyeti ile oluşan endotel disfonksiyonuna karşı koruyucu etkisinin araştırılması ve berberinin olası koruyucu etkisinde AMPK/PI3K/Akt/eNOS yolağının rolünün değerlendirilmesidir. Kontrol grubu sıçanlara 4 hafta süreyle MGO uygulaması endotel disfonksiyonu gelişimine neden olmuştur. MGO ile indüklenen endotel disfonksiyonu eş zamanlı olarak uygulanan berberin tedavisi ile anlamlı olarak önlenmiştir. Bu çalışma, MGO ile indüklenen endotel disfonksiyonuna karşı berberin'in koruyucu etkisini ve bu etkiye PI3K/AKT/eNOS aracılı bir mekanizmanın rolünü gösteren literatürdeki ilk çalışmadır.

Çalışmamızda 4 hafta süreyle MGO uygulanan sıçanlardan elde edilen torasik aort halkalarında ACh'e bağlı konsantrasyon-yanıt eğrileri oluşturulmuş ve ACh'e bağlı oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtlarının MGO uygulanan sıçanlarda istatistiksel anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur. Gevşeme yanıtlarında gözlenen bu azalmanın endotele bağlı olup olmadığını test etmek için aynı damarlarda endotelden bağımsız gevşeme yanıtları da SNP'ye bağlı konsantrasyon yanıt-eğrileri ile değerlendirilmiştir. MGO uygulanan sıçan aortunda SNP ile indüklenen gevşeme yanıtlarının kontrol grubundan istatistiksel anlamlı olarak farklı olmaması, damar gevşeme yanıtlarındaki MGO aracılı bozulmanın temel olarak endotel fonksiyonlarındaki azalmayla ilişkili olduğuna işaret etmektedir.

Endotel disfonksiyonu birçok mekanizma ile oluşabilirse de, bu mekanizmaların en önemlisi endotelden salınan NO'in azalmasıdır. Çalışmamızda gözlenen MGO aracılı endotel disfonksiyonuna eNOS aracılı endotel NO üretiminde azalma neden olmuş olabilir. Bu hipotezi değerlendirmek için, izole torasik aort halkaları NOS inhibitörü L-NAME ile inkübe edilmiş ve ACh ile endotel bağımlı gevşeme yanıtları bu gruplar arasında yeniden değerlendirilmiştir. L-NAME gibi arginin analogları NO üretimini bloke edebildiklerinden, L-NAME varlığında NO etkileri ayrıntılı olarak çalışılabilmektedir. L-NAME varlığında kontrol ve MGO grubu arasında ACh gevşeme yanıtları arasında gözlenen anlamlı farkın kaybolduğu görülmüştür. Benzer şekilde, solubl guanilat siklaz

inhibitörü olan ODO inkübasyonu sonucu da endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında kontrol ve MGO grubu damarlar arasında gözlenen fark kaybolmaktadır. Bu sonuçlar, MGO aracılı endotel disfonksiyonuna endotel disfonksiyonuna eNOS enzimi aracılı NO üretiminde ve buna bağılı guanilat siklaz uyarısında azalmanın aracılık edebileceğine işaret etmektedir. Diğer yandan, MGO aracılı gelişen endotel disfonksiyonunda PI3K/Akt yolağının rolünü değerlendirmek için dokular bu yolağın inhibitörü olan Wortmanin ile inkübe edilmiş ve ACh'e bağılı gevşeme yanıtları tekrarlanmıştır. Wortmanin inkübasyonu sonrasında kontrol ve MGO grupları arasında ACh ile oluşan gevşeme yanıtları arasındaki farkın azaldığı görülmüştür. Bu sonuç, MGO aracılı endotel disfonksiyonunda PI3K/Akt yolağının olası rolünü desteklemektedir. AMPK inhibitörü Compound C ile inkübasyon sonrası ise kontrol ve MGO grupları arasında ACh'e bağılı gevşeme yanıtları arasındaki farkın değişmemesi, MGO'nun endotel fonksiyonları üzerine olan zararlı etkisinde AMPK'nın anlamlı bir rolü olamayabileceğine işaret etmektedir.

eNOS endotel fonksiyonu için gereklidir ve eNOS'un upregülasyonu, kan akışını artırarak endotelin koruyucu mekanizmasına destek olur (Albrecht ve ark., 2003; Marletta, 1994). Sağlam aort halkalarının berberin ile muamele edilmesi sonucu NO düzeylerinin arttığı ve berberin'in aort halkalarında doz bağımlı olarak gevşemeyi indüklediği gösterilmiştir (Kang ve ark., 2002). Çalışmamızın sonuçları da MGO uygulanan sıçanların torasik aort dokularında gözlenen endotel bağımlı gevşeme yanıtlarındaki bozulmanın bu grup hayvanlara eşzamanlı olarak berberin uygulanması ile anlamlı olarak düzeldiğini göstermiştir. MGO + berberin grubu sıçanlardan elde edilen aort dokusunda ACh aracılı gevşeme yanıtlarının kontrollere benzer olduğu görülmüştür. Bu sonuç berberinin MGO aracılı endotel disfonksiyona karşı koruyucu rolünü desteklemektedir.

Literatürde berberin'in hiperglisemiyle indüklenen endotel hasarını engellediği ve vazodilatasyonu artırdığı ve bu etkinin AMPK ve eNOS aracılı olduğuna dair veriler mevcuttur (Wang ve ark., 2009c). Berberin'in diyabetik ensefalopatiyle ilişkili Tau fosforilasyonunu PI3K/Akt/GSK3 $\beta$  yolağını olumlu etkisiyle azalttığı ve kognitif bozukluklar üzerine yararlı etkiler yaptığı da bilinmektedir (Wang ve ark., 2018). Berberin diyabetik sıçanlarda iskemi reperfüzyonla indüklenen myokardiyal apoptozunu da AMPK ve PI3K/Akt sinyali aktive ederek azaltmaktadır (Chen ve ark., 2014b). AMPK damar sisteminde hem endotelde hem de düz kas hücrelerinde eksprese olmaktadır. Endotel

hücrelerinde AMPK aktivasyonunun PI3K/Akt/eNOS yolağı aracılığıyla Ser1177'de eNOS fosforilasyonunu ve NO yararlanımını uyardığı bildirilmiştir (Morrow ve ark., 2003). Bütün bu bilgiler ışığında; berberin MGO aracılı endotel disfonksiyonuna karşı koruyucu etkisinde PI3K/Akt/eNOS yolağının rolünü araştırmak için dokular eNOS inhibitörü L-NAME, PI3K/Akt inhibitörü olan Wortmanin ve AMPK inhibitörü Compound C ile ayrı ayrı inkübe edilmiş ve ACh' bağlı gevşeme yanıtları tekrarlanmıştır. L-NAME, ODQ ve PI3K inhibisyonu ile MGO ile oluşan endotel disfonksiyonuna karşı berberin'in önleyici etkisinin azaldığı saptanmıştır. Compound C ise berberin'in koruyucu etkisini önleyememiştir. Çalışmamızın sonuçları berberin'in MGO'ya karşı koruyucu etkisinde PI3K/Akt/eNOS yolağının rolünü desteklerken, AMPK'nın katkısı olmadığını telkin etmektedir. Bu sonuçlar; MGO maruziyetinin PI3K/Akt/eNOS yolağını etkileyerek endotel disfonksiyonuna katkıda bulunabileceğini ve berberin uygulamasının bu yolaktaki olumlu etkileriyle endotel fonksiyonlarını koruyabileceğini desteklemektedir.

Endotelden bağımsız gevşeme yanıtları tüm gruplarda SNP konsantrasyon-yanıt eğrileri ile değerlendirilmiş ve gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Sonuçlarımız MGO'nun veya berberin'in endotel bağımsız gevşeme yanıtlarını anlamlı olarak etkilemediğini göstermektedir. Gevşeme yanıtları üzerine olan etki yanısıra, uzun süreli MGO maruziyetinin ve berberin uygulamasının torasik aort kasılma yanıtları üzerine etkisi olup olmadığını değerlendirmek için tüm gruplarda KCl ve Fe ile kasılma yanıtları da değerlendirilmiştir. KCl reseptör bağımsız, voltaja bağımlı bir mekanizmayla depolarizasyon sonucu hücre içi kalsiyum artışına bağlı bir kasılma yanıtına neden olurken, Fe  $\alpha$ -adrenerjik reseptör aracılı bir mekanizma aracılığıyla hücre içi kalsiyum artışına ve damar düz kas kasılmasına aracılık etmektedir. Kronik MGO uygulanan sıçanların torasik aort halkalarında hem KCl hem de Fe ile oluşan kasılma yanıtları anlamlı olarak değişmemiştir. Benzer şekilde berberin uygulaması da KCl ve Fe ile indüklenen kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu sonuçlar ne MGO uygulamasının ne de berberinin uygulanan doz ve sürede damar kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmamız uzun süreli MGO maruziyetine bağlı gelişen endotel disfonksiyonuna karşı berberin tedavisinin koruyucu rolü olduğunu gösteren literatürdeki ilk çalışmadır. Berberin aracılı oluşan bu olumlu etki PI3K/Akt/eNOS yolağı aracılığıyla

ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle yüksek düzeyde MGO maruziyetiyle ilişkili durumlar olan diyabet, obezite, hipertansiyon, hiperlipidemi, yaşlılık ve yüksek MGO içerikli beslenme gibi koşullarda berberin kullanımı endotel fonksiyonlarının korunması açısından yararlı olabilecek yeni bir seçeneği sunabilir. Bununla birlikte, bu çalışma bu konuyu değerlendiren literatürdeki ilk çalışmadır ve konun değerlendirileceği kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Diyabet gibi hiperglisemik koşullar dışında MGO ve onun oluşturduğu ileri glikasyon son ürünleri (AGE)'ler hiperlipidemi, obezite, hipertansiyon, yaşlanma ve oksidatif stres gibi sık görülen diğer klinik durumlarda da artmaktadır. Diyabet, hipertansiyon ve hiperlipidemi yaşlılıkta sık görülen klinik durumlardır. Bu gibi klinik durumlarda artan endojen MGO dışında, insanlar besinlerle de yüksek miktarlarda eksojen olarak MGO'ya maruz kalabilmektedir. Batı diyetinin MGO'dan zengin olduğu bilinmektedir ve besinlerin özellikle yüksek ısılarda işlem görmesi durumunda (kızartma, kavurma, ızgara, pastörize süt, peynirler, sosis, sucuk, işlenmiş etler, mısır gevreği gibi) MGO içeriğinin arttığı bilinmektedir. Ayrıca, yüksek miktarda früktozlu mısır şurubu içeren sık kullanılan bazı soğuk içeceklerde de MGO yüksek miktarda bulunmaktadır. Tüm bu sonuçlar MGO maruziyetinin gittikçe artmakta olduğunu ve çeşitli klinik durumlarda artan MGO'nun endotel disfonksiyonu gelişiminde önemli bir ortak mekanizma olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle; MGO aracılı zararlı etkileri önleme potansiyeline sahip olan bileşikler MGO düzeylerinin arttığı ve birlikte görülme sıklığı da yüksek olan başta diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi ve yaşlılık gibi klinik durumlarda gözlenen endotel disfonksiyonu gibi komplikasyonların önlenmesinde yararlı olabilir. Berberin Çin'de geleneksel olarak enfeksiyon ve diyabet tedavisinde kullanılan ve berberis türlerine ait bitkilerde bulunan bir izokinolon alkaloididir. Berberinin kan glikozunu ve lipidlerini düşürücü, insülin duyarlılığını iyileştirici ve enflamasyonu azaltıcı etkileri bildirilmiştir. Dahası çeşitli hayvan modellerinde antihipertansif, antiaterosklerotik ve damar koruyucu etki göstermektedir. Berberin'in vazodilatör özellikleri üzerine çalışmalar olmasına rağmen, damarlar üzerinde yüksek MGO maruziyetine bağlı gelişen hasara karşı etkileri daha önce hiç çalışılmamıştır. Çalışmamızın sonuçları da berberin'in PI3K/Akt/eNOS yolu üzerinde olumlu etkiler oluşturabileceğini ve MGO aracılı endotel hasarına karşı koruyucu rol oynayabileceğini telkin etmektedir. Bu nedenle, yüksek MGO maruziyetiyle ilişkili birçok kardiyovasküler hastalıkta endotel fonksiyonlarının korunması için kullanılabilme potansiyeline sahiptir.

## KAYNAKLAR

Abe H, Yamada N, Kamata K, Kuwaki T, Shimada M, Osuga J *et al.* Hypertension, hypertriglyceridemia, and impaired endothelium-dependent vascular relaxation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *J Clin Invest.* 1998;101: 1784-1788.

Affuso F, Ruvolo A, Micillo F, Sacca L, Fazio S. Effects of a nutraceutical combination (berberine, red yeast rice and policosanols) on lipid levels and endothelial function randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010;20: 656-661.

Ai F, Chen M, Yu B, Yang Y, Xu G, Gui F *et al.* Berberine regulates proliferation, collagen synthesis and cytokine secretion of cardiac fibroblasts via AMPK-mTOR-p70S6K signaling pathway. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8: 12509-12516.

Albrecht EW, Stegeman CA, Heeringa P, Henning RH, van Goor H. Protective role of endothelial nitric oxide synthase. *J Pathol.* 2003;199: 8-17.

Alomar F, Singh J, Jang HS, Rozanzki GJ, Shao CH, Padanilam BJ *et al.* Smooth muscle-generated methylglyoxal impairs endothelial cell-mediated vasodilatation of cerebral microvessels in type 1 diabetic rats. *Br J Pharmacol.* 2016;173: 3307-3326.

Amin AH, Subbaiah TV, Abbasi KM. Berberine sulfate: antimicrobial activity, bioassay, and mode of action. *Can J Microbiol.* 1969;15: 1067-1076.

Baba SP, Barski OA, Ahmed Y, O'Toole TE, Conklin DJ, Bhatnagar A *et al.* Reductive metabolism of AGE precursors: a metabolic route for preventing AGE accumulation in cardiovascular tissue. *Diabetes.* 2009;58: 2486-2497.

Babaei-Jadidi R, Karachalias N, Ahmed N, Battah S, Thornalley PJ. Prevention of incipient diabetic nephropathy by high-dose thiamine and benfotiamine. *Diabetes.* 2003;52: 2110-2120.

Barbagallo CM, Cefalu AB, Noto D, Averna MR. Role of Nutraceuticals in Hypolipidemic Therapy. *Front Cardiovasc Med.* 2015;2: 22.

Battu SK, Repka MA, Maddineni S, Chittiboyina AG, Avery MA, Majumdar S. Physicochemical characterization of berberine chloride: a perspective in the development of a solution dosage form for oral delivery. *AAPS PharmSciTech*. 2010;11: 1466-1475.

Beisswenger BG, Delucia EM, Lapoint N, Sanford RJ, Beisswenger PJ. Ketosis leads to increased methylglyoxal production on the Atkins diet. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1043: 201-210.

Benaissa F, Mohseni-Rad H, Rahimi-Moghaddam P, Mahmoudian M. Berberine reduces the hypoxic-ischemic insult in rat pup brain. *Acta Physiol Hung*. 2009;96: 213-220.

Bierhaus A, Schiekofer S, Schwaninger M, Andrassy M, Humpert PM, Chen J *et al*. Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor nuclear factor-kappaB. *Diabetes*. 2001;50: 2792-2808.

Bodmer M, Meier C, Krahenbuhl S, Jick SS, Meier CR. Metformin, sulfonylureas, or other antidiabetes drugs and the risk of lactic acidosis or hypoglycemia: a nested case-control analysis. *Diabetes Care*. 2008;31: 2086-2091.

Boydens C, Pauwels B, Vanden Daele L, Van de Voorde J. Protective effect of resveratrol and quercetin on in vitro-induced diabetic mouse corpus cavernosum. *Cardiovasc Diabetol*. 2016;15: 46.

Brouwers O, Niessen PM, Haenen G, Miyata T, Brownlee M, Stehouwer CD *et al*. Hyperglycaemia-induced impairment of endothelium-dependent vasorelaxation in rat mesenteric arteries is mediated by intracellular methylglyoxal levels in a pathway dependent on oxidative stress. *Diabetologia*. 2010;53: 989-1000.

Brouwers O, Niessen PM, Miyata T, Ostergaard JA, Flyvbjerg A, Peutz-Kootstra CJ *et al*. Glyoxalase-1 overexpression reduces endothelial dysfunction and attenuates early renal impairment in a rat model of diabetes. *Diabetologia*. 2014;57: 224-235.

Burcelin R, Cani PD, Knauf C. Glucagon-like peptide-1 and energy homeostasis. *J Nutr*. 2007;137: 2534S-2538S.

Cai W, Ramdas M, Zhu L, Chen X, Striker GE, Vlassara H. Oral advanced glycation endproducts (AGEs) promote insulin resistance and diabetes by depleting the antioxidant defenses AGE receptor-1 and sirtuin 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109: 15888-15893.

Cai W, Uribarri J, Zhu L, Chen X, Swamy S, Zhao Z *et al.* Oral glycotoxins are a modifiable cause of dementia and the metabolic syndrome in mice and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111: 4940-4945.

Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D *et al.* Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes.* 2007;56: 1761-1772.

Cao S, Zhou Y, Xu P, Wang Y, Yan J, Bin W *et al.* Berberine metabolites exhibit triglyceride-lowering effects via activation of AMP-activated protein kinase in Hep G2 cells. *J Ethnopharmacol.* 2013;149: 576-582.

Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thevenin M, Jaudon MC *et al.* Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Biol Med.* 1996;21: 845-853.

Chan E. Displacement of bilirubin from albumin by berberine. *Biol Neonate.* 1993;63: 201-208.

Chang W, Zhang M, Li J, Meng Z, Xiao D, Wei S *et al.* Berberine attenuates ischemia-reperfusion injury via regulation of adenosine-5'-monophosphate kinase activity in both non-ischemic and ischemic areas of the rat heart. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2012a;26: 467-478.

Chang W, Zhang M, Li J, Meng Z, Wei S, Du H *et al.* Berberine improves insulin resistance in cardiomyocytes via activation of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase. *Metabolism.* 2013;62: 1159-1167.

Chang W, Zhang M, Meng Z, Yu Y, Yao F, Hatch GM *et al.* Berberine treatment prevents cardiac dysfunction and remodeling through activation of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase in type 2 diabetic rats and in palmitate-induced hypertrophic H9c2 cells. *Eur J Pharmacol.* 2015;769: 55-63.

Chang XX, Yan HM, Xu Q, Xia MF, Bian H, Zhu TF *et al.* The effects of berberine on hyperhomocysteinemia and hyperlipidemia in rats fed with a long-term high-fat diet. *Lipids Health Dis.* 2012b;11: 86.

Chen C, Yu Z, Li Y, Fichna J, Storr M. Effects of berberine in the gastrointestinal tract - a review of actions and therapeutic implications. *Am J Chin Med.* 2014a;42: 1053-1070.

Chen K, Li G, Geng F, Zhang Z, Li J, Yang M *et al.* Berberine reduces ischemia/reperfusion-induced myocardial apoptosis via activating AMPK and PI3K-Akt signaling in diabetic rats. *Apoptosis.* 2014b;19: 946-957.

Cheng F, Wang Y, Li J, Su C, Wu F, Xia WH *et al.* Berberine improves endothelial function by reducing endothelial microparticles-mediated oxidative stress in humans. *Int J Cardiol.* 2013;167: 936-942.

Cheng Z, Chen AF, Wu F, Sheng L, Zhang HK, Gu M *et al.* 8,8-Dimethyldihydroberberine with improved bioavailability and oral efficacy on obese and diabetic mouse models. *Bioorg Med Chem.* 2010;18: 5915-5924.

Chi L, Peng L, Pan N, Hu X, Zhang Y. The anti-atherogenic effects of berberine on foam cell formation are mediated through the upregulation of sirtuin 1. *Int J Mol Med.* 2014;34: 1087-1093.

Choi JS, Kim JH, Ali MY, Min BS, Kim GD, Jung HA. *Coptis chinensis* alkaloids exert anti-adipogenic activity on 3T3-L1 adipocytes by downregulating C/EBP-alpha and PPAR-gamma. *Fitoterapia.* 2014;98: 199-208.

Chu JM, Lee DK, Wong DP, Wong RN, Yung KK, Cheng CH *et al.* Ginsenosides attenuate methylglyoxal-induced impairment of insulin signaling and subsequent apoptosis in primary astrocytes. *Neuropharmacology.* 2014;85: 215-223.

Cicero AF, Derosa G, D'Angelo A, Bove M, Gaddi AV, Borghi C. Gender-specific haemodynamic and metabolic effects of a sequential training programme on overweight-obese hypertensives. *Blood Press.* 2009;18: 111-116.

Cicero AF, Tartagni E, Ertek S. Safety and tolerability of injectable lipid-lowering drugs: a review of available clinical data. *Expert Opin Drug Saf.* 2014;13: 1023-1030.

de Courten B, de Courten MP, Soldatos G, Dougherty SL, Straznicki N, Schlaich M *et al.* Diet low in advanced glycation end products increases insulin sensitivity in healthy overweight individuals: a double-blind, randomized, crossover trial. *Am J Clin Nutr.* 2016;103: 1426-1433.

Degen J, Hellwig M, Henle T. 1,2-dicarbonyl compounds in commonly consumed foods. *J Agric Food Chem*. 2012;60: 7071-7079.

Derosa G, Bonaventura A, Bianchi L, Romano D, D'Angelo A, Fogari E *et al*. Berberis aristata/Silybum marianum fixed combination on lipid profile and insulin secretion in dyslipidemic patients. *Expert Opin Biol Ther*. 2013;13: 1495-1506.

Dhar A, Dhar I, Desai KM, Wu L. Methylglyoxal scavengers attenuate endothelial dysfunction induced by methylglyoxal and high concentrations of glucose. *Br J Pharmacol*. 2010;161: 1843-1856.

Dhar I, Dhar A, Wu L, Desai KM. Methylglyoxal, a reactive glucose metabolite, increases renin angiotensin aldosterone and blood pressure in male Sprague-Dawley rats. *Am J Hypertens*. 2014;27: 308-316.

Di Pierro F, Bellone I, Rapacioli G, Putignano P. Clinical role of a fixed combination of standardized Berberis aristata and Silybum marianum extracts in diabetic and hypercholesterolemic patients intolerant to statins. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2015;8: 89-96.

Doggrell SA. Berberine--a novel approach to cholesterol lowering. *Expert Opin Investig Drugs*. 2005;14: 683-685.

Dogru M, Baysal Z, Aytekin C. Dyeing of wool fibres with natural dyes: effect of proteolytic enzymes. *Prep Biochem Biotechnol*. 2006;36: 215-221.

Dong B, Li H, Singh AB, Cao A, Liu J. Inhibition of PCSK9 transcription by berberine involves down-regulation of hepatic HNF1alpha protein expression through the ubiquitin-proteasome degradation pathway. *J Biol Chem*. 2015a;290: 4047-4058.

Dong H, Zhao Y, Zhao L, Lu F. The effects of berberine on blood lipids: a systemic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Planta Med*. 2013;79: 437-446.

Dong SF, Yasui N, Negishb H, Kishimoto A, Sun JN, Ikeda K. Increased Oxidative Stress in Cultured 3T3-L1 Cells was Attenuated by Berberine Treatment. *Nat Prod Commun*. 2015b;10: 895-897.

Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15: 1983-1992.

Eringa EC, Stehouwer CD, van Nieuw Amerongen GP, Ouwehand L, Westerhof N, Sipkema P. Vasoconstrictor effects of insulin in skeletal muscle arterioles are mediated by ERK1/2 activation in endothelium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;287: H2043-2048.

Fang L, Li X, Zhong Y, Yu J, Yu L, Dai H *et al*. Autophagy protects human brain microvascular endothelial cells against methylglyoxal-induced injuries, reproducible in a cerebral ischemic model in diabetic rats. *J Neurochem*. 2015;135: 431-440.

Fei N, Zhao L. An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice. *ISME J*. 2013;7: 880-884.

Feng P, Zhao L, Guo F, Zhang B, Fang L, Zhan G *et al*. The enhancement of cardiotoxicity that results from inhibition of CYP 3A4 activity and hERG channel by berberine in combination with statins. *Chem Biol Interact*. 2018;293: 115-123.

Fleming I, Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003;284: R1-12.

Forstermann U, Munzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*. 2006;113: 1708-1714.

Fujioka K, Shibamoto T. Determination of toxic carbonyl compounds in cigarette smoke. *Environ Toxicol*. 2006;21: 47-54.

Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288: 373-376.

Geovanini GR, Libby P. Atherosclerosis and inflammation: overview and updates. *Clin Sci (Lond)*. 2018;132: 1243-1252.

Giancarlo R, Scaturro D, Utró F. Textual data compression in computational biology: a synopsis. *Bioinformatics*. 2009;25: 1575-1586.

Gu Q, Wang B, Zhang XF, Ma YP, Liu JD, Wang XZ. Contribution of receptor for advanced glycation end products to vasculature-protecting effects of exercise training in aged rats. *Eur J Pharmacol.* 2014;741: 186-194.

Gu Y, Zhang Y, Shi X, Li X, Hong J, Chen J *et al.* Effect of traditional Chinese medicine berberine on type 2 diabetes based on comprehensive metabonomics. *Talanta.* 2010;81: 766-772.

Guan S, Wang B, Li W, Guan J, Fang X. Effects of berberine on expression of LOX-1 and SR-BI in human macrophage-derived foam cells induced by ox-LDL. *Am J Chin Med.* 2010;38: 1161-1169.

Guo Y, Chen Y, Tan ZR, Klaassen CD, Zhou HH. Repeated administration of berberine inhibits cytochromes P450 in humans. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012;68: 213-217.

Guo Z, Sun H, Zhang H, Zhang Y. Anti-hypertensive and renoprotective effects of berberine in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens.* 2015;37: 332-339.

Han J, Lin H, Huang W. Modulating gut microbiota as an anti-diabetic mechanism of berberine. *Med Sci Monit.* 2011;17: RA164-167.

Hashmi S, Al-Salam S. Acute myocardial infarction and myocardial ischemia-reperfusion injury: a comparison. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8: 8786-8796.

Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J Clin Invest.* 2013;123: 92-100.

Heber D, Yip I, Ashley JM, Elashoff DA, Elashoff RM, Go VL. Cholesterol-lowering effects of a proprietary Chinese red-yeast-rice dietary supplement. *Am J Clin Nutr.* 1999;69: 231-236.

Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M *et al.* Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res.* 2001;88: E14-22.

Hsu YY, Chen CS, Wu SN, Jong YJ, Lo YC. Berberine activates Nrf2 nuclear translocation and protects against oxidative damage via a phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent mechanism in NSC34 motor neuron-like cells. *Eur J Pharm Sci.* 2012;46: 415-425.

Hu J, Chai Y, Wang Y, Kheir MM, Li H, Yuan Z *et al.* PI3K p55gamma promoter activity enhancement is involved in the anti-apoptotic effect of berberine against cerebral ischemia-reperfusion. *Eur J Pharmacol.* 2012a;674: 132-142.

Hu Y, Ehli EA, Kittelsrud J, Ronan PJ, Munger K, Downey T *et al.* Lipid-lowering effect of berberine in human subjects and rats. *Phytomedicine.* 2012b;19: 861-867.

Huang C, Li G, Dong H, Sun S, Chen H, Luo D *et al.* Arg(9)(7)(2) insulin receptor substrate-1 inhibits endothelial nitric oxide synthase expression in human endothelial cells by upregulating microRNA-155. *Int J Mol Med.* 2015a;36: 239-248.

Huang CG, Chu ZL, Wei SJ, Jiang H, Jiao BH. Effect of berberine on arachidonic acid metabolism in rabbit platelets and endothelial cells. *Thromb Res.* 2002;106: 223-227.

Huang WM, Yan H, Jin JM, Yu C, Zhang H. Beneficial effects of berberine on hemodynamics during acute ischemic left ventricular failure in dogs. *Chin Med J (Engl).* 1992;105: 1014-1019.

Huang Z, Wang L, Meng S, Wang Y, Chen T, Wang C. Berberine reduces both MMP-9 and EMMPRIN expression through prevention of p38 pathway activation in PMA-induced macrophages. *Int J Cardiol.* 2011;146: 153-158.

Huang Z, Han Z, Ye B, Dai Z, Shan P, Lu Z *et al.* Berberine alleviates cardiac ischemia/reperfusion injury by inhibiting excessive autophagy in cardiomyocytes. *Eur J Pharmacol.* 2015b;762: 1-10.

Imenshahidi M, Hosseinzadeh H. Berberis Vulgaris and Berberine: An Update Review. *Phytother Res.* 2016;30: 1745-1764.

Janbaz KH, Gilani AH. Studies on preventive and curative effects of berberine on chemical-induced hepatotoxicity in rodents. *Fitoterapia.* 2000;71: 25-33.

Jeong HW, Hsu KC, Lee JW, Ham M, Huh JY, Shin HJ *et al.* Berberine suppresses proinflammatory responses through AMPK activation in macrophages. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009;296: E955-964.

Jia YJ, Xu RX, Sun J, Tang Y, Li JJ. Enhanced circulating PCSK9 concentration by berberine through SREBP-2 pathway in high fat diet-fed rats. *J Transl Med.* 2014;12: 103.

Jin Y, Khadka DB, Cho WJ. Pharmacological effects of berberine and its derivatives: a patent update. *Expert Opin Ther Pat.* 2016;26: 229-243.

Jo-Watanabe A, Ohse T, Nishimatsu H, Takahashi M, Ikeda Y, Wada T *et al.* Glyoxalase I reduces glycative and oxidative stress and prevents age-related endothelial dysfunction through modulation of endothelial nitric oxide synthase phosphorylation. *Aging Cell.* 2014;13: 519-528.

Kang DG, Sohn EJ, Kwon EK, Han JH, Oh H, Lee HS. Effects of berberine on angiotensin-converting enzyme and NO/cGMP system in vessels. *Vascul Pharmacol.* 2002;39: 281-286.

Kang KT. Endothelium-derived Relaxing Factors of Small Resistance Arteries in Hypertension. *Toxicol Res.* 2014;30: 141-148.

Ko FN, Chang YL, Chen CM, Teng CM. (+/-)-Govadine and (+/-)-THP, two tetrahydroprotoberberine alkaloids, as selective alpha 1-adrenoceptor antagonists in vascular smooth muscle cells. *J Pharm Pharmacol.* 1996;48: 629-634.

Ko YJ, Lee JS, Park BC, Shin HM, Kim JA. Inhibitory effects of Zoagumhwan water extract and berberine on angiotensin II-induced monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 expression and monocyte adhesion to endothelial cells. *Vascul Pharmacol.* 2007;47: 189-196.

Kong W, Wei J, Abidi P, Lin M, Inaba S, Li C *et al.* Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nat Med.* 2004;10: 1344-1351.

Kong WJ, Liu J, Jiang JD. Human low-density lipoprotein receptor gene and its regulation. *J Mol Med (Berl).* 2006;84: 29-36.

Kong WJ, Wei J, Zuo ZY, Wang YM, Song DQ, You XF *et al.* Combination of simvastatin with berberine improves the lipid-lowering efficacy. *Metabolism.* 2008;57: 1029-1037.

Kong WJ, Zhang H, Song DQ, Xue R, Zhao W, Wei J *et al.* Berberine reduces insulin resistance through protein kinase C-dependent up-regulation of insulin receptor expression. *Metabolism*. 2009;58: 109-119.

Lan J, Zhao Y, Dong F, Yan Z, Zheng W, Fan J *et al.* Meta-analysis of the effect and safety of berberine in the treatment of type 2 diabetes mellitus, hyperlipemia and hypertension. *J Ethnopharmacol*. 2015;161: 69-81.

Lao-ong T, Chatuphonprasert W, Nemoto N, Jarukamjorn K. Alteration of hepatic glutathione peroxidase and superoxide dismutase expression in streptozotocin-induced diabetic mice by berberine. *Pharm Biol*. 2012;50: 1007-1012.

Laursen JB, Somers M, Kurz S, McCann L, Warnholtz A, Freeman BA *et al.* Endothelial regulation of vasomotion in apoE-deficient mice: implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. *Circulation*. 2001;103: 1282-1288.

Lee S, Lim HJ, Park JH, Lee KS, Jang Y, Park HY. Berberine-induced LDLR up-regulation involves JNK pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;362: 853-857.

Li H, Chen W, Zhou Y, Abidi P, Sharpe O, Robinson WH *et al.* Identification of mRNA binding proteins that regulate the stability of LDL receptor mRNA through AU-rich elements. *J Lipid Res*. 2009a;50: 820-831.

Li H, Dong B, Park SW, Lee HS, Chen W, Liu J. Hepatocyte nuclear factor 1alpha plays a critical role in PCSK9 gene transcription and regulation by the natural hypocholesterolemic compound berberine. *J Biol Chem*. 2009b;284: 28885-28895.

Li R, Wu J, He Y, Hai L, Wu Y. Synthesis and in vitro evaluation of 12-(substituted aminomethyl) berberrubine derivatives as anti-diabetics. *Bioorg Med Chem Lett*. 2014;24: 1762-1765.

Li W, Maloney RE, Aw TY. High glucose, glucose fluctuation and carbonyl stress enhance brain microvascular endothelial barrier dysfunction: Implications for diabetic cerebral microvasculature. *Redox Biol*. 2015;5: 80-90.

Liu CS, Zheng YR, Zhang YF, Long XY. Research progress on berberine with a special focus on its oral bioavailability. *Fitoterapia*. 2016;109: 274-282.

Liu JC, Chan P, Chen YJ, Tomlinson B, Hong SH, Cheng JT. The antihypertensive effect of the berberine derivative 6-protoberberine in spontaneously hypertensive rats. *Pharmacology*. 1999;59: 283-289.

Liu L, Liu J, Huang Z, Yu X, Zhang X, Dou D *et al*. Berberine improves endothelial function by inhibiting endoplasmic reticulum stress in the carotid arteries of spontaneously hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;458: 796-801.

Liu LZ, Cheung SC, Lan LL, Ho SK, Xu HX, Chan JC *et al*. Berberine modulates insulin signaling transduction in insulin-resistant cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;317: 148-153.

Liu Y, Hao H, Xie H, Lv H, Liu C, Wang G. Oxidative demethylation and subsequent glucuronidation are the major metabolic pathways of berberine in rats. *J Pharm Sci*. 2009;98: 4391-4401.

Lu SS, Yu YL, Zhu HJ, Liu XD, Liu L, Liu YW *et al*. Berberine promotes glucagon-like peptide-1 (7-36) amide secretion in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Endocrinol*. 2009;200: 159-165.

Lyles GA, Chalmers J. The metabolism of aminoacetone to methylglyoxal by semicarbazide-sensitive amine oxidase in human umbilical artery. *Biochem Pharmacol*. 1992;43: 1409-1414.

Maeng HJ, Yoo HJ, Kim IW, Song IS, Chung SJ, Shim CK. P-glycoprotein-mediated transport of berberine across Caco-2 cell monolayers. *J Pharm Sci*. 2002;91: 2614-2621.

Maessen DE, Stehouwer CD, Schalkwijk CG. The role of methylglyoxal and the glyoxalase system in diabetes and other age-related diseases. *Clin Sci (Lond)*. 2015;128: 839-861.

Marin-Neto JA, Maciel BC, Secches AL, Gallo Junior L. Cardiovascular effects of berberine in patients with severe congestive heart failure. *Clin Cardiol*. 1988;11: 253-260.

Marletta MA. Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis. *Cell*. 1994;78: 927-930.

Martins SI, Van Boekel MA. Kinetic modelling of Amadori N-(1-deoxy-D-fructos-1-yl)-glycine degradation pathways. Part II--kinetic analysis. *Carbohydr Res.* 2003;338: 1665-1678.

Mayor S. NICE recommends PCSK9 inhibitors for patients not responding to statins. *BMJ.* 2016;353: i2609.

Meng S, Wang LS, Huang ZQ, Zhou Q, Sun YG, Cao JT *et al.* Berberine ameliorates inflammation in patients with acute coronary syndrome following percutaneous coronary intervention. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012;39: 406-411.

Mirhadi E, Rezaee M, Malaekheh-Nikouei B. Nano strategies for berberine delivery, a natural alkaloid of *Berberis*. *Biomed Pharmacother.* 2018;104: 465-473.

Montagnani M, Ravichandran LV, Chen H, Esposito DL, Quon MJ. Insulin receptor substrate-1 and phosphoinositide-dependent kinase-1 are required for insulin-stimulated production of nitric oxide in endothelial cells. *Mol Endocrinol.* 2002;16: 1931-1942.

Morcos M, Du X, Pfisterer F, Hutter H, Sayed AA, Thornalley P *et al.* Glyoxalase-1 prevents mitochondrial protein modification and enhances lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell.* 2008;7: 260-269.

Morrow VA, Fougelle F, Connell JM, Petrie JR, Gould GW, Salt IP. Direct activation of AMP-activated protein kinase stimulates nitric-oxide synthesis in human aortic endothelial cells. *J Biol Chem.* 2003;278: 31629-31639.

Mukohda M, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. Methylglyoxal accumulation in arterial walls causes vascular contractile dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *J Pharmacol Sci.* 2012;120: 26-35.

Mukohda M, Morita T, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. Long-term methylglyoxal treatment causes endothelial dysfunction of rat isolated mesenteric artery. *J Vet Med Sci.* 2013;75: 151-157.

Nava E, Llinas MT, Gonzalez JD, Salazar FJ. Nitric oxide synthase activity in renal cortex and medulla of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens.* 1996;9: 1236-1239.

Nemet I, Varga-Defterdarovic L, Turk Z. Methylglyoxal in food and living organisms. *Mol Nutr Food Res*. 2006;50: 1105-1117.

Nigro C, Raciti GA, Leone A, Fleming TH, Longo M, Prevezano I *et al*. Methylglyoxal impairs endothelial insulin sensitivity both in vitro and in vivo. *Diabetologia*. 2014;57: 1485-1494.

Nigro C, Leone A, Raciti GA, Longo M, Mirra P, Formisano P *et al*. Methylglyoxal-Glyoxalase 1 Balance: The Root of Vascular Damage. *Int J Mol Sci*. 2017;18.

Nykjaer A, Willnow TE. The low-density lipoprotein receptor gene family: a cellular Swiss army knife? *Trends Cell Biol*. 2002;12: 273-280.

Oba T, Tatsunami R, Sato K, Takahashi K, Hao Z, Tampo Y. Methylglyoxal has deleterious effects on thioredoxin in human aortic endothelial cells. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2012;34: 117-126.

Pan GY, Wang GJ, Liu XD, Fawcett JP, Xie YY. The involvement of P-glycoprotein in berberine absorption. *Pharmacol Toxicol*. 2002;91: 193-197.

Pang B, Yu XT, Zhou Q, Zhao TY, Wang H, Gu CJ *et al*. Effect of *Rhizoma coptidis* (Huang Lian) on Treating Diabetes Mellitus. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015: 921416.

Perez-Rubio KG, Gonzalez-Ortiz M, Martinez-Abundis E, Robles-Cervantes JA, Espinel-Bermudez MC. Effect of berberine administration on metabolic syndrome, insulin sensitivity, and insulin secretion. *Metab Syndr Relat Disord*. 2013;11: 366-369.

Peters AS, Lercher M, Fleming TH, Nawroth PP, Bischoff MS, Dihlmann S *et al*. Reduced glyoxalase 1 activity in carotid artery plaques of nondiabetic patients with increased hemoglobin A1c level. *J Vasc Surg*. 2016;64: 990-994.

Phillips SA, Thornalley PJ. The formation of methylglyoxal from triose phosphates. Investigation using a specific assay for methylglyoxal. *Eur J Biochem*. 1993;212: 101-105.

Pirillo A, Catapano AL. Berberine, a plant alkaloid with lipid- and glucose-lowering properties: From in vitro evidence to clinical studies. *Atherosclerosis*. 2015;243: 449-461.

Pirro M, Francisci D, Bianconi V, Schiaroli E, Mannarino MR, Barsotti F *et al.* NUtraceutical TRreatment for hYpercholesterolemia in HIV-infected patients: The NU-TRY(HIV) randomized cross-over trial. *Atherosclerosis*. 2019;280: 51-57.

Qi MY, Feng Y, Dai DZ, Li N, Cheng YS, Dai Y. CPU86017, a berberine derivative, attenuates cardiac failure through normalizing calcium leakage and downregulated phospholamban and exerting antioxidant activity. *Acta Pharmacol Sin*. 2010;31: 165-174.

Qian W, Lu W, Sun H, Li Z, Zhu L, Zhao R *et al.* Design, synthesis, and pharmacological evaluation of novel tetrahydroprotoberberine derivatives: selective inhibitors of dopamine D(1) receptor. *Bioorg Med Chem*. 2012;20: 4862-4871.

Qin-Wei Z, Yong-Guang LI. Berberine attenuates myocardial ischemia reperfusion injury by suppressing the activation of PI3K/AKT signaling. *Exp Ther Med*. 2016;11: 978-984.

Rabbani N, Thornalley PJ. Glyoxalase in diabetes, obesity and related disorders. *Semin Cell Dev Biol*. 2011;22: 309-317.

Rabbani N, Thornalley PJ. Methylglyoxal, glyoxalase 1 and the dicarbonyl proteome. *Amino Acids*. 2012;42: 1133-1142.

Rabbani N, Thornalley PJ. Measurement of methylglyoxal by stable isotopic dilution analysis LC-MS/MS with corroborative prediction in physiological samples. *Nat Protoc*. 2014a;9: 1969-1979.

Rabbani N, Thornalley PJ. Dicarbonyl proteome and genome damage in metabolic and vascular disease. *Biochem Soc Trans*. 2014b;42: 425-432.

Rabbani N, Xue M, Thornalley PJ. Activity, regulation, copy number and function in the glyoxalase system. *Biochem Soc Trans*. 2014;42: 419-424.

Rabbani N, Thornalley PJ. Dicarbonyl stress in cell and tissue dysfunction contributing to ageing and disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;458: 221-226.

Rabbani N, Xue M, Thornalley PJ. Dicarbonyls and glyoxalase in disease mechanisms and clinical therapeutics. *Glycoconj J*. 2016a;33: 513-525.

Rabbani N, Xue M, Thornalley PJ. Methylglyoxal-induced dicarbonyl stress in aging and disease: first steps towards glyoxalase 1-based treatments. *Clin Sci (Lond)*. 2016b;130: 1677-1696.

Riboulet-Chavey A, Pierron A, Durand I, Murdaca J, Giudicelli J, Van Obberghen E. Methylglyoxal impairs the insulin signaling pathways independently of the formation of intracellular reactive oxygen species. *Diabetes*. 2006;55: 1289-1299.

Rodrigues L, Matafome P, Crisostomo J, Santos-Silva D, Sena C, Pereira P *et al*. Advanced glycation end products and diabetic nephropathy: a comparative study using diabetic and normal rats with methylglyoxal-induced glycation. *J Physiol Biochem*. 2014;70: 173-184.

Roja G, Bhangale AS, Juvekar AR, Eapen S, D'Souza SF. Enhanced production of the polysaccharide arabinogalactan using immobilized cultures of *Tinospora cordifolia* by elicitation and in situ adsorption. *Biotechnol Prog*. 2005;21: 1688-1691.

Ruscica M, Gomaraschi M, Mombelli G, Macchi C, Bosisio R, Pazzucconi F *et al*. Nutraceutical approach to moderate cardiometabolic risk: results of a randomized, double-blind and crossover study with Armolipid Plus. *J Clin Lipidol*. 2014;8: 61-68.

Sabir M, Bhide NK. Study of some pharmacological actions of berberine. *Indian J Physiol Pharmacol*. 1971;15: 111-132.

Saklayen MG. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr Hypertens Rep*. 2018;20: 12.

Schalkwijk CG. Vascular AGE-ing by methylglyoxal: the past, the present and the future. *Diabetologia*. 2015;58: 1715-1719.

Seagroves TN, Ryan HE, Lu H, Wouters BG, Knapp M, Thibault P *et al*. Transcription factor HIF-1 is a necessary mediator of the pasteur effect in mammalian cells. *Mol Cell Biol*. 2001;21: 3436-3444.

Sena CM, Matafome P, Crisostomo J, Rodrigues L, Fernandes R, Pereira P *et al*. Methylglyoxal promotes oxidative stress and endothelial dysfunction. *Pharmacol Res*. 2012;65: 497-506.

Shamsaldeen YA, Mackenzie LS, Lione LA, Benham CD. Methylglyoxal, A Metabolite Increased in Diabetes is Associated with Insulin Resistance, Vascular Dysfunction and Neuropathies. *Curr Drug Metab*. 2016;17: 359-367.

Shan YQ, Ren G, Wang YX, Pang J, Zhao ZY, Yao J *et al*. Berberine analogue IMB-Y53 improves glucose-lowering efficacy by averting cellular efflux especially P-glycoprotein efflux. *Metabolism*. 2013;62: 446-456.

Simoies Pires EN, Frozza RL, Hoppe JB, Menezes Bde M, Salbego CG. Berberine was neuroprotective against an in vitro model of brain ischemia: survival and apoptosis pathways involved. *Brain Res*. 2014;1557: 26-33.

Sousa Silva M, Gomes RA, Ferreira AE, Ponces Freire A, Cordeiro C. The glyoxalase pathway: the first hundred years... and beyond. *Biochem J*. 2013;453: 1-15.

Su Y, Qadri SM, Hossain M, Wu L, Liu L. Uncoupling of eNOS contributes to redox-sensitive leukocyte recruitment and microvascular leakage elicited by methylglyoxal. *Biochem Pharmacol*. 2013;86: 1762-1774.

Sullivan JC, Pollock DM, Pollock JS. Altered nitric oxide synthase 3 distribution in mesenteric arteries of hypertensive rats. *Hypertension*. 2002;39: 597-602.

Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation*. 2003;108: 1917-1923.

Tan HL, Chan KG, Pusparajah P, Duangjai A, Saokaew S, Mehmood Khan T *et al*. *Rhizoma Coptidis*: A Potential Cardiovascular Protective Agent. *Front Pharmacol*. 2016;7: 362.

Tan XS, Ma JY, Feng R, Ma C, Chen WJ, Sun YP *et al*. Tissue distribution of berberine and its metabolites after oral administration in rats. *PLoS One*. 2013;8: e77969.

Thornalley PJ. Modification of the glyoxalase system in human red blood cells by glucose in vitro. *Biochem J*. 1988;254: 751-755.

Thornalley PJ. The glyoxalase system in health and disease. *Mol Aspects Med.* 1993;14: 287-371.

Thornalley PJ, Langborg A, Minhas HS. Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose. *Biochem J.* 1999;344 Pt 1: 109-116.

Toth AE, Walter FR, Bocsik A, Santha P, Veszeka S, Nagy L *et al.* Edaravone protects against methylglyoxal-induced barrier damage in human brain endothelial cells. *PLoS One.* 2014;9: e100152.

Trimarco B, Benvenuti C, Rozza F, Cimmino CS, Giudice R, Crispo S. Clinical evidence of efficacy of red yeast rice and berberine in a large controlled study versus diet. *Med J Nutrition Metab.* 2011;4: 133-139.

Turkseven S, Ertuna E, Yetik-Anacak G, Yasa M. Methylglyoxal causes endothelial dysfunction: the role of endothelial nitric oxide synthase and AMP-activated protein kinase alpha. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2014;25: 109-115.

Turner N, Li JY, Gosby A, To SW, Cheng Z, Miyoshi H *et al.* Berberine and its more biologically available derivative, dihydroberberine, inhibit mitochondrial respiratory complex I: a mechanism for the action of berberine to activate AMP-activated protein kinase and improve insulin action. *Diabetes.* 2008;57: 1414-1418.

Ueda T, Shikano M, Kamiya T, Joh T, Ugawa S. The TRPV4 channel is a novel regulator of intracellular Ca<sup>2+</sup> in human esophageal epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2011;301: G138-147.

Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation.* 2002;105: 546-549.

Wang C, Li J, Lv X, Zhang M, Song Y, Chen L *et al.* Ameliorative effect of berberine on endothelial dysfunction in diabetic rats induced by high-fat diet and streptozotocin. *Eur J Pharmacol.* 2009a;620: 131-137.

Wang J, Guo T, Peng QS, Yue SW, Wang SX. Berberine via suppression of transient receptor potential vanilloid 4 channel improves vascular stiffness in mice. *J Cell Mol Med.* 2015a;19: 2607-2616.

Wang JM, Yang Z, Xu MG, Chen L, Wang Y, Su C *et al.* Berberine-induced decline in circulating CD31+/CD42- microparticles is associated with improvement of endothelial function in humans. *Eur J Pharmacol.* 2009b;614: 77-83.

Wang JR, Tanaka T, Zhang H, Kouno I, Jiang ZH. Formation and conformation of baicalin-berberine and wogonoside-berberine complexes. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2012a;60: 706-711.

Wang K, Feng X, Chai L, Cao S, Qiu F. The metabolism of berberine and its contribution to the pharmacological effects. *Drug Metab Rev.* 2017;49: 139-157.

Wang LH, Li XL, Li Q, Fu Y, Yu HJ, Sun YQ *et al.* Berberine alleviates ischemic arrhythmias via recovering depressed I(to) and I(Ca) currents in diabetic rats. *Phytomedicine.* 2012b;19: 206-210.

Wang Q, Zhang M, Liang B, Shirwany N, Zhu Y, Zou MH. Activation of AMP-activated protein kinase is required for berberine-induced reduction of atherosclerosis in mice: the role of uncoupling protein 2. *PLoS One.* 2011;6: e25436.

Wang S, He B, Hang W, Wu N, Xia L, Wang X *et al.* Berberine Alleviates Tau Hyperphosphorylation and Axonopathy-Associated with Diabetic Encephalopathy via Restoring PI3K/Akt/GSK3beta Pathway. *J Alzheimers Dis.* 2018;65: 1385-1400.

Wang Y, Huang Y, Lam KS, Li Y, Wong WT, Ye H *et al.* Berberine prevents hyperglycemia-induced endothelial injury and enhances vasodilatation via adenosine monophosphate-activated protein kinase and endothelial nitric oxide synthase. *Cardiovasc Res.* 2009c;82: 484-492.

Wang Y, Liu J, Ma A, Chen Y. Cardioprotective effect of berberine against myocardial ischemia/reperfusion injury via attenuating mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Int J Clin Exp Med.* 2015b;8: 14513-14519.

Wang YX, Zheng YM, Zhou XB. Inhibitory effects of berberine on ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in cardiac myocytes. *Eur J Pharmacol.* 1996;316: 307-315.

Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15: 551-561.

Wu X, Li Q, Xin H, Yu A, Zhong M. Effects of berberine on the blood concentration of cyclosporin A in renal transplanted recipients: clinical and pharmacokinetic study. *Eur J Clin Pharmacol.* 2005;61: 567-572.

Wu YH, Chuang SY, Hong WC, Lai YJ, Chang GJ, Pang JH. Berberine reduces leukocyte adhesion to LPS-stimulated endothelial cells and VCAM-1 expression both in vivo and in vitro. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2012;25: 741-750.

Xiao D, Liu Z, Zhang S, Zhou M, He F, Zou M *et al.* Berberine Derivatives with Different Pharmacological Activities via Structural Modifications. *Mini Rev Med Chem.* 2018;18: 1424-1441.

Xiao M, Men LN, Xu MG, Wang GB, Lv HT, Liu C. Berberine protects endothelial progenitor cell from damage of TNF-alpha via the PI3K/AKT/eNOS signaling pathway. *Eur J Pharmacol.* 2014;743: 11-16.

Xin HW, Wu XC, Li Q, Yu AR, Zhong MY, Liu YY. The effects of berberine on the pharmacokinetics of cyclosporin A in healthy volunteers. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2006;28: 25-29.

Xu MG, Wang JM, Chen L, Wang Y, Yang Z, Tao J. Berberine-induced mobilization of circulating endothelial progenitor cells improves human small artery elasticity. *J Hum Hypertens.* 2008;22: 389-393.

Xue M, Rabbani N, Momiji H, Imbasi P, Anwar MM, Kitteringham N *et al.* Transcriptional control of glyoxalase 1 by Nrf2 provides a stress-responsive defence against dicarbonyl glycation. *Biochem J.* 2012;443: 213-222.

Xue M, Weickert MO, Qureshi S, Kandala NB, Anwar A, Waldron M *et al.* Improved Glycemic Control and Vascular Function in Overweight and Obese Subjects by Glyoxalase 1 Inducer Formulation. *Diabetes.* 2016;65: 2282-2294.

Yin J, Gao Z, Liu D, Liu Z, Ye J. Berberine improves glucose metabolism through induction of glycolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008a;294: E148-156.

Yin J, Xing H, Ye J. Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2008b;57: 712-717.

Zeng X, Zeng X. Relationship between the clinical effects of berberine on severe congestive heart failure and its concentration in plasma studied by HPLC. *Biomed Chromatogr.* 1999;13: 442-444.

Zeng XH, Zeng XJ, Li YY. Efficacy and safety of berberine for congestive heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 2003;92: 173-176.

Zhang H, Wei J, Xue R, Wu JD, Zhao W, Wang ZZ *et al.* Berberine lowers blood glucose in type 2 diabetes mellitus patients through increasing insulin receptor expression. *Metabolism.* 2010;59: 285-292.

Zhang H, Li H, Xi HS, Li S. HIF1alpha is required for survival maintenance of chronic myeloid leukemia stem cells. *Blood.* 2012a;119: 2595-2607.

Zhang H, Wang X, Wang T, Chen K, Wang H, Jia Q *et al.* Enhancement of Berberine Hypoglycemic Activity by Oligomeric Proanthocyanidins. *Molecules.* 2018;23.

Zhang M, Wang CM, Li J, Meng ZJ, Wei SN, Li J *et al.* Berberine protects against palmitate-induced endothelial dysfunction: involvements of upregulation of AMPK and eNOS and downregulation of NOX4. *Mediators Inflamm.* 2013a;2013: 260464.

Zhang MF, Shen YQ. [Antidiarrheal and anti-inflammatory effects of berberine]. *Zhongguo Yao Li Xue Bao.* 1989;10: 174-176.

Zhang Q, Xiao X, Li M, Li W, Yu M, Zhang H *et al.* Berberine moderates glucose metabolism through the GnRH-GLP-1 and MAPK pathways in the intestine. *BMC Complement Altern Med.* 2014;14: 188.

Zhang W, Xu YC, Guo FJ, Meng Y, Li ML. Anti-diabetic effects of cinnamaldehyde and berberine and their impacts on retinol-binding protein 4 expression in rats with type 2 diabetes mellitus. *Chin Med J (Engl).* 2008a;121: 2124-2128.

Zhang X, Zhang X, Wang C, Li Y, Dong L, Cui L *et al.* Neuroprotection of early and short-time applying berberine in the acute phase of cerebral ischemia: up-regulated pAkt, pGSK and pCREB, down-regulated NF-kappaB expression, ameliorated BBB permeability. *Brain Res.* 2012b;1459: 61-70.

Zhang X, Zhao Y, Zhang M, Pang X, Xu J, Kang C *et al.* Structural changes of gut microbiota during berberine-mediated prevention of obesity and insulin resistance in high-fat diet-fed rats. PLoS One. 2012c;7: e42529.

Zhang X, Zhao Y, Xu J, Xue Z, Zhang M, Pang X *et al.* Modulation of gut microbiota by berberine and metformin during the treatment of high-fat diet-induced obesity in rats. Sci Rep. 2015;5: 14405.

Zhang Y, Li X, Zou D, Liu W, Yang J, Zhu N *et al.* Treatment of type 2 diabetes and dyslipidemia with the natural plant alkaloid berberine. J Clin Endocrinol Metab. 2008b;93: 2559-2565.

Zhang Y, Cui YL, Gao LN, Jiang HL. Effects of beta-cyclodextrin on the intestinal absorption of berberine hydrochloride, a P-glycoprotein substrate. Int J Biol Macromol. 2013b;59: 363-371.

Zhao GL, Yu LM, Gao WL, Duan WX, Jiang B, Liu XD *et al.* Berberine protects rat heart from ischemia/reperfusion injury via activating JAK2/STAT3 signaling and attenuating endoplasmic reticulum stress. Acta Pharmacol Sin. 2016;37: 354-367.

Zhi D, Feng PF, Sun JL, Guo F, Zhang R, Zhao X *et al.* The enhancement of cardiac toxicity by concomitant administration of Berberine and macrolides. Eur J Pharm Sci. 2015;76: 149-155.

Zhou L, Yang Y, Wang X, Liu S, Shang W, Yuan G *et al.* Berberine stimulates glucose transport through a mechanism distinct from insulin. Metabolism. 2007;56: 405-412.

Zhou XQ, Zeng XN, Kong H, Sun XL. Neuroprotective effects of berberine on stroke models in vitro and in vivo. Neurosci Lett. 2008;447: 31-36.

Zhou Y, Cao S, Wang Y, Xu P, Yan J, Bin W *et al.* Berberine metabolites could induce low density lipoprotein receptor up-regulation to exert lipid-lowering effects in human hepatoma cells. Fitoterapia. 2014;92: 230-237.

Zhu L, Zhang D, Zhu H, Zhu J, Weng S, Dong L *et al.* Berberine treatment increases Akkermansia in the gut and improves high-fat diet-induced atherosclerosis in Apoe(-/-) mice. Atherosclerosis. 2018a;268: 117-126.

Zhu X, Yang J, Zhu W, Yin X, Yang B, Wei Y *et al.* Combination of Berberine with Resveratrol Improves the Lipid-Lowering Efficacy. *Int J Mol Sci.* 2018b;19.

Zimetti F, Adorni MP, Ronda N, Gatti R, Bernini F, Favari E. The natural compound berberine positively affects macrophage functions involved in atherogenesis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2015;25: 195-201.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

|            |                 |        |      |
|------------|-----------------|--------|------|
| Adı Soyadı | Ayşe Barutçugil | Uyruğu | T.C. |
|------------|-----------------|--------|------|

### Eğitim Bilgileri

| Mezun olduğu kurum |                                          | Mezuniyet yılı |
|--------------------|------------------------------------------|----------------|
| Lise               | Erzurum Fen Lisesi                       | 2003           |
| Lisans             | Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi | 2007           |
| Yüksek Lisans      | Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi       | 2016           |
| Doktora            |                                          |                |

### İş Deneyimi

| Görevi              | Kurum                                                              | Süre (yıl-yıl) |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------|----------------|
| Şube Müdürü         | Elazığ İl Sağlık Müdürlüğü                                         | 2007-2008      |
| Mesul Müdür         | Çağlayan Eczanesi/Erzurum                                          | 2008-2011      |
| Araştırma Görevlisi | Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı | 2013-halen     |

| Yabancı Dilleri | Sınav türü | Puanı |
|-----------------|------------|-------|
| İngilizce       | YDS 2015   | 71,25 |

### Proje Deneyimi

| Proje Adı     | Destekleyen kurum                                              | Süre (Yıl-Yıl) |
|---------------|----------------------------------------------------------------|----------------|
| TYL-2014-119  | Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi | 2014-2016      |
| TDK-2019-4922 | Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi | 2019-halen     |