

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

**UZUN SÜRE RESVERATROL İLE BESLENMİŞ SIÇANLARIN
KARACİĞER, AKCİĞER, BÖBREK VE KALP DOKULARINDA
RESVERATROL MİKTARININ BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz.Fatma Esra Katırcıoğlu

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fatma Akar

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
02/2006/11 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Mart 2007

I. GİRİŞ

Günümüzde insan vücudu, teknolojinin de gelişmesiyle düzenli olarak çevresel kirleticiler egzoz, radyasyon, sigara dumanı ve pek çok kimyasala maruz kalmakta ve bunun sonucu olarak daha fazla oranda oksidatif stresle başa çıkmak zorundadır. Bir de buna, dengesiz beslenmenin eklenmesiyle insan sağlığını tehdit eden ve yaşam kalitesini düşüren kalp-damar sistemi ve diyabet gibi kronik metabolik hastalıklarda ve çeşitli kanser türlerinde artış söz konusu olmaktadır.

Özellikle fast-food kültürünün hakim olduğu ülkelerde hastalık ve ölüm oranı obeziteye bağlı olarak patlama noktasına gelmiştir. Bundan dolayı günlük alınması gereken uygun diyet ve doğal sağlıklı beslenme şekilleri gündemi meşgul eden en önemli konulardan bazıları olmuştur. Bu noktada Fransızların yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıkları dikkati çekmektedir. Epidemiyolojik çalışmalara konu olan bu durumda , özellikle Güney Fransa'da kırmızı et oranı yüksek, yağlı bir diyetle beslenen halkın günlük düzenli şarap tüketimi nedeniyle koroner kalp rahatsızlıklarına yakalanma insidansı düşüktür. Bu durum Fransız Paradoksu olarak adlandırılmıştır.

Şarap, içinde yüksek oranda polifenollerin bulunduğu bir içecektir. Bu polifenollerden resveratrol, güçlü antioksidan, vazodilatör ve

antiagregan özellikleri nedeniyle Fransız paradoksunda en fazla rol oynayan bileşik olarak kabul edilmektedir.

İn vivo ve in vitro olarak yapılan bir çok çalışmada, resveratrolün bu etkiler yanında antikanserojen, antienflamatuar özelliklere sahip olduğu ve insulin direncini kırdığı, vasküler endotel hücre reaktivitesini arttırdığı da rapor edilmiştir.

Resveratrolün farmakokinetiği hakkında henüz yeterli çalışma bulunmamaktadır. Onun absorpsiyonu , dağılımı, metabolizması, biyoyararlanımı ile ilgili bilinmesi gereken pek çok konu bulunmaktadır.

Fransız paradoksuna dikkatli bakıldığında, uzun süre ve düzenli olarak şarap içiminin yaşam kalitesini arttırdığı ve kronik hastalıklara yakalanma riskini azalttığı görülmektedir.

Bu çalışmada uzun süre resveratrol (50mg/L, 21 gün) içirilen erkek ve dişi sıçanların plazma, karaciğer, akciğer, böbrek ve kalp örneklerinde resveratrol düzeyi incelenmiştir. Böylece orta derecede kırmızı şarap içimiyle biyolojik olarak etkin konsantrasyonlara ulaşmadığı bildirilen resveratrolün, bazı organlarda birikip birikmediği araştırılmış olacaktır. Ayrıca cinsiyet farklılığının doku resveratrol düzeyini etkileyip etkilemediği de belirlenmiş olacaktır.

II. GENEL BİLGİLER

II.A. Geleneksel Akdeniz Diyeti

İnsanların tükettiği yiyecek ve içecekler sinerjik ve antagonist bir biçimde sağlığı etkileyebilmektedir.¹ Günlük diyetleri işlenmemiş tahıl , meyveler , sebzeler , patates , baklagiller, zeytinyağı, balık , kırmızı et , kümes hayvanları, tam yağlı süt ürünleri ve şaraptan oluşan bazı Akdeniz ülkelerindeki beslenme tarzı, Akdeniz diyeti olarak tanımlanır.^{1,2,3} Meyve ve sebze tüketiminin yüksek olduğu bu diyetle bol miktarda antioksidan alınımı söz konusudur.³

Uzun zamandır Akdeniz diyeti ile kardiyovasküler hastalıklar ve kansere yakalanma riski arasında ters bir korelasyon bulunduğu bilinmektedir.¹ Bazı Asya Ülkelerinde son zamanlarda hızla artan koroner arter hastalıklarındaki risk faktörleri Akdeniz tarzı diyetle tedavi edilmeye çalışılmıştır. Bunun için anjina pectoris, miyokard enfarktüsü , koroner arter hastalığı riski taşıyan 1000 kişi üzerinde çalışma yapılmıştır. Rastgele seçilen 499 hasta meyve, sebze, tahıl, ceviz, bademle zenginleştirilmiş diyetle beslenmiştir. Bu insanların kalp hastalıklarına yakalanma riskinde ve miyokard enfarktüsü geçirme oranında anlamlı bir düşüş saptanmıştır.⁴

Akdeniz diyetinin önemli bir bileşeni olan şarabın koroner kalp hastalıklarının azalmasında etkili olduğu kabul edilmektedir.^{4,5} Akdeniz ve Batı diyetlerinin karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada, trombosit agregasyonu üzerine bu diyetlerin etkisi incelenmiştir. Her iki diyetle de alkol alınımı, tüm enerjinin % 6'sını oluşturmaktadır. Şarap olarak alınan alkol, tüm alkolün batı diyetinde %88'i, Akdeniz diyetinde ise %94'nü oluşturduğu saptanmıştır. İki diyet şeklinin trombosit agregasyonu üzerinde bir fark yaratmadığı gözlemlenmemiştir.⁵ Bu bulgu daha önce Renauld ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuçları ile uyum göstermektedir. Renauld ve arkadaşları doymuş yağ oranı yüksek Batı diyetiyle beslenen erkeklerde, alkol alınımının trombosit agregasyonunda düşüş oluşturduğunu gözlemlemişlerdir.⁵ Sonuç olarak doymamış yağ, bol miktarda sebze, meyve ve ortalama miktardaki şarap tüketiminin olduğu Akdeniz diyeti ile beslenen popülasyonlarda, kalp-damar hastalıklarına yakalanma riskinin azaldığı görülmektedir.^{1,2,4,5} İlginç olarak, bol miktarda doymuş yağ ile beslenip kırmızı şarap tüketen toplumlarda da bu risk düşük bulunmuştur.⁵

Başka bir çalışmada ise bol sebze, meyve ve şarap tüketiminin olduğu Akdeniz diyetinde antioksidan bileşiklerden biri olan polifenolik kateşin miktarı ölçülmüştür. Şarabın diyetteki en önemli kateşin kaynağı olduğu bulunmuştur. Bunu sebze ve meyve tüketimi izlemiştir.⁶

II.B. Fransız Paradoksu

Şarabın bilimsel tarihine bakıldığında kökeninin M.Ö 5400-5000 yıllarına kadar uzandığı görülmektedir. Bu şarap üzüm, terebentin, ağaç reçinesinden yapılmış olup, bir nevi antibiyotik olarak kullanılmıştır.⁷

Şu ana kadar yapılan çalışmalarda şarap içinde 500'den fazla bileşen olduğu bulunmuştur. Antioksidan özelliği ile tanınan polifenolik bileşikler, özellikle kalp damar hastalıkları üzerindeki tedavi edici etkileri nedeniyle dikkat çekmektedirler.^{8,9,10}

Güney Fransa'da halkın bol miktarda kırmızı et tüketmesi, yağlı bir diyetle beslenmesine rağmen kardiyovasküler rahatsızlıklardan kaynaklanan ölüm oranının düşük olmasının en önemli nedeninin, düzenli şarap tüketimi olduğu ileri sürülmektedir. Bu durum "Fransız Paradoksu" olarak adlandırılmıştır.^{11,12}

İngiliz diyeti ile Fransız diyetinin karşılaştırıldığında, hemen hemen aynı olan yeme alışkanlıkları arasında şarap göze çarpmaktadır. Diyete şarap eklenmesiyle trombosit agregasyonunda belirgin bir inhibisyon ortaya çıkmaktadır.¹² Kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili otuz tane risk faktörü bulunduğu kabul edilmektedir. Bunlardan yirmi yedi tanesinin, hiç alkol kullanmayanlarda belirgin bir şekilde daha yaygın

olduğu görülmüştür. Tersine, düzenli ve çok fazla alkol tüketimi de ani kalp krizleri, hipertansiyon, ventriküler ve atriyal fibrilasyon oranlarında artışa neden olmaktadır. ⁷Ortalama düzeyde şarap tüketen insanlarda ise, koroner kalp rahatsızlıklarına yakalanma ve kalp krizinden ölme riskinin , hiç içmeyenlere göre anlamlı bir şekilde az olduğu rapor edilmiştir. ¹³

Aşırı alkol tüketiminin, bağımlılık yapması ve kötüye kullanma tehlikesinden dolayı, in vitro ve ex vivo deneylerde gösterilen biyolojik aktivitelerin in vivo deneylerle uyumlu olmadığı görülmüştür. Özellikle, şarabın en önemli komponenti olan trans-resveratrolle yapılan çalışmalarda bu dikkat çekici olmaktadır. İn vitro deneylerde, trombosit agregasyonu ve tromboksan sentezinde belirgin bir şekilde inhibisyon görülürken, in vivo deneylerde 4 hafta trans-resveratrol verilmesiyle bile bu fonksiyonlarda bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Aynı durum trans-resveratrolün estrojenik aktivitesi için de geçerlidir. ¹⁴

Şarap ve biranın, kardiyovasküler hastalıklarla ilgili risk kıyaslaması yapıldığında, orta derecede ve düzenli şarap alınınının risk faktörlerini %32, biranın ise %22 azalttığı görülmüştür.¹⁵ Özellikle kırmızı şarabın, beyaz şarap ve etanole karşı üstün olduğu belirtilmiştir. Kırmızı şarap, beyaz şarap ve etanolün oral ve iv olarak verilmelerinden sonra kanama zamanı, platelet miktarı ve tromboz ağırlığı ölçülmüştür. Alkollü ve alkolsüz kırmızı şarabın kanama zamanını uzattığı, platelet sayısında görünür bir azalmaya sebep olduğu, trombozis ağırlığında ise %58

oranında azalma yaptığı saptanmıştır.¹⁶ Kırmızı şarabın bu üstünlüğü, içerdiği polifenollerle açıklanabilir çünkü bu polifenollerin konsantrasyonları beyaz şarapta daha düşüktür. Bu polifenoller meyvelerin kabuğu ve çekirdeklerinde bulunur. Kırmızı Şarap yapılırken alkolle fermentasyon sırasında bu polifenoller şaraba geçer.¹⁷ Beyaz şarap yapımında ise fermentasyon öncesi üzüm kabuk ve çekirdeklerinden arındırıldığı için polifenol içeriği azalmaktadır.¹⁸

II.B.1. Resveratrol

Resveratrol 3,4',5 trihidroksistilben yapısında olup, trans ve cis izomeri olmak üzere iki izomeri vardır. Trans izomerlerinin biyolojik aktiviteleri, cis izomerlerinden daha yüksektir.¹⁹ Resveratrolün kimyasal yapısı sentetik estrogen, dietilstilbestrole benzer. Ayrıca, glukozit ve polimerleri içeren bir moleküler ailesinde ana komponenti olup , asma , yerbıstığı , dutun içinde bulunduğu gösterilmiştir.¹⁸

İlk olarak *Polygonum Cuspidatum* bitkisinin köklerinde tespit edilmiştir .Resveratrol, bitkiler tarafından patojenik durumlardan korunmak amaçlı yaralanma ve fungal saldırı sonucu oluşmaktadır. Ayrıca, UV ışığı verilmesiyle sentezi indüklenmektedir. Daha sonrada, *Vitis-Vinifera* ve şaraplarda tespit edilmiştir .^{17,20,21,22} *Vitis-Vinifera*'da Vst 1 geni tarafından sentezlendiği gösterilmiştir. Bu gen bombardımanıya buğday , arpa gibi

yabancı bitkilerde de bir fitoaleksinin olan resveratrol sentezlenebildiği gösterilmiştir.²³

Türkiyede bulunan kırmızı ve beyaz şaraplar üzerine yapılan bir tez çalışmasında, Cabernet Sauvignon ve Öküzgözü üzüm türlerinden elde edilen şaraplarda resveratrol miktarı yüksek bulunmuştur. Pamukkale Öküzgözü Boğazkere 2003 (0,244mg/L), Doluca KAV Boğazkere Öküzgözü 2002 (0,237mg/L), Pamukkale Anfora Cabernet Sauvignon 2003(0,244mg/L) resveratrol içeriği en yüksek şaraplar olarak belirlenmiştir. Beyaz şaraplarda ise, üzüm fermantasyondan önce kabuk ve çekirdeklerinden ayrıldığı için resveratrol miktarı 0,003mg/L altında bulunmuştur .¹⁸

Resveratrol içeriği bakımından, çeşitli ülkelerden 10 değişik şarap, Türk şarapları ile karşılaştırıldığında, Türk şaraplarının çok gerilerde kaldığı görülmektedir. Dünya ülkelerinde, maksimum miktarda resveratrol içeren şarap 4,97 mg/L konsantrasyon oranı ile Brezilya şarabı olmuştur .¹⁸

II.B.1.1 Resveratrolun Biyosentezi

Resveratrol biyosentezi fenilalanininden başlar. Fenilalaninin deamilasyonu sonucu sinnamik asit oluşur. Sinnamik asit , 4-kumarik

asitle yükseltgenir, 4-kumaril KO-A ile ester yapısına dönüşür . Stilben sentaz enzimiyle resveratrol oluşur.²⁴

II.B.1.2 Resveratrolun ve Diğer Fenolik Bileşiklerin Analiz Şartları

Yapılan çeşitli testlerde, analizden önce şarapta bulunan 6 fenolik asit, 5 flavonoit, trans-resveratrol ve tirosol üzerinde sıcaklık, pH' nın yanı sıra, çeşitli antioksidanlar ve antikoagülanların etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak, plazma örneklerinin -20 °C altında saklanması ve antioksidan olarak da %1 askorbik asit +10µl/ml o-fosforik asitin ilave edilmesi gerektiği önerilmiştir. Antikoagülan olan heparin veya EDTA'nın polifenolik bileşenlerin sabitliği üzerinde belirgin bir rol oynamadığı görülmüştür. Katı faz ekstraksiyonunda da, metanol yerine etanol kullanılması önerilmiştir.²⁵

II.B.1.3 Resveratrolun Ölçüm Teknikleri

Resveratrolun insan ve hayvan plazmaları üzerindeki kantitatif ölçüm çalışmaları yeterince yapılmamıştır. Resveratrolün hem oral yolla , hem de intravenöz yolla veriminden sonra, plazmada kısa

sürede düşük bir pik yaptığı ve hemen bazal düzeye indiği görülmüştür.^{17,20,26} Bu nedenle duyarlı ölçüm yapan, deteksiyon limiti düşük, hızlı sonuç veren bir yönteme gereksinim bulunmaktadır. Resveratrol ölçümünde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar; gaz kromatografisi , kütle spektrofotometrisi , kapiller elektroforezis ve HPLC olarak sıralanabilir .²⁷ Kullanılan bu yöntemlerden gaz kromatografisinin dezavantajı, uçuculuğa katkıda bulunmak amacıyla, resveratrolun bistrifluoroasetamit ile türevlendirilmesine gerek duyulmasıdır.^{25,26}

Kromatografi yöntemlerinde ön çalışma olan Ekstraksiyon yönteminin dezavantajı ise, zaman tüketici olması ve trans resveratrolun cis formuna dönüşmesine neden olmasıdır . Kapiller elektroforez metodunun dezavantajı ise, ölçülebilir resveratrol miktarı olarak 0,2-10µM gibi oldukça yüksek konsantrasyonlar gerektirmesidir. Bu duyarlılık, örnekteki konsantrasyonun ölçümü için kapiller elektroforezin limit faktörü olabilir . Çünkü, cihazın enjeksiyon hacmi oldukça küçük ve kapilleri dar çaplıdır . Katı faz ekstraksiyonunda ise, her zaman temiz örnek kullanmak gerekir. Bu da, örnekteki resveratrol saptanabilirliğinin 10 kat kadar düşmesine neden olmaktadır.Ayrıca, fazladan bir zaman tüketimi ve maliyet ortaya çıkmasını doğurmaktadır. Bu sonuçlardan sonra basit, hızlı, güvenilir bir araç olan HPLC yönteminin resveratrolun kantitatif hesaplanmasında kullanılması yaygınlaşmıştır. UV dedektör kullanımlı HPLC ile oral resveratrol veriminden sonra, plazma resveratrol düzeyinin kantitatif ölçümleri yapılabilmektedir.^{27,28}

II.B.1.4 Resveratrolun ve Şaraptaki Diğer Polifenolik Bileşiklerin Biyolojik Aktiviteleri

İnsanların, günlük olarak diyetinde tükettiği tüm yiyecek ve içeceklerin sağlık üzerinde olumlu ya da olumsuz çeşitli etkileri bulunmaktadır. Özellikle Akdeniz diyeti ile beslenen toplumlarda, yaşam kalitesini düşüren ve hatta ölüme sebep olan hastalık risk faktörlerinin azaldığı görülmüştür. ^{1,2,4,5,6}

Diğer bir epidemiyolojik çalışmada , Güney Fransa'da yüksek miktarda kırmızı et ve doymuş yağ tüketen halkın , kalp damar hastalıklarına yakalanma insidansının , diğer batılı ülkelere nazaran düşük olduğu görülmüştür. ^{11,12}

Akdeniz diyeti ve Güney Fransa'daki halkın diyetleri incelendiğinde, göze çarpan öge kırmızı şarabın günlük ortalama bir değerde düzenli olarak tüketilmesidir. ^{1,2,5,6,11,12}

Kırmızı şarapta bulunan fenolik bileşkelerin antioksidan özellik taşıdığı saptanmıştır..^{8,24,29} Üzüm çekirdeği polifenollerinin serbest radikal süpürücü etkisi, yüksek dozda glikoz yüklemesi yapılmış LLC-PK1 hücreleri üzerinde yapılan çalışmada gösterilmiştir. Yüksek dozda glikoz verilmesi [30mM] serbest oksijen radikallerinin oluşumunu kontrole göre %194 artırmıştır. Özellikle oligomer yapısındaki üzüm çekirdeği polifenolü

ile beraber glukoz verildiğinde ise, ekstraselülerde reaktif oksijen türlerinin oluşumunun %106 oranında düştüğü bulunmuştur.²⁹

Resveratrol (33mM), UV irridasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksitten kaynaklanan hidroksil radikali ve sitokom C oksidasyon oranını yarıya düşürmektedir.³⁰

Resveratrol, LDL oksidasyonu, antioksidan özelliği ile inhibe ederek atherosklerotik hastalıklara karşı koruyucu bir etkinlik taşımaktadır. Yakınlarda yapılan bir çalışmada, lipit ve apoproteinlerin oluşturduğu oksidatif zararların, resveratrolle azaldığı gösterilmiştir. Bunun, LDL nin CHO-K1 hücrelerindeki reseptörlerine bağlanması sonucu, oksidize LDL nin damar düz kas ve endotel hücrelerinde oluşturduğu fonksiyon bozukluğunun, resveratrol ile önlenmesine bağlı olduğu anlaşılmıştır.³¹ Bu konuda yapılan bir diğer çalışmada, resveratrolün LDL ve doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önleyen güçlü bir inhibitör olduğu rapor edilmiştir.¹²

Menapozlu kadınlar için bir model olarak tasarlanan, yumurtalığı alınmış dişi kobaylar üzerinde yapılan bir çalışmada, hayvanlar 12 hafta boyunca üzüm ekstreleri (10g/100g) ile beslendikten 12 hafta sonra yapılan ölçümlerde, aorttaki kolesterol konsantrasyonlarının %33 oranında düştüğü saptanmıştır. Üzüm preparatlarının VLDL oranını etkileyerek, aortta daha az kolesterol akümülyasyonuna neden olduğu ve hepatik kolesterol metobalizmasını değiştirdiği görülmüştür.³²

Kırmızı ve beyaz şarabın kardiyovasküler etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, kırmızı şarabın, HDL kolestrolü ve apolipoprotein A1'in plazma konsantrasyonunu arttırdığı, fakat beyaz şarabın bu parametrelerde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı görülmüştür. Böylece kırmızı şarabın alkol harici diğer bileşenlerinin, kardiyovasküler hastalıklarda yararlı etkilerden sorumlu olabileceği düşünülmüştür.¹⁶

Polifenolik kırmızı şarap bileşenlerinin kardiyovasküler hastalıklara karşı etkili diğer bir silahı, platelet agregasyonunu ve platelet adezyonunu inhibe etmesidir.^{8,9} Kırmızı şarabın oral ve intravenöz yolla verilmesinden sonra, kanama zamanını , alkol ve beyaz şaraba göre anlamlı bir şekilde uzattığı görülmüştür. (133 ± 4 saniyeden 284 ± 10 saniyeye $p < 0,05$)¹⁶ Ex vivo olarak yapılan diğer bir çalışmada da, trombosit sayısının kırmızı şarapla doz-bağımlı olarak belirgin bir şekilde azaldığı görülmüştür. Etil alkol ve beyaz şarapta bu etki gözlemlenmemiştir . Aynı şekilde etil alkol ve beyaz şarabın trombozis ağırlığı üzerinde de bir etkisi saptanmamıştır . Kırmızı şarabın ise, trombozis ağırlığını %58 oranında azalttığı görülmüştür. Kırmızı şarabın kanama zamanı ve platelet adezyonu üzerindeki etkisi, eNOS inhibitörü L-NAME ön uygulamasıyla tamamıyla ortadan kalkmış, L-arjinin verilmesi, L-NAME nin etkilerini tersine çevirmiştir .³³ Kırmızı şarap polifenollerinin, endotel kaynaklı NO üretimini artırarak deneysel trombozisi önlediği anlaşılmıştır.¹⁶ Yüksek riskli kalp damar sistemi rahatsızlığı olan hastaların

yaklaşık %20 sinin aspirine karşı direnç geliştirdiği bilinmektedir. Resveratrol, platelet agregasyon ve adezyonu üzerindeki bu etkilerinden dolayı, asetilsalisilik asit hassasiyeti olan ve asetilsalisilik asite direnç kazanan kişilerde denenmiştir. Resveratrolün, aspirine direnç kazanan kişilerin plazmasında trombosit sayısını belirgin olarak azalttığı görülmüştür.³⁴

Resveratrol şarapta bulunan diğer polifenoller içinde en etkili damar düz kas gevşetici bileşiktir. Resveratrol, sıçan aortunda norepinefrini ve fenilefrinin oluşturduğu kasılmaları önemli derecede inhibe etmektedir.³⁵ Resveratrol (70µM), noradrenalin ile kontrakte edilmiş saphen vende ve internal meme arterinde yaklaşık %35 oranında gevşemeye sebep olmuştur. Endotel tabakasının uzaklaştırılması veya L-NOARG (NOS inhibitörü) önceden verilmesi, internal meme arterinde ve özellikle saphen vende resveratrolun oluşturduğu gevşemeleri tamamıyla ortadan kaldırmaktadır.³⁶ Resveratrolun endotel-bağımlı bu gevşetici etkisi, sıçan aortasında yapılan bir araştırmada da gösterilmiştir.³⁷

Başka bir çalışmada ise, resveratrolun, damardaki kalsiyuma duyarlı potasyum kanalları (K_{Ca}) üzerinde uyarıcı etkisi olduğu ve bunun endotelden-bağımsız olarak ortaya çıkan gevşetici bir etki olduğu saptanmıştır.³⁸ Endotelden salgılanan NO, iskemi reperfüzyon üzerinde koruyucu etkilere sahiptir. NO konsantrasyonu, iskemi reperfüzyondan 60 dakika önce resveratrol verilmesiyle belirgin olarak artmıştır. Buna bağlı

olarak, infarkte alan boyutunda azalma görülmüştür. İskemi reperfüzyon sonrasında artan iNOS enzim aktivitesinin, resveratrol ön koşullamasıyla baskılandığı rapor edilmiştir. NOS inhibitörü L-NAME verilmesinin resveratrolün oluşturduğu yararlı antiaritmik etkiyi bozmadığı görülmüştür.

39

Resveratrolun, kanserin oluşum, ilerleme ve yayılma aşamalarını inhibe ettiği görülmüştür. Resveratrol kanserin başlangıç safhasındaki inhibitör aktivitesini, çeşitli mekanizmalar üzerinden gerçekleştirir. Bunlardan birincisi , serbest radikal oluşumunun engellenmesidir. İkincisi Sitokrom P450 gibi Faz I enzim aktivitelerinin engellenmesidir. Üçüncüsü, küron redüktaz ve transferaz gibi Faz II enzimlerinin aktive edilmesidir. Kanser ilerlemesindeki inhibitör aktivitesini, COX 2 enzim aktivitesini inhibe ederek gerçekleştirir. Kanser yayılmasını ise, p53 tümör baskılayıcı genin ekspresyonunu artırarak ve kanser proteini olarak bilinen Bcl-2 ekspresyonunu da azaltarak önlediği kabul edilmektedir.⁴⁰

Resveratrolün 100 mg/kg günlük doz alınımıyla sıçanlarda, NMU-indüklenmiş meme tümörlerinin belirgin bir şekilde azaldığı rapor edilmiştir.⁴¹ İn vitro olarak oluşturulan kolon kanseri modelinde, içme suyuyla verilen resveratrolün (200mg/kg/günde), kolonda normal olmayan yapılanmaları %40 oranında azalttığı bulunmuştur.⁴²

Resveratrolun biyoyararlılığı ve onun tümör gelişimini engelleyen etkisi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmada, resveratrolun yarılanma ömrünün çok kısa olduğu 5 dakika içinde pik yaptığı ve hepatositler tarafından doza bağlı bir biçimde metabolize edildiği görülmüştür. Yani, t-resveratrol in vitro B16 melanoma hücre proliferasyonunu ve reaktif oksijen türlerinin üretimini, doz-bağımlı olarak inhibe etmektedir.⁴³

Estrojen, göğüs kanserinin gelişiminde çok önemli bir hormondur. Hastalığın önlenmesi ve tedavi edilmesi için, en başta estrojen sentezinin inhibe edilmesi hedeflenmektedir. Aromataz ve CYP19, estrojen sentezini katalize eden enzimlerdendir. Resveratrolün yapı olarak estrojene benzediği görülmektedir. Bu nedenle, resveratrolün aromataz ekspresyonu ve enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerinin araştırılması gerekli bulunmuştur. Resveratrol (25 μ M), hem kompetitif hem de nonkompetitif olarak aromataz aktiviteyi inhibe etmektedir.⁴⁴

Yapısal olarak estrojene benzeyen trans-resveratrol, yumurtalığı çıkarılmış dişi farelere verildiğinde, estrojen-benzeri etkileri görülmüştür. Uterusun nispi ağırlığında ve epitel hücre tabakasında artış olduğu görülmüştür. Bu da, resveratrolun estrojenik etkilere sahip olduğu şeklinde değerlendirilmiştir.⁴⁵

Resveratrolun orta yaşlı yüksek kaloriyle beslenen farelerin ömrünü, insulin duyarlılığını ve mitokondri sayısını arttırarak uzattığı gösterilmiştir. 114 haftalık deney periyodu sonunda, yüksek kalori ile beslenen sıçanların %58'i, yüksek kalori + resveratolle beslenen sıçanların %42'si, standart diyetle beslenenlerinde %45'i öldüğü görülmüştür.⁴⁶

Üzüm çekirdeği polifenollerinin, diabetes mellitusu tedavi edici etkisinin olduğu tespit edilmiştir. In vitro olarak yapılan bu çalışmada, yüksek glikoz ile üzüm çekirdeği polifenollerinin bir arada verilmesinin, yüksek glukozun oluşturduğu hücresel zararları önlediği bulunmuştur.²⁸

II.B.1.5 Resveratrol ve Kırmızı Şarabın Diğer Polifenollerinin Farmokokinetiği

Antioksidan, antienflamatuvar ve antikanserojen gibi bir çok yararlı biyolojik etkilere sahip olan resveratrolun biyoyararlanımı, hızlı ve yaygın metabolizasyonundan dolayı çok düşük olmaktadır.^{8,10,12}

Resveratrolün absorpsiyon, metabolizma ve buna bağlı olarak biyoyararlanım bilgilerini ortaya koymak için, farklı araştırma yaklaşımları oluşturulmuştur. İn vivo, in vitro ve ex vivo modeller üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Ex vivo yapılan bir çalışmada, 837-1704 nmol miktarındaki resveratrolün tek bir geçiş perfüzyonunda, luminal olarak verildiğinde, %46'sının ince bağırsaklarda bulunduğu, %21'nin ise, sistemik dolaşıma

ulaştığı saptanmıştır. Luminal sıvı atıkta da, resveratrolün %40'ı serbest olarak saptanmıştır. Buna karşılık, %11'nin glukuronidasyon , %3'ünün sülfatasyona uğradığı görülmüştür. Sistemik dolaşıma ulaşan resveratrolün %80'nin konjugasyona uğradığı ve bunun da büyük çoğunluğunun glukuronit konjugatı olduğu anlaşılmıştır.⁴⁷

Ex vivo olarak yapılan diğer bir çalışmada, resveratrolün jejunum ve ileum üzerindeki absorpsiyonu, 90. dakikaya kadar araştırılmış ve jejunumda metabolize olmamış az miktarda resveratrol (0.03nmol/cm jejunum) bulunduğu görülmüştür. Metabolit miktar tayini β -glukuronidaz uygulaması kullanılarak yapılmıştır.⁴⁸

İnsan karaciğerinde in vitro bir çalışmada, resveratrolün cis ve trans izomerlerinin glukuronidasyon hızları karşılaştırılmıştır. Cis-izomerinin trans-izomerinden 5-10 kat daha hızlı glukuronidasyona uğradığı görülmüştür.⁴⁹

Resveratrolün HPLC yöntemi kullanılarak, resveratrol 3-sülfat ve resveratrol 3-glukuronit metabolitleri incelenmiştir. İn vitro 4 saatlik inkubasyon periyodundan sonra, apikal olarak verilen resveratrolün %53'ü bazolateralde, %32'si apikalde, %4'ü de hücrelerde görülmüştür. İlk dozun %9'unun resveratrol 3-sülfat'a, %4'ünün de resveratrol 3-glukuronit'e metabolize olduğu bulunmuştur.⁵⁰

Resveratrolün in vivo ve in vitro deneyleri arasındaki farkı tam olarak anlayabilmek için, biyoyararlanımını iyi bilmek, hedef hücreye ulaşınca kadar izlemek gerekir. Resveratrol, karaciğer hücrelerine pasif ve taşıyıcı ile olmak üzere iki aşamalı olarak girmektedir. Taşıyıcı olarak lipoproteinlere ve albümine bağlanabilir. Nitekim, 5µM resveratrol inkübasyonu ile yapılan deneylerde, 24 saat sonra proteinlere bağlandığı ve albuminle etkileştiği spektrofotometrik analizlerle gösterilmiştir.⁵¹

İn vivo olarak resveratrol farmakokinetiğini çalışan araştırmacılar, resveratrolün dokulardaki akümülasyonunu ölçmüşlerdir. 84 sıçan üzerinde yapılan çalışmada, 36 sıçana tek doz 86 µg/kg, 4 ml. kırmızı şarap gastrik intubasyon yoluyla verilmiştir. Bu uygulamadan 1, 2, 4, 8, 12 saat sonra, hayvanların plazmaları ve dokuları toplanmıştır. Diğer 36 sıçandan oluşan gruba ise, 15 gün boyunca, 43 µg/kg resveratrol içerecek şekilde her gün 2 ml şarap verilmiştir. Resveratrolün intestinal düzeyde hızlı bir şekilde emilip kana karıştığı, 1 saatte maksimum konsantrasyona ulaştığı görülmüştür. 15 günlük süre sonunda, en yüksek konsantrasyonu, karaciğerde 53.5 ± 1.46 ng/g olarak ölçülmüştür. Bunu, 44.1 ± 1.52 ng/g ile böbrek dokusu izlemiştir. Araştırmacılar bu sonuçları, günde orta derecede şarap tüketimi ile belli bir zaman sonra, farmakolojik olarak aktif resveratrol konsantrasyonuna ulaşılabilceği şeklinde yorumlamışlardır.⁵²

In vivo olarak yapılan diğ er bir çalışmada, erkek Wistar sıçanlara lastik sonda ile 170 µci/ml işaretli trans-resveratrol verilmiştir. 24 saat boyunca, plazma, idrar ve feçes örnekleri toplanmıştır ve radyoaktiviteleri  l   lm şt r. Karaciğer, böbrek, kalp ve dalakta eser miktarda trans-resveratrol saptanmış ve bunun, verilen dozun %1 altında olduğu bulunmuştur. Resveratrolün, plazmada 15 dakika içinde maksimum konsantrasyona ulaştığı görülmüştür. Fe es ve idrardaki radyoaktivite miktarlarının, oral verilen resveratrolün %50-75 oranında olduğu hesaplanmıştır.¹⁴

Erkek Balb/c fareler üzerinde yapılan çalışmada ise, işaretli ¹⁴C-trans-resveratrol oral tek doz olarak verilmiştir. 1.5, 3, 6 saat sonra plazma ve dokulardaki düzeyleri, tüm vücut radyootografisi kullanılarak belirlenmiştir. Kantitatif organ düzeyleri ise, mikrootoradyografi kullanılarak belirlenmiştir. Ek olarak, böbrek ve karaciğerdeki radyoaktif bileşiklerin analizi HPLC kullanılarak yapılmıştır. 1,5 saat sonra kandaki radyoaktivitenin düştüğü ve sonrasında önemli bir artış olmadığı görülmüştür. İdrar ve safrada ise, 1,5 saat sonra yüksek bir konsantrasyon saptanmıştır. Safrada radyoaktivite deneme periyodunun sonuna kadar aynı düzeyde kaldığı görülmüştür. Fakat, idrarda zamanla yavaş bir artış görülmüştür. İlaç veriminden üç saat sonra ise, en yüksek konsantrasyon duodenumda bulunmuştur. Onu en yakın takip edenin, böbrek dokusu olduğu görülmüştür. Bunu, akciğer ve karaciğer dokuları izlemiştir. İlginç olarak 1,5 saat sonra en yüksek konsantrasyon midede görülmüş, ama

karaciğer ve böbrek konsantrasyonları düşük olarak saptanmıştır. Mikrootoradyografi yöntemi ile resveratrolün böbreğin korteks kısmında, karaciğerde ise, parankima kısmında biriktiği görülmüştür. Bulunan sonuçlara göre, böbreğin resveratrolün atım organı olduğu, deney süresince en çok karaciğerde birikiminin gerçekleştiği, oral yolla alınan dozun en az %50'sinin sindirim sisteminden absorbe olduğu gösterilmiştir.²⁵

Resveratrolün metabolik yolakta, enterohepatik resirkülasyonunu belirlemek için yapılan ex vivo bir çalışmada, sıçanlara, safra yoluyla resveratrol-aglikon formu verilmiştir. Safra, kateterler yoluyla duodenuma akıtılmıştır. Bu durumda, aglikon ve glukuronit plazma konsantrasyonlarının azaldığı görülmüştür. Enterohepatik resirkülasyonu engellenmeyen kontrol grubundan ise, konsantrasyonların azalmadığı saptanmıştır. Bu bulgu, sıçan bağırsağında enterohepatik resirkülasyonla aglikon ve glukuronit formlarının yeniden absorbe edildiğini göstermektedir.⁵³

Sıçanlarda HPLC-PDA ve monoES-MS/MS kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada, az miktarda metabolize edilmiş resveratrolün jejunum ve ileumda bulunduğu saptanmıştır. Resveratrolün metaboliti olan glukuronit konjugatının, jejunumdan absorbe edildiği bulunmuştur.⁵⁴

Resveratrolün düşük biyoyararlanımını gösteren diğer bir çalışmada, 6 sağlıklı gönüllüye işaretli ¹⁴C-resveratrol, oral ve intravenöz yollarla verilmiştir. Oral yolla 25 mg resveratrol veriminden sonra, resveratrolün %70 oranında absorbe olduğu görülmüştür. 1 saat sonra plazma düzeyi, 491 ng/ml olarak bulunmuştur. 6 saat sonra ise, konsantrasyon 290 ng/ml'ye düşmüştür. Oral yolla verilmesinden 5 saat sonra, idrarda % 53-84, feçeste % 0.3-38 oranında resveratrol saptanmıştır. Resveratrolün intra venöz verilmesinden 1 saat sonra, idrardaki oranın % 42-83 olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, resveratrolün çok yüksek oranda absorbe olduğunu, fakat hızlı ve etkin bir biçimde metabolize olduğunu göstermektedir.⁵⁵ Bu iki çalışma, resveratrol metabolizmasının insan ve sıçanlarda farklı olduğunu göstermektedir. Resveratrolün sülfat konjugatı, insan karaciğer hücrelerinde nispeten daha az, sıçan karaciğer hücrelerinde ise daha çok oluşan bir metabolit olarak dikkat çekmektedir.⁵⁶

Resveratrol insan ve hayvan organizmalarının yanı sıra, bitkilerde sentezden sonra, oksidasyondan korunmak amaçlı metabolize olmaktadır.⁴⁹ Resveratrol, bitkilerde savunma amaçlı sentezlenmesi sırasında oksidasyona maruz kalmaktadır. Metil ve glukozil yapıları ile birleşerek sentezlenmektedir. Oksidasyondan sorumlu hidroksil yapısı, metille kolay yer değiştirirken, glikozil yapısıyla yer değiştirmeye daha az eğilimli olduğu anlaşılmaktadır. Böylece, resveratrolün glikozidasyonu onu,

oksidasyona karşı korumakta ve biyolojik özelliklerini sürdürmesine olanak sağlamaktadır. ⁵⁷

III. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmadaki analizler, Orta Doğu Teknik Üniversitesi bünyesinde bulunan Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Enstitüsü, AR-GE merkezinde yapılmıştır.

III.A MATERYAL

III.A.1 Kullanılan Araç ve Gereçler

- 1.Varian Prostar HPLC
- 2.Chromospher C18(150X46mm, 5µm) (cat no = CP28511)
- 3.Varian 330 PDA (Photo Diode Array) Dedektör
- 4.Ultra turrox IKA T18 Basic Homojenizator
- 5.Hassas Terazî
- 6.Derin Dondurucu (-80 °C, Sanyo)

III.A.2 Kullanılan Kimyasallar

- 1.Resveratrol (Sigma ve Herb-Tech)
- 2.Etanol (Merck)
- 3.%0.5 Asetik Asit (Merck, HPLC mobil faz)
- 4.Metanol (Merck, HPLC mobil faz)
- 5.Deiyonize su (Milipore saf su arıtma cihazı)

III.A.3. Kullanılan Deney Hayvanları

Deneylerde, 200-250 g ağırlığındaki erkek ve dişi Wistar-albino sıçanlar kullanılmıştır. Bu sıçanlar, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Satış Merkezi'nden alınmıştır. Sıçanlar, erkek-kontrol, erkek-resveratrol, dişi- kontrol, dişi-resveratrol olmak üzere dört ana gruba ayrılmıştır.12 saat aydınlığı takiben, 12 saat karanlığın sağlandığı barınakta standart sıçan yemi ile beslenmişlerdir. Kontrol gruplarına çeşme suyu, diğer gruplara ise 50mg/L konsantrasyonda resveratrol ilave edilmiş çeşme suyu 21 gün boyunca içirilmiştir. Resveratrolün bulunduğu içme suyu şişeleri alüminyum folyo ile sarılarak resveratrolün ışıktan korunması sağlanmıştır.

Çalışmalar Gazi Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu izni alınarak gerçekleştirilmiştir.

III.B Yöntem

III.B.1 Sıçan Doku Örneklerinde Resveratrol Analizi

Sıçanlara, CO₂ uygulaması yapıldıktan sonra, intrakardiyak olarak 2 cc kan örneği alınmıştır. Daha sonra, toraks ve abdomen açılarak kalp, karaciğer, akciğer, böbrek çıkarılarak, içinde soğutulmuş Krebs çözeltisinin bulunduğu petri kaplarına alınmışlardır. Petri kaplarında çevre dokulardan temizlendikten sonra, 1g doku parçaları ve kan örnekleri alınıp etiketlenerek -80 °C de saklandı. Dokularda resveratrol analizi, Soleas ve ark. tarafından tanımlanan yöntemle yapıldı¹⁴ Bu yöntemle göre alınan dokular ve kan örnekleri 5 hacim %95(v/v) etanolle bir homojenizatör yardımıyla 3 kere 1 dakikalık periyotlarda homojenize edildi. Homojenizasyonun ardından elde edilen homojenat, 4°C de, 15 dakika, 1500 g de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası ayrılan süpernatant pipetle alınarak ependorf tüplere konuldu. Kalan kısım, aynı hacimde etanolle tekrar homojenize edilerek santrifüj edildi. 3 kere tekrarlanan ekstraksiyonun ardından süpernatantlar toplandı ve analiz zamanına kadar -80 °C de saklandı. Daha sonra örneklerde resveratrol tayini, ODTÜ

Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Enstitüsü, AR-GE Merkezinde HPLC cihazı ile PDA detektör kullanılarak gerçekleştirildi. Yapılan ön çalışmada kalp, akciğer ve kan örneklerinde saptanabilir limitlerin altında resveratrol tespit edildiği için dişi ve erkek sıçanlarda kalp, akciğer ve plazma dokularında 3'er örnekte, karaciğer ve böbrek dokularında ise 6'şar örnekte çalışılmıştır.

III. B.2 Yöntem Koşulları

Çalışılan Cihaz = Varian Prostar Yüksek Basıncılı Sıvı
Kromatografisi

Kullanılan Dedektör = Varian 330 PDA (Photo Diode Array)
Dedektör

Kullanılan Kolon =Chromospher C18(150X4.6mm,5µm)
cat no=CP28511

Mobil Faz = % 0.5 Asetik Asit/Metanol

Akış Hızı = 0.5 ml/min.

Kolon Sıcaklığı = 25°C

Dalga Boyu = 304nm

Enjeksiyon Hacmi = 20µl

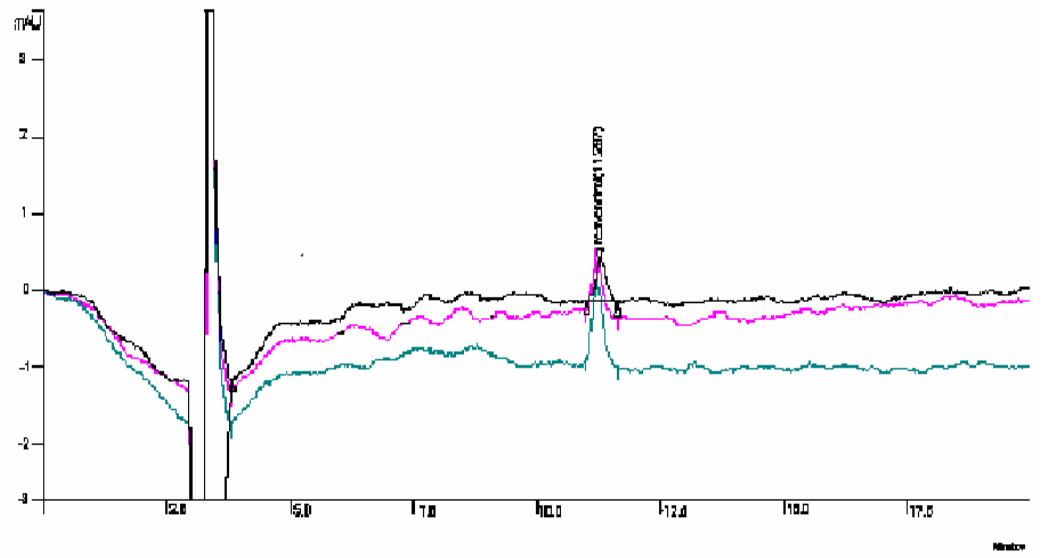
III.B.3 Kalibrasyon Grafiğinin Çizimi

III.B.3.1 Trans Resveratrol Stok Çözeltisinin Hazırlanması

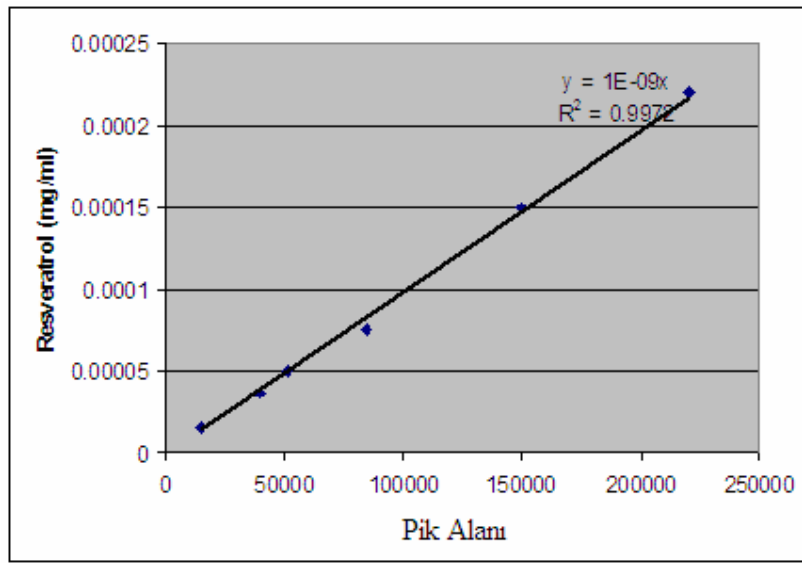
10 mg trans-resveratrol tartılarak absolü etanolde çözüldü (Merck, %99.99). Konsantrasyon 4.54 mg/ml olacak şekilde distile su ile seyreltildi. Resveratrol standart eğrisinin hazırlanmasında, bu stok çözeltiden yapılan dilüsyonlar kullanıldı. Tüm örnekler ve standart çözelti ışıktan uzak, -20°C de saklandı.

III.B.3.2 Trans Resveratrol Çalışma Çözeltilerinin Hazırlanması

Analizlerde 0.000015mg/ml – 0.00022 mg/ml standart resveratrol konsantrasyon aralığında çalışıldı. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında, 0.000015mg/ml, 0.000037mg/ml , 0.000050mg/ml, 0.000075mg/ml , 0.00015 mg/ml ve 0.00022mg/ml konsantrasyonlarda standart resveratrol çözeltileri kullanıldı.



Şekil 1: Kalibrasyon eğrisi çizmekte kullanılan, 0.000037mg/ml (siyah), 0.000050mg/ml (mavi), 0.000075mg/ml (siyah) konsantrasyonlardaki stok çözeltilerden hazırlanan dilüsyonların kromatogramları



Kalibrasyon Grafiği : Resveratrol miktarının tespiti için 0.000015 mg/ml-0.00022mg/ml konsantrasyon aralığında stok çözeltiden yapılan dilüsyonlarla hazırlanan kalibrasyon eğrisi

IV. BULGULAR

IV.A Sıçanların Deney Süresince Ağırlıkları

Tablo 1 : Kontrol ve deneme gruplarındaki erkek ve dişi sıçanların deneyin başlangıç ve sonundaki ağırlık ortalamaları

Vücut Ağırlıkları	Erkek Kontrol Grubu	Erkek Deneme Grubu	Dişi Kontrol Grubu	Dişi Deneme Grubu
Başlangıç vücut ağırlığı(g)	220.8±2.3	223.1±2.4	208.9±2.5	215.7±2.4
21. gündeki vücut ağırlığı(g)	223.9±2.2	227.8±2.2	212.4±2.2	219.6±2.3

Resveratrollü su içen erkek ve dişi sıçanların ağırlıklarının, kontrol grubundaki hayvanlardan istatistiksel olarak farklı olmadığı ($p>0.05$) dolayısı ile resveratrol içmenin, hayvanların vücut ağırlığında bir değişiklik oluşturmadığı saptanmıştır.

IV.B Sıçan Dokuları ve Plazmalarındaki Resveratrol Miktarları

Tablo 2: HPLC Yöntemi ile Ölçülen 3 Haftalık Deney Süresi Sonunda Toplanan Sıçan Dokuları ve Plazmalarındaki Resveratrol Miktarları

Kromatogram No	Numune Adı	t-resveratrol (ng/g) miktarı
1	Dişi karaciğer dokusu 1	353

2	Dişi karaciğer dokusu 2	350
3	Dişi karaciğer dokusu 3	70
4	Erkek karaciğer dokusu 1	290
5	Erkek karaciğer dokusu 2	70
6	Erkek karaciğer dokusu 3	210
7	Dişi böbrek dokusu 1	380
8	Dişi böbrek dokusu 2	180
9	Dişi böbrek dokusu 3	70
10	Erkek böbrek dokusu 1	225
11	Erkek böbrek dokusu 2	220
12	Erkek böbrek dokusu 3	310
13	Dişi akciğer dokusu 1	<70
14	Dişi akciğer dokusu 2	<70
15	Dişi akciğer dokusu 3	<70
16	Erkek akciğer dokusu 1	<70
17	Erkek akciğer dokusu 2	<70
18	Erkek akciğer dokusu 3	<70
19	Dişi kalp dokusu 1	<70
20	Dişi kalp dokusu 2	<70
21	Dişi kalp dokusu 3	<70
22	Erkek kalp dokusu 1	<70
23	Erkek kalp dokusu 2	<70
24	Erkek kalp dokusu 3	<70
25	Dişi karaciğer dokusu 4	300
26	Dişi karaciğer dokusu 5	220
27	Dişi karaciğer dokusu 6	70
28	Erkek karaciğer dokusu 4	320
29	Erkek karaciğer dokusu 5	290
30	Erkek karaciğer dokusu 6	300
31	Dişi plazma 1	<70
32	Dişi plazma 2	<70
33	Dişi plazma 3	<70
34	Erkek plazma 1	<70
35	Erkek plazma 2	<70
36	Erkek plazma 3	<70
37	Dişi böbrek dokusu 4	280
38	Dişi böbrek dokusu 5	70
39	Dişi böbrek dokusu 6	70
40	Erkek böbrek dokusu 4	150
41	Erkek böbrek dokusu 5	120
42	Erkek böbrek dokusu 6	70

Tablo 3 : Erkek ve Dişi Sıçanların Dokularındaki Ortalama Resveratrol Miktarları

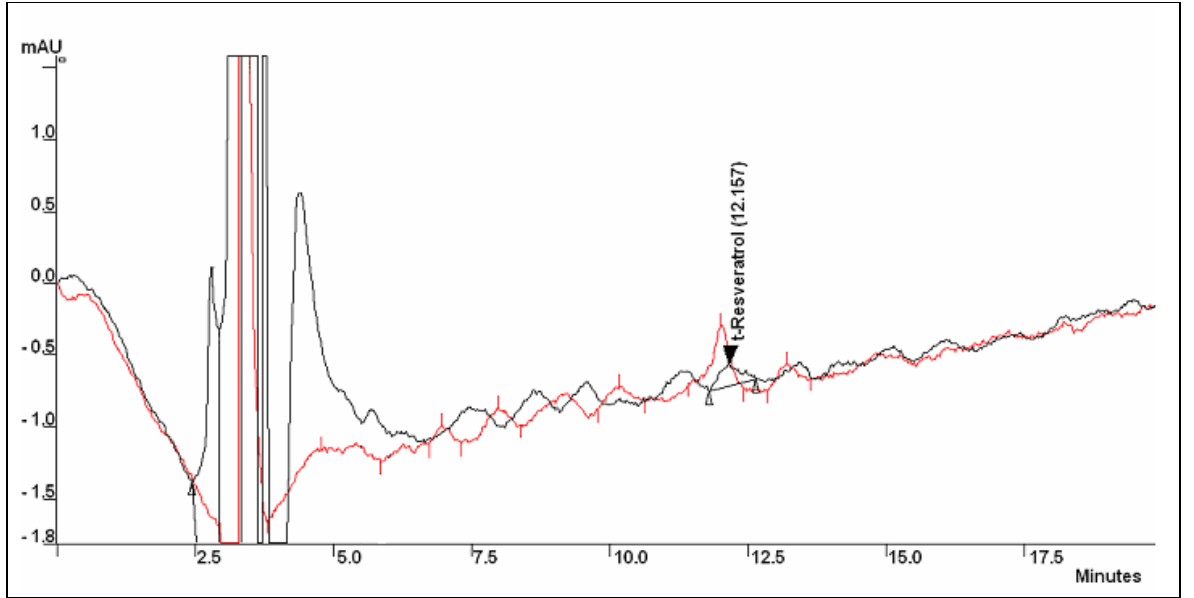
Doku	Resveratrol miktarları (ng/g)	
	Dişi sıçanlar	Erkek sıçanlar
Karaciğer	226.7±130.3 (n=6)	246.7±94.4 (n=6)
Böbrek	175.0±131.3 (n=6)	186.7±89.1 (n=6)
Kalp	<70 (n=3)	<70 (n=3)
Akciğer	<70 (n=3)	<70 (n=3)
Plazma	<70 (n=3)	<70 (n=3)

Tablo 3' de gösterilen bulgulara göre, oral yolla alınan trans-resveratrolun karaciğer ve böbreklerde akümüle olduğu saptanmıştır. 21 günün sonunda plazmada, akciğer ve kalpte saptanabilir limitlin altında 70 ng dan düşük trans-resveratrol bulunmuştur.

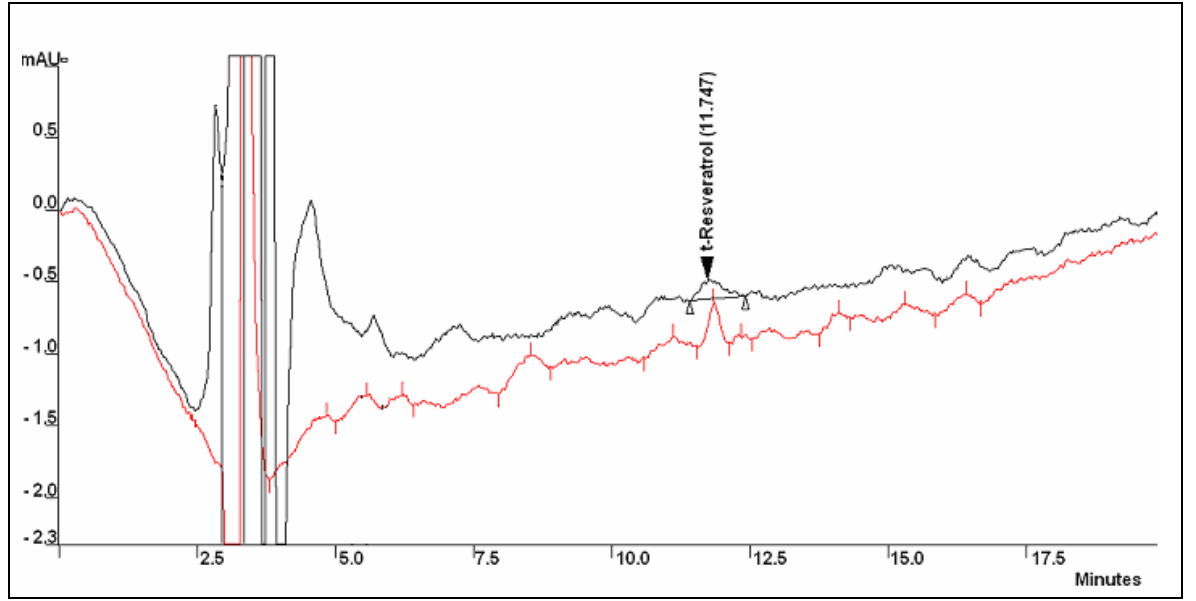
IV.C İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 13.0 programı üzerinden student's t testi ile ifade edildi. Sonuçlar ortalama±standart hata şeklinde gösterildi.

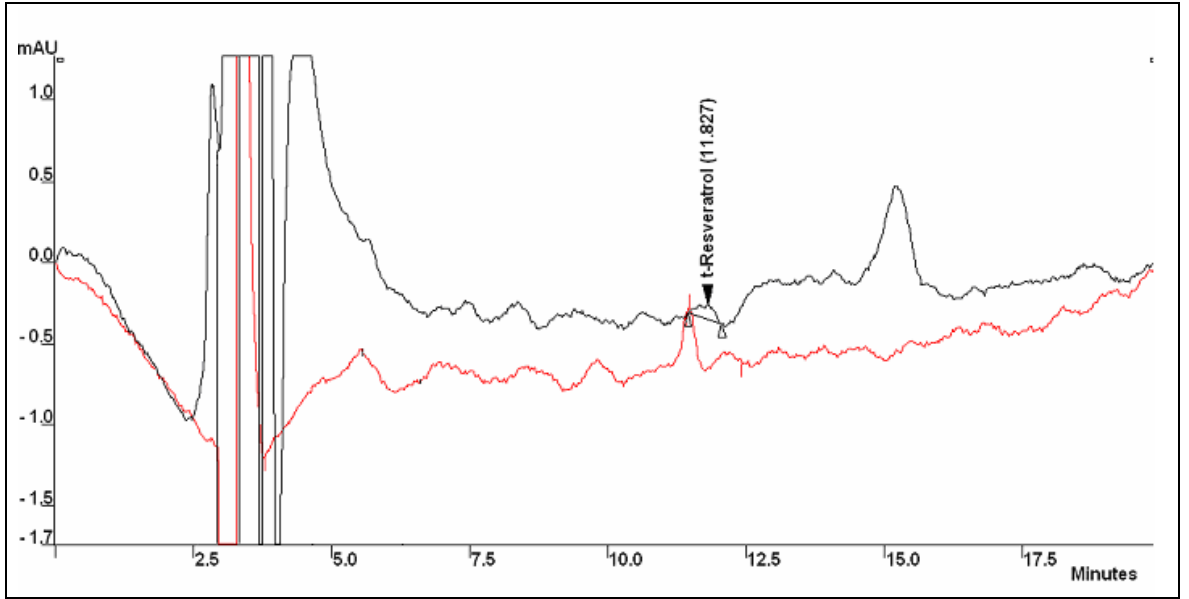
IV.D Dokulardaki Resveratrol Miktarını Gösteren Kromatogramlar



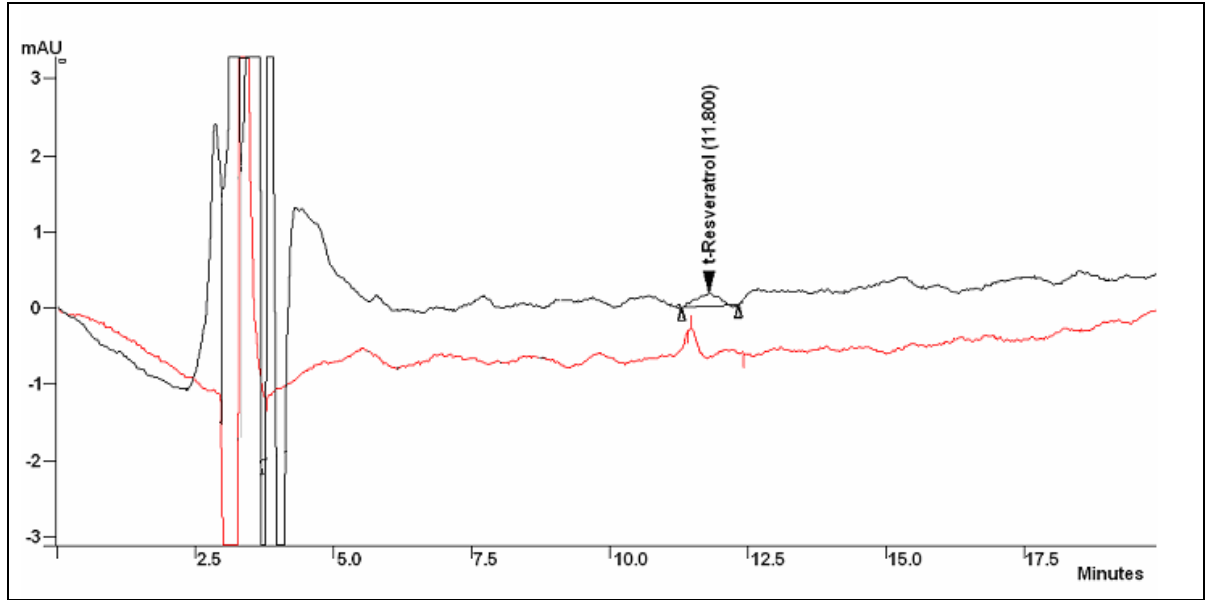
Şekil 2: 2 numaralı dişi sıçanın karaciğer dokusundaki resveratrol miktarını
ve alıkonma zamanını gösteren 2 numaralı kromatogram



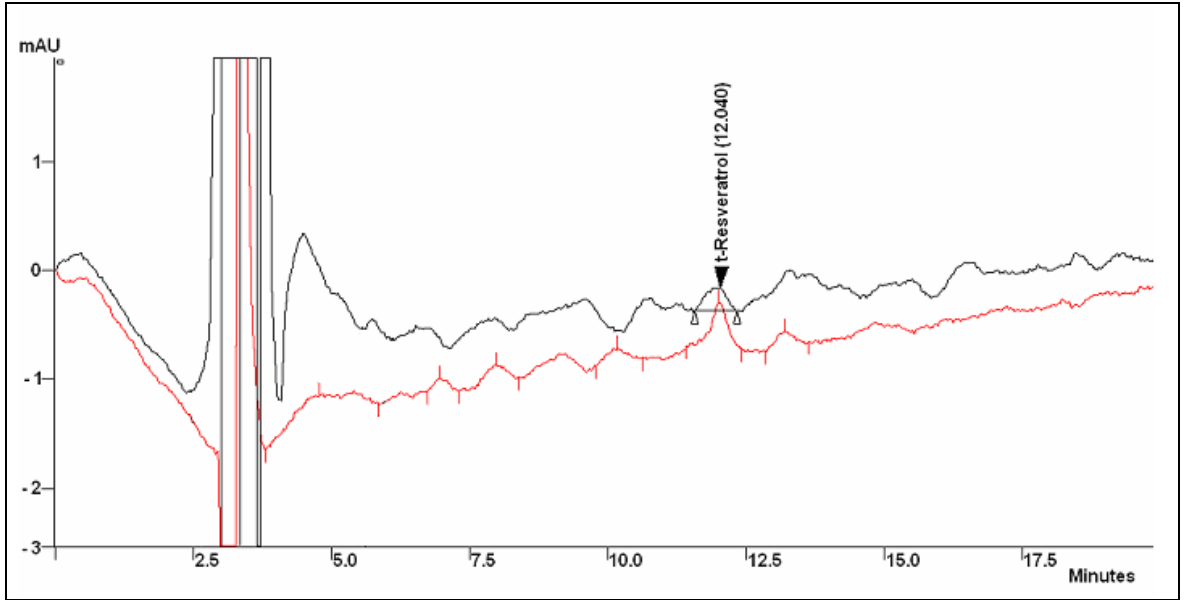
Şekil 3: 4 numaralı dişi sıçanın karaciğer dokusundaki resveratrol miktarını ve alıkonma zamanını gösteren 25 numaralı kromatogram



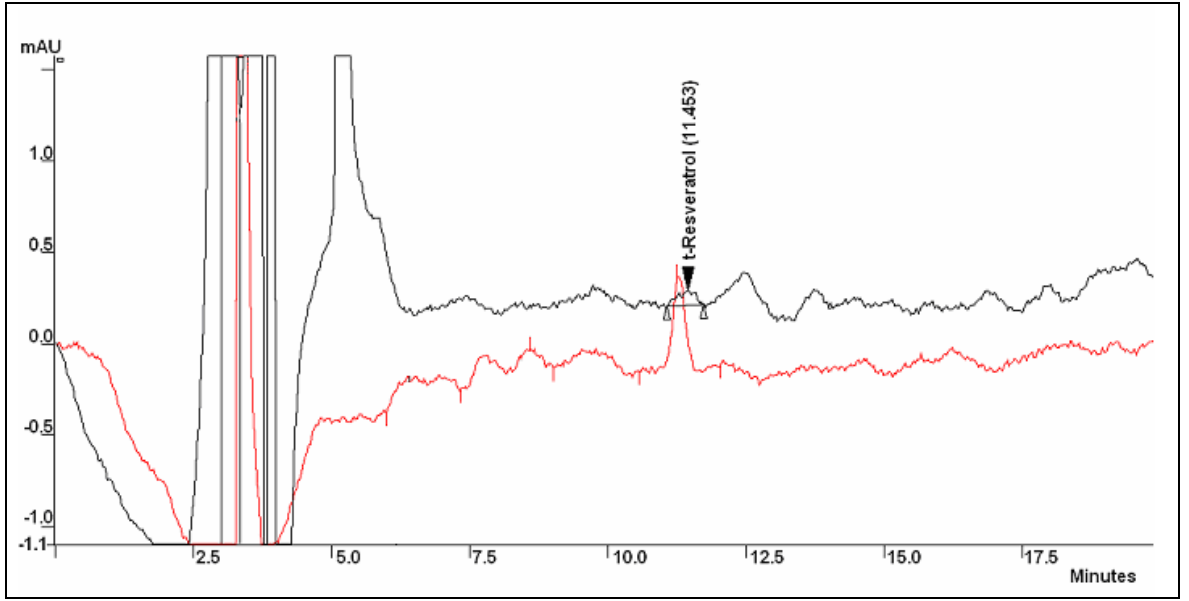
Şekil 4: 5 numaralı erkek sıçanın karaciğer dokusundaki resveratrol miktarını ve alıkonma zamanını gösteren 29 numaralı kromatogram



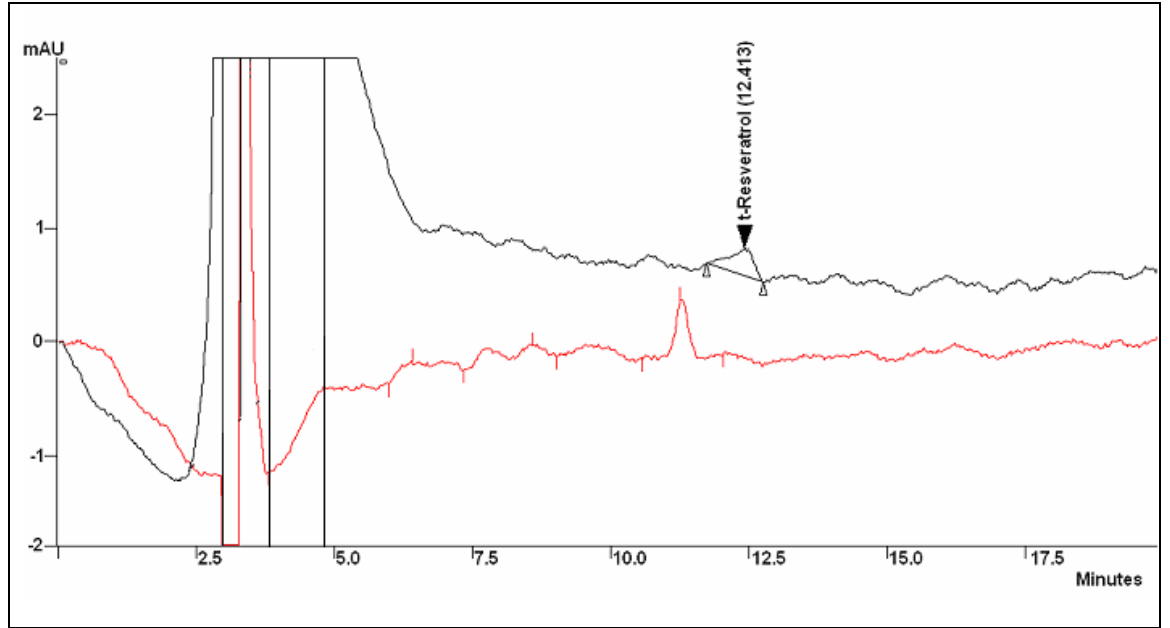
Şekil 5: 6 numaralı erkek sıçanın karaciğer dokusundaki resveratrol miktarını ve alıkonma zamanını gösteren 30 numaralı kromatogram



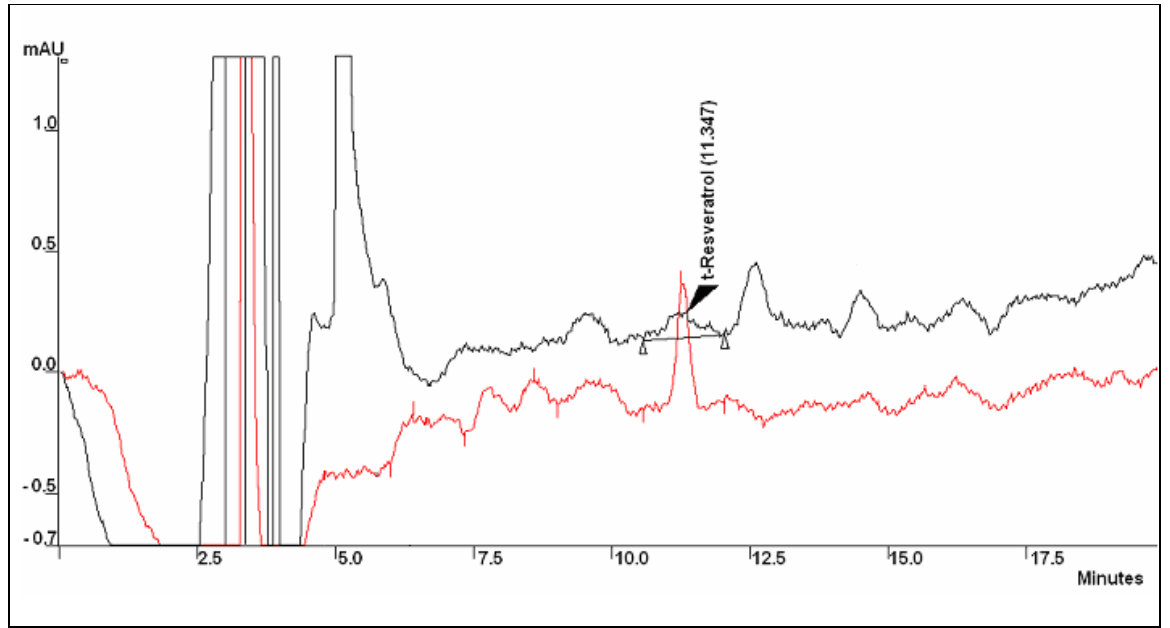
Şekil 6: 1 numaralı dişi sıçanın böbrek dokusundaki resveratrol miktarını ve alıkonma zamanını gösteren 7 numaralı kromatogram



Şekil 7: 4 numaralı dişi sıçanın böbrek dokusundaki resveratrol miktarını ve alıkonma zamanını gösteren 37 numaralı kromatogram



Şekil 8: 3 numaralı erkek sıçanın böbrek dokusundaki resveratrol miktarını ve alıkonma zamanını gösteren 12 numaralı kromatogram



Şekil 9: 2 numaralı erkek sıçanın böbrek dokusundaki resveratrol miktarını ve alıkonma zamanını gösteren 11 numaralı kromatogram

V. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada polifenolik bir bileşik olan trans-resveratrol (6mg/kg) erkek sıçanlara (223.1 ± 2.4 g) ve dişi sıçanlara (215.7 ± 2.4 g) 3 hafta boyunca içme suyu içinde verildi. 3 hafta sonunda erkek sıçanlar (227.8 ± 2.2 g) ve dişi sıçanlar (219.6 ± 2.3 g) tartıldı. Deney sonundaki vücut ağırlığındaki artış kontrol grubundaki artışla paralel bulundu. Aralarında istatistiksel olarak bir fark gözlenmedi. ($p > 0.05$)

Kontrol ve resveratrol içen erkek ve dişi sıçanlara CO₂ uygulanmasından sonra, intrakardiyak olarak alınan kan örneği ile karaciğer, böbrek, kalp ve akciğer dokuları toplanmıştır. HPLC / PDA yöntemiyle trans-resveratrolün dokulardaki miktarları hesaplandı. Elde edilen bulgulara göre (Tablo 3), oral yolla alınan trans-resveratrol karaciğer ve böbreklerde, kalp ve akciğere nazaran yüksek oranda toplanmaktadır. Dişi sıçan karaciğer dokularında, ortalama $226,67 \pm 130,33$ ng/g t-resveratrol, erkek sıçan karaciğer dokularında, ortalama $246,67 \pm 94,38$ ng/g t-resveratrol saptanmıştır. Dişi ve erkek sıçanların karaciğerdeki resveratrol miktarları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$). Dişi sıçan böbrek dokularında, ortalama $175,00 \pm 131,26$ ng/g t-resveratrol, erkek sıçan böbrek dokularında, ortalama $186,67 \pm 89,14$ ng/g t-resveratrol bulunduğu saptanmıştır. Dişi ve erkek sıçanların böbrek dokularındaki resveratrol miktarının anlamlı bir farklılık göstermediği

görülmüştür ($p>0.05$). Kan, kalp ve akciğer dokularında ise, resveratrol miktarının 70ng/g dan daha az düzeylerde olduğu anlaşılmıştır. Elde edilen tüm değerler, Tablo 1 de gösterilmiştir.

Trans-resveratrolün karaciğer ve böbreklerde yüksek oranda bulunması, onun, karaciğerde metabolize olması ve büyük oranda böbrekler yoluyla atılması ile açıklanabilir. Düşük biyoyararlanım oranı, hızlı ve etkin metabolizasyon, hedef organlar olarak düşündüğümüz kalp ve akciğerde değişmeden kalan trans-resveratrolün, az miktarda bulunmasının nedeni olabilir. Resveratrolün plazma konsantrasyonlarının da, ölçülebilir düzeylerin altında olması bu gerçeği doğrulamaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlar, daha önce yapılan çalışmaların bulgularıyla uyum göstermektedir.^{14,26,55}

Vitrac ve ark.(2003), farelere ^{14}C işaretli trans-resveratrolü (5mg/kg) gastrik intubasyon yoluyla vererek, otoradyografi yöntemiyle, dokulardaki dağılımını inceledikleri çalışmalarında, 6. saatte böbrek ve karaciğerde yüksek oranda trans resveratrol bulunduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, kolonda radyoaktivitenin düşük, idrarda yüksek olması, asıl atılım organının böbrek olduğuna işaret etmektedir.²⁶

Walle ve ark. (2004), resveratrol biyoyararlanımının düşük düzeyde olduğunu saptamışlardır. 110 μmol oral dozdan sonra insan plazmasında, 5ng metabolize olmamış resveratrol bulunduğunu

hesaplamışlardır. İdrarda ise, deney periodu boyunca sabit sayılacak şekilde resveratrol bulunduğunu görmüşlerdir. Resveratrolün sülfat ve glukuronit konjugatlarına dönüşerek metabolize olduğu anlaşılmıştır. ⁵⁵

Bertelli ve ark.(1996) sıçanlara 15 gün boyunca, 40 µg / kg konsantrasyon gibi düşük doz resveratrol (trans ve cis) içeren şarabı (2ml/gün) oral olarak sıçanlara verdiklerinde, plazmada 7.6 ± 0.55 ng/ml , idrarda ise, 66.16 ± 1.66 ng/g, kalpte 3 ± 0.3 ng/g , karaciğerde 53.5 ± 1.46 ng/g , böbrekte 44 ± 1.32 ng/g resveratrol konsantrasyonu bulunduğunu saptamışlardır. Plazmadaki hızlı düşüş ve idrarda bulunan yüksek konsantrasyondan dolayı, böbreğin en önemli atım organı olduğunu ve en iyi akümüülasyonun da karaciğer dokusunda olduğunu fark etmişlerdir. ⁵⁸ Böyle çok düşük oranda verilen resveratrolün, bu kadar yüksek miktarda dokularda toplandığını gösteren başka bir çalışma yoktur. ¹⁴

Soleas ve ark. (2001), bu çalışmanın sonuçlarını tatmin edici bulmamışlar ve ¹⁴C işaretli trans-resveratrolle çalışıp radyoaktivite ölçüm yöntemini denemişlerdir. Karaciğer, böbrek, kalp ve dalakta eser miktarda (verilen dozun %1'nin altında) resveratrol konsantrasyonu tespit etmişler. Bizim çalışma sonuçlarımız, bu bulguları destekler niteliktedir. ¹⁴

Geniş ölçekli epidemiyolojik çalışmalarda, polifenolik bileşiklerin kendisinin doğrudan ya da şarap ve yeşil çay olarak uzun süre verilmesinin bir çok yararlı biyolojik etkiler gösterdiği saptanmıştır. ^{8,9,10,12} Bu polifenoller içinde, en dikkat çekicisi ve etkisi fazla kanıtlanmış olanı

resveratroidür. Resveratrolün farmakokinetiği hakkında yapılan çalışmalar, biyolojik etki çalışmalarına nazaran oldukça azdır. İn vitro çalışmalardaki kanıtlanmış yüksek biyolojik etkinliği resveratrolün popularitesini arttırmıştır.^{19,24,51}

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada , uzun süre resveratrol alımının farelerin yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir. Bu ilginç çalışmada resveratrol alım süresi arttıkça, ölüm oranının düştüğü görülmüştür. Resveratrol etkinliğinin içim süresi ile artması, dokularda toplanabileceği düşüncesini akla getirmektedir.⁴⁶

Sıçanlar üzerinde in vivo olarak gerçekleştirdiğimiz bu çalışmanın sonuçları, yüksek miktarda resveratrol verilmesine rağmen dokularda düşük miktarda saptanması, resveratrolün biyolojik etkileri için gerekli etkin dozunun çok mu düşük olduğu sorusunu akla getirebilir. Bu noktada, yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar ve biyokimyasal analizler, genel olarak resveratrolün etkin konsantrasyonunun 10-100µM aralığında olduğunu ortaya koymaktadır.⁴⁴

Diğer bir yaklaşım ise, hızlı ve etkin bir şekilde metabolize olduğu bilinen resveratrolün yararlı etkilerinden metabolitlerinin de sorumlu olabileceği düşüncesidir. Nitekim, resveratrolün 50mg/kg gibi yüksek bir dozda sıçanlara verilmesinden sonra bile, plazma düzeylerinin 10µM olduğu görülmüştür. Resveratrol konjugatlarının ise, plazmada çok daha yüksek düzeylere ulaştığı bilinmektedir.⁵⁹ Ayrıca, yüksek lipofilik

özellikte olduğu bilinen resveratrolun beyin ve sinir sistemi gibi yağlı dokularda, uzun süre alınımından sonra birikebilmesi söz konusudur. Adipoz doku ve iskelet kaslarında şimdiye kadar yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Belki de bu dokular resveratrol akümülyasyonunun olduğu birer depodur.¹⁴

Bu çalışmayla, uzun süre resveratrolle beslediğimiz erkek ve dişi sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında, resveratrolün az miktarda da olsa toplandığını saptadık. Böylece, Fransız Paradoksu sayesinde insanların ilgisini çeken bu stilbenin, uzun süre alınmasıyla ortaya çıkan biyolojik etkilerine bu doku depolarının katkıda bulunabileceğini gösterdik.

VI. ÖZET

Resveratrol üzüm ve fıstık türleri başta olmak üzere, bazı bitkilerde doğal olarak bulunan bir polifenolik bileşiktir. Yapılan bir takım deneysel çalışmalar, resveratrolün saflaştırılmış veya sentetik şeklinin, insan ve deney hayvanlarında güçlü vazodilatör, anti-trombosit, antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanserojen etkileri olduğunu göstermektedir.

Epidemiyolojik çalışmalar ortalama kırmızı şarap tüketimi ve azalan kalp hastalıkları riski arasında bir bağlantı olduğunu gösterir. Resveratrolün endotel fonksiyonunu artırıcı ve doğrudan vazodilatör etkileri, onun kardiyovasküler yararlı etkilerinin nedeni olabilir. Orta derecede kırmızı şarap içen kişilerde, resveratrolün absorbe edildikten sonra hızla metabolize olduğu, fakat yine de, bazı dokularda toplanarak biyolojik olarak aktif miktarlara ulaşabildiği belirtilmiştir. Bu çalışmada amaç 21 gün boyunca içme suyu içinde verilen resveratrolün (50 mg/L) dişi ve erkek sıçanların kan ve değişik organlarındaki miktarlarını karşılaştırmaktır. Bu süre sonunda hayvanların vücut ağırlıkları ölçüldüğünde, resveratrol içiminin erkek ve dişi sıçanlarda vücut ağırlığını önemli ölçüde değiştirmedeği görülmüştür. Her iki cinsten alınan kan, kalp, karaciğer, akciğer ve böbrek örneklerinde resveratrol miktarı HPLC/PDA dedektörü kullanılarak ölçülmüştür. Resveratrolün, en fazla karaciğer ve

böbrek dokusunda bulunduğu, kan, akciğer ve kalpte ise saptanabilir limitlerin altında olduğu görölmüştür. Ölçülen resveratrol düzeylerinin erkek ve dişide farklılık göstermediği anlaşılmıştır. Trans-resveratrolün karaciğer ve böbreklerde yüksek oranda bulunması, onun, karaciğerde metabolize olması ve böbrekler yoluyla atılması ile açıklanabilir. Elde ettiğimiz sonuçlar, resveratrolün biyoyararlanım oranının düşük olduğunu göstermektedir. Hızlı ve etkin metabolizasyondan dolayı kanda ölçülebilir düzeyde olmadığı görölmektedir. Kalp ve akciğerde resveratrol birikiminin olmadığı söylenebilir.

Bu sonuçlar, orta derecede kırmızı şarap içen kişilerde, resveratrolün hızlı ve yüksek oranlı metabolizasyondan dolayı, biyolojik olarak etkin konsantrasyonlara ulaşmayabileceğini göstermektedir. Fakat, resveratrolün karaciğer ve böbrek gibi organlarda toplanma özelliği göstermesi, onun, vücutta depolanabileceğini ve böylece uzun süre şarap tüketimi sonucu, etkin biyolojik konsantrasyonlara ulaşabileceği şeklinde yorumlanabilir.

VII. SUMMARY

Resveratrol is a naturally occurring polyphenolic compound which is found in botanical sources especially in grapes and peanuts. Several experimental studies have shown that the purified or synthetic form of resveratrol shows potent vasodilatory, antithrombotic, antioxidant, antiinflammatory and anticarcinogenic effects on human and laboratory animals.

Epidemiological studies indicate that an association between moderate consumption of red wine and reduced risk of coronary heart disease. The increasing activity of resveratrol on endothelial function and direct vasodilatory effect may be the reason of its beneficial cardiovascular effects. It has been reported that resveratrol quickly absorbs and rapidly metabolises in moderate red wine consumer. However, resveratrol has been found to reach biologically active amounts by accumulating in some tissues. In this study our aim is to compare the amounts of resveratrol, which were given in drinking water for 21 days, in blood and several organs from male and female rats. After this period, it was seen that, taking resveratrol did not have a significant effect on the body weights of male and female rats. The amount of resveratrol in the samples of blood, heart, liver, lungs and kidneys taken from both genders were measured using HPLC/PDA. It was found that

resveratrol mostly presented in liver and kidney tissues while, the amount was below the detectable limits in heart , lungs and blood. The levels of resveratrol detected didn't show a statistically difference in between male and female rats. The reason why trans-resveratrol was found in high amounts in liver and kidneys can be explained by the fact that it is metabolized in liver and eliminated by kidneys. The results we obtained show that the bioavailability rate of resveratrol is low. Resveratrol levels were estimated to be under the limit of detectable amount in blood due to its fast and effective metabolism. Additionally, it can be said that there is no accumulation of resveratrol in heart and lungs.

These results show that in moderate red wine drinkers , resveratrol may not reach effective concentrations due to its fast and high rate of metabolism. On the other hand, accumulation of resveratrol in kidney and liver can be interpreted that it can be stored in the body so, consuming red wine for a long time makes the concentration of resveratrol reach the effective biological levels.

VIII. KAYNAKÇA

- 1- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns : A Mediteranean Diet Score and Its Relation to Clinical and Biological Makers of Cardiovascular Disease Risk. Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 2006; 16: 559-568.
- 2- Trichopolulou A, Lagiou P. Healthy Traditional Mediterranean Diet : On Expression of Culture, History and Lifestyle. Nutr. Rev. 1997; 55: 383-389.
- 3- Lorgeryl M, Renould S, Mamelle N. Mediterranean Alpha Linoleic Acid Rich Diet in Secondary Prevention of Coronary Heart Discase. Lancet 1994; 343: 1454-59.
- 4- Ram B , Singh MD , Gal-Dubnov MD , Mohammad A , Nioz PHD . Effect of an Indo-Mediterranean Diet on Progression of Coronary Artery Disease in High Risk Patients (indo. Mediterranean Diet Heart Study) : Randomised Single-Blind Trial . Lancet 2002 ; 360: 1455-61.
- 5- Lorgeryl M , Salen P. Wine Ethanol , Platelets and Mediterranean Diet . Lancet 1999 ; 353: 1067-71.
- 6- Ruidavets JB , Teissetre PL , Ferieres J , Corondo S , Bougard G , Cabanis JC. Catechin in The Mediterranean Diet : Vegetable, Fruit or Wine. Atherosclerosis 2000 ;153: 107-17.

- 7- Lange DW. From Red Wine to Polyphenols and Back : a Journey Through the History of the French Paradox . *Throm. Res.* 2007; 119: 403-406.
- 8- Bertelli AEE , Giovannini L , Gianessi D , Migliori M , Bernini W , Fregoni M , Bertelli A. Antiplatelets Activity of Synthetic and Natural Resveratrol in Red Wine , *Int . J. Tiss. Reac.* 1995; 17: 1-3.
- 9- Demrow HS , Slane PR , Folts JD. Administrator of Wine and Grape Juice Inhibits In Vivo Platelet Activity and Trombosis in Sterosed Canine Coronary Arteries. *Circulation* 1995; 91: 1182-88.
- 10- Gronbaek M , Deis A , Sorensan TI , Becker U. Mortality Associated with Moderate Intakes of Wine , Beer or Spirits. *B. M. J.* 1995; 6: 1165-69.
- 11- Renaud SC , Geuguen R , Schenker J , Houtaud A. Alcohol and Mortability in Middle-Aged Men From Eastern France. *Epidemiology* 1995; 9: 184-188.
- 12- Renaud S , Lorgegil M. Wine, Alcohol, Platelets and The French Paradox for Coronary Heart Disease. *Lancet* 1992; 339: 1523-1526.
- 13- Leger AS , Cochrane AL , Moore F. Factors Associated with Cardiac Mortality in Developed Countries with Particular Reference to The Consumption of Wine . *Lancet* 1979; 1: 1017-1020.

- 14- Soleas GJ , Angelini M , Grass L , Diamandis EP , Goldberg DM. Absorption of Trans-Resveratrol in Rats . Methods in Enzymology 2001; 335: 145-153.
- 15- Di Castelnuovo A , Rotondo S , Lacoviello L , Donati MB , De Gaetano G. Meta-analysis of Wine and Beer Consumption in Relation to Vascular Risk .Circulation 2002; 105: 2836-34.
- 16- Wollny T , Aiello L , Tommaso DD , Bellavia V , Domenico R , Donati MB , Gaetano G , Lacoviello L. Modulation of Haemostatic Function and Prevention of Experimental Thrombosis by Red Wine in Rats : A Role for Increased Nitric Oxide Production. B. J. Pharmacol. 1999; 127: 747-755.
- 17- Soleas GJ , Diamandis EP , Goldberg DM. Wine as a Biological Fluid : History , Production and Role in Disease Prevention. J. Clin. Lab. Anal. 1997; 11: 287-313.
- 18- Doğan AE. Türk Şaraplarındaki Resveratrol Miktarının HPLC ile Tayin Edilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü , Farmakoloji Anabilim Dalı , Ankara; 2005
- 19- Bradamante S , Barengi L , Villa A. Cardiovascular Protective Effects of Resveratrol. Cardiovasc. Drug Rev. 2004; 22: 169-188.
- 20- Soleas GJ , Diamandis EP , GOLDBERG, D. M.: Resveratrol : A Molecule Whose Time has come ? and gone ? Clin. Biochem. 1997; 30: 91-113.

- 21- Langcake P , Pryce RJ. The Production of Resveratrol and The Viniferins by Grape Wines in Response to Ultraviolet Irradiation. *Phytochemistry* 1976;16: 1193-96.
- 22- Lamuela-Raventos RM , Romero– Perez AI, Waterhouse AL, De La Torre BMC. Direct HPLC Analysis of Cis and Trans Resveratrol and Piceid Isomers in Spanish Red *Vitis Vinifera* Wines . *J. Agric. Food Chem.* 1995; 43: 281-283.
- 23- Wenzel G, Leckband G , Lorz H. Transformation and Expression of a Stilbene Synthase Gene of *Vitis Vinifera* L. in Barley and Wheat for Increased Fungal Resistance. *Theor. Appl. Genet.* 1998; 96: 1004-1012.
- 24- Fremont L. Biological Effects of Resveratrol. *Life Sci.* 2000; 66 : 663-672.
- 25- Martinez-Ortega MV , Garcia-Parrilla C , Trancoso AM. Comparison of Different Sample Preparation Treatments for the Analysis of Wine Phenolic Compounds in Human Plasma by Reversed Phase High-Performance Liquid Chromatography. *Anal. Chim. Acta* 2004; 502: 49-55.
- 26- Vitrac X , Desmouliere A , Brouillaud B , Krisa S , Deffieux G , Barthe N , Rosenbaum J , Merillon JM . Distribution of [14C]-Trans-Resveratrol A Cancer Chemopreventive Polyphenol , in Mouse Tissues After Oral Administration. *Life Sci.* 2003; 72: 2219-2233.

- 27- He H , Chen X , Wong G , Wang J , Davey AK. High-Performance Liquid Chromatography Spectrometric Analysis of Trans-Resveratrol in Rat Plasma. *J. Chromato.* 2006; 832: 177-180.
- 28- Juan ME , Lamuela-Raventos RM , Torre-Boronat MC , Planas JM. Determination of Trans-Resveratrol in Plasma by HPLC. *Anal. Chem.* 1999; 71: 747-750.
- 29- Fuji H , Yokozawa T , Kim YA , Tohda C , Nonaka G. Protective Effect of Grape Seed Polyphenols Against High Glucose-Induced Oxidative Stres. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006; 70: 2104-2111.
- 30- Turrens JF , Lariccia J , Gopal NM. Resveratrol Has no Effect on Lipoprotein Profile and Does not Prevent Peroxidation of Serum Lipids in Normal Rats. *Free Radic. Res.* 1997; 27: 557-562.
- 31- Adams MR , Kinlay S , Blake GJ , Orford JL , Ganz P , Selwyn AP. Atherogenic Lipids and Endothelial Dysfunction : Mechanisms in the Genesis of Ischemic Syndromes. *Annu. Rev. Med.* 2000; 51: 149-167.
- 32- Zern TL , West KL , Fernandez ML. Grape Polyphenols Decrease Plazma Triglycerides and Cholesterol Accumulation in the Aorta of Ovariectomized Guinea Pigs. *Nutr. Sci.* 2003; 133: 2268-2272.

- 33- Türker RK , Melli M , Kayaalp O. Otokoidler “Tıbbi Farmokoloji” (Kayaalp O. Ed.) 1459-1462. , Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık; 2002
- 34- Stef G , Csiszar A , Lerea K , Ungvari Z , Veress G. Resveratrol Inhibits Aggregation of Platelets from High-Risk Cardiac Patients with Aspirin Resistance. J. Cardiovasc. Pharmacol. 2006; 48: 1-5.
- 35- Chen CK , Pace-Asciak CR. Vasorelaxing Activity of Resveratrol and Quercetin in Isolated Rat Aorta. Gen Pharmacol. 1996; 27: 363-366.
- 36- Rakıcı Ö , Kızıltepe U , Coşkun B , Aslamacı S , Akar F. Effects of Resveratrol on Vascular Tone and Endothelial Function of Human Saphenous Vein and Internal Mammary Artery. Int. J. Cardiol. 2005; 105: 209-215.
- 37- Orallo F , Alvarez E , Camina M , Leiro JM , Gomez E , Fernandez P. The Possible Implication of Trans-Resveratrol in The Cardioprotective Effects of Long Term Moderate Wine Consumption. Mol. Pharmacol. 2002; 61: 294-302.
- 38- Li HF , Chen SA , Wu SN. Evidence for The Stimulatory Effect of Resveratrol On Ca^{+2} Activated K^- Current in Vascular Endothelial Cells. Cardiovasc. Res. 2000; 45: 1035-1045.
- 39- Hung LM , Su MJ , Chen JK. Resveratrol Protects Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury through both NO-Dependent and NO-

Independent Mechanisms. *Free Radic. Biol. Med.* 2004; 36: 774-781.

- 40- Jang MS , Cai EN , Udeani GO , Slowing KV , Thomas CF , Beecher CWW , Fang HHS , Farmsworth NR , Kinghorn AD , Mehta RG , Moon RC. Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol A Natural Product Derived from Grapes. *Science* 1997; 275: 218-220.
- 41- Bhat KPL , Lantuit D , Christov K , Mehta RG , Moon RC , Pezzuto JM. Estrogenic and Antiestrogenic Properties of Resveratrol in Mammary Tumor Models. *Cancer Res.* 2001; 61: 7456 -7463.
- 42- Tessitore L , Davit A , Sarotto I , Caderni G. Resveratrol Depresses Growth of Colorectal Abberant Crypt Foci by Affecting box and p21(CIP) Expression. *Carcinogenesis* 2000; 21: 1619-1622.
- 43- Asensi M , Medina I , Ortega A , Carretero J , Bono MC , Obrador E , Estrela JM. Inhibition of Cancer Growth by Resveratrol is Related to Its Low Bioavailability. *Free Radic. Biol. Med.* 2002; 33: 387-398.
- 44- Wang Y , Lee KW , Chan FL , Chen S , Leung LK. The Red Wine Polyphenol Resveratrol Displays Bilevel Inhibition Aromatase in Breast Cancer Cells. *Toxicol. Sci.* 2006; 92: 71-77.

- 45- Sanoh S , Kitamura S , Sugihara K , Kohta R , Shigeru O , Watarabe H. Effects of Stilbene and Related Compounds on Reproductive Organs in B6C3F1/Crj Mouse. J. Health Sci. 2006; 52: 613-622.
- 46- Baur JA , Pearson KJ , Price NL , Jamieson HA , Lerin C , Karla A , Prabhu UV , Allard JS , Lluich G , Lewis K , Pistell PJ , Poosala S , Becker KG , Boss O , Gwinn D , Wang M , Ramaswamy S , Fisbein KW , Spencer RG , Lakatta EG , Couuteur DL , Shaw RJ , Navas P , Puigserver P , Ingram DK , Cabo R , Sinclair DA. Resveratrol Improves Health and Survival of Mice on A High-Calorie Diet. Nature 2006; 444: 337-342.
- 47- Andlauer W , Kolb J , Siebet K , Furst P. Assessment of resveratrol Bioavailability in The Perfused Small Intestine of The Rat. Drugs Exp. Clin. Res. 2000; 26: 47-55.
- 48- Kuhnle G , Spencer JPE , Chowrimootoo G , Schroeter H. Resveratrol Is Absorbed in the Small Intestine as Resveratrol Glucuronide. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2000; 272: 212-217.
- 49- Aumont V , Krisa S , Battaglia E , Netter P. Regioselective and Stereospecific Glucuronidation of Trans- And Cis- Resveratrol in Human. Arch. Biochem. Biophys. 2001; 393: 281-289.

- 50- Kaldas MI , Walle VK , Walle T. Resveratrol Transport and Metabolism by Human Intestinal Caco2 Cells. J. Pharm. Pharmacol. 2003; 55: 307-312.
- 51- Jannin B , Menzel M , Berlot JP , Delmas D. Transport of Resveratrol, a Cancer Chemopreventive Agent , to Cellular Targets: Plasmatic Protein Binding and Cell Uptake. Biochem. Pharmacol. 2004; 68: 1113-18.
- 52- Bertelli A , Bertelli AAE , Gozzini A , Giovannini L. Plasma and Tissue Resveratrol Concentrations and Pharmacological Activity. Drugs Ex. Clin. Res. 1998; 24: 133-138.
- 53- Marier JF, Vachon P , Gritsos A , Zhang J , Moreau JP , Ducharme MP. Metabolism and Disposition of Resveratrol in Rats: Extent of Absorption, Glucuronidation and Enterohepatic Recirculation Evidenced by A Linked-Rat Model. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2002; 302: 369-373.
- 54- Kuhnle G , Spencer JPE , Chowrimootoo G , Schroeter H , Debnam ES , Srai SKS , Rice-Evans C , Hahn U. Resveratrol is Absorbed In Small Intestine As Resveratrol Glucuronide. Biochem. Biophys. Res. 2000; 272: 212-17.
- 55- Walle T , Hsieh F , Delegge MH , Oatis JE , Walle K. High Absorption But Very Low Bioavailability of Oral Resveratrol In Humans. Drug Metab. Dispos. 2004; 32: 1377-82.

- 56- Yu C , Shin YG , Chow A , Li Y. Human, Rat and Mouse Metabolism of Resveratrol. Pharm. Res. 2002; 19: 1907-14.
- 57- Shoshani GR , Shoseyov O , Bilkis I , Kerem Z. Glycosylation of Resveratrol Protects It from Enzymic Oxidation. Bio. Soc. 2003; 374: 157-163.
- 58- Bertelli AAE , Giovannini L , Stradi R , Bertelli A , Tillement JP. Plasma, Urine and Tissue Levels of Trans-and Cis-resveratrol (3,4',5-Trihydroxystilbene) After Short-Term or Prolonged Administration of Red Wine to Rats. Int. J. Tiss. Reac. 1996; 27: 67-71.
- 59- Gescher AJ , Steward WP. Relationship Between Mechanisms, Bioavailability and Preclinical Chemopreventive Efficacy of Resveratrol: A Conundrum. Cancer Epidemiology. 2003; 12: 953-

IX. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Fatma Esra

Soyadı: Katırcıoğlu

Doğum Yeri ve Tarihi: Ankara, 16.02.1982

Eğitimi: 2003-2007 Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji

Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans Eğitimi

1999-2003 Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde Lisans Eğitimi

1996-1999 Özel Yüce Fen Lisesi'nde Lise Eğitimi

1994-1996 Mehmet Akif Orta Okulu'nda Orta Eğitim

1989-1994 Aydınlikevler İlköğretim Okulu'nda İlk ve Orta Eğitim