ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2022; 36 (1): 59 - 65
http://www.fusabil.org

Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Sıçanlarda Maca Kök Ekstraktının Böbrek Dokusu Bazı Moleküler Parametreleri Üzerine Etkileri

Füsun ERTEN [1, a]

[1] Munzur Üniversitesi, Pertek Sakine Genç Meslek Yüksekokulu, Tunceli, TÜRKİYE

[a] ORCİD: 0000-0003-1657-7253

Maca, (*Lepidium meyenii*) yüzyıllardır besin takviyesi olarak etnomedikal amaçla kullanılmaktadır. Son zamanlarda maca, çoklu biyolojik aktiviteleri nedeniyle dünya çapında yüksek profilli bir fonksiyonel gıda haline gelmiştir. Yüksek yağlı diyet (YYD) ile uzun süreli beslenme, obezite oluşumu ile yakından ilişkilidir. Obezite, kronik böbrek hastalığının gelişimi ve ilerlemesinde olumsuz etkiye sahiptir. Bu çalışmanın amacı; yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda maca takviyesinin, böbrek organik anyon taşıyıcı-3 (OAT-3), organik katyon taşıyıcı-1 (OCT-1), ve 2 (OCT-2), insülin reseptör substrat-1 (IRS-1), vasküler adhezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) düzeyleri üzerindeki etkinliğini ortaya koymaktır. Çalışmada, 28 adet Sprague-Dawley ırkı erkek sıçan rastgele dört gruba (n=7) ayrıldı; i) Kontrol grubu (standart diyet ile beslenen); ii) Maca (40mg/kg/gün) grubu; iii) YYD ile beslenen grup; iv) Maca+YYD ile beslenen grup. Çalışmanın 60 günlük süresi ardından, böbrek OCT-1, OCT-2 ve IRS-1 protein düzeyleri YYD+Maca uygulanan grupta, YYD grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir artış gösterdi ($P<0.05$). YYD uygulanan grupta böbrek OAT-3 düzeyi, kontrol grubuna göre düşük bulundu ($P<0.0001$). Ayrıca, YYD grubuna kıyasla, YYD+Maca uygulanan grupta VCAM-1 ve VEGF protein düzeylerinde bir düşüş gözlemlenmiştir ($P<0.0001$). Bu sonuçlar, hem normal hem de HFD diyeti ile beslenildiğinde macanın böbrek dokusunda koruyucu ve düzenleyici etkinliğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Maca, yüksek yağlı diyet, böbrek, OCT, IRS-1*

Effects of Maca Root Extract on Some Molecular Parameters of Kidney Tissue in Rats Fed a High-Fat Diet

Maca (*Lepidium meyenii*) has been used as a dietary supplement in ethnomedicine for centuries. Maca has recently become a high-functional food globally, due to its numerous biological benefits. The high-fat diet (HFD) is closely related to the occurrence of obesity. Obesity is a common cause for chronic kidney disease. The aim of this study was to investigate the effects of maca on organic anion transporters-3 (OAT-3), organic cation transporter-1 (OCT-1), organic cation transporter-2 (OCT-2), insulin receptor substrate-1(IRS-1), vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) protein levels. In the study, 28 Sprague-Dawley male rats were randomly allocated into four groups (n=7); i) Control group (fed with standard diet); ii) Group fed with standard diet and supplemented with Maca (40mg/kg/day) group; iii) Group fed a HFD; iv) Group fed with Maca+HFD. After the 60-day of study, kidney OCT-1, OCT-2 and IRS-1 protein levels showed a significant increase in the HFD+Maca treated group compared to the HFD group ($P<0.05$). Renal OAT-3 level was found to be significantly lower in the HFD group compared to the control group ($P<0.0001$). In addition, a significant decrease in VCAM-1 and VEGF protein levels was observed in the HFD+Maca group compared to the HFD group ($P<0.0001$). These results show the protective and regulatory activity in the Maca's kidney tissue when both normally and the HFD diet is fed.

Key Words: *Maca, high-fat diet, renal diseases, OCT, IRS-1*

Geliş Tarihi : 27.12.2021
Kabul Tarihi : 27.01.2022

Yazışma Adresi
Correspondence

Füsun ERTEN
Munzur Üniversitesi,
Pertek Sakine Genç Meslek Yüksekokulu,
Tunceli – TÜRKİYE

fusunerten@munzur.edu.tr

Giriş

Obezite prevalansındaki artış, dünya çapında ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (1). Yüksek yağlı diyet (YYD) içeren bir beslenme düzeni, obezite oluşumu ile yakından ilişkili olarak bildirilmektedir (2-4). YYD, pozitif enerji dengesini etkiler ve hücre içi ektopik yağ birikimine neden olur. YYD, hiperlipidemi, hipertansiyon, diyabet, insülin bozukluğu ve oksidatif stres artışı gibi metabolik bozukluklarda olumsuz etkinliği belirlenmiş bir risk faktörüdür (5, 6).

Böbrek, yüksek yağlı diyetin etkisiyle fonksiyon değişikliği gösteren organlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır (7). Böbrek yağlanması böbrek fonksiyonları üzerinde zararlı etki yaparak böbrek dokusunda lipotoksisiteye yol açmaktadır (8). Lipotoksisite, lipid peroksidasyonunun meydana geldiği ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşturduğu patolojik bir durumdur. Dokularda aşırı ROS üretimi oksidatif stres oluşumuna neden olur (5). Obez Zucker sıçanların böbrek dokusunda, renal disfonksiyonun yanı sıra albüminüri, mezangial genişleme ve glomerüloskleroz görülmüştür. Ayrıca, YYD kaynaklı obez farelerde renal morfolojik değişiklikler, interstisyel skar ve fibrozis ile glomerüler hipertrofi ortaya çıktığı bildirilmiştir (9).

Böbrekler, asit-baz dengesinin sağlanması ve vücuttaki organik-inorganik substratların düzenlenmesi ile birlikte kandaki elektrolit dengesinin düzenlenmesinde önemli role sahiptir (7,10). SLC22 ailesi, organik katyon taşıyıcıları (OCT), organik katyon taşıyıcıları (OCTN) ve organik anyon taşıyıcıları (OAT) içerir (10).

SLC22A1 ailesinin üyesi olan organik katyon taşıyıcı-1 (OCT-1), esas olarak karaciğerde hepatositlerin sinüzoidal membranında eksprese edilir (11). OCT-1, birçok katyonik ilacın ve ksenobiyotiklerin hepatik atılımındaki ilk adıma, yani sinüzoidal membrandan hepatosit içine alıma aracılık eder. Kemirgenlerden farklı olarak, insan OCT-1'i, insan böbreğinde ultrafiltre edilmiş katyonların yeniden emilmesinde rol oynar (12). Organik katyon taşıyıcı-2 (OCT-2) ise esas olarak böbrek proksimal tübüllerinin bazolateral membranına lokalize olduğu kısımda eksprese edilir (13). İnsan OCT-2'si, antialerjik ilaç simetidin, antineoplastik ilaç oksaliplatin veya antiviral ilaç lamuvidin gibi birçok organik ilacın renal atılımındaki ilk adıma aracılık eder. Bu taşıyıcılar aynı zamanda kolin veya dopamin gibi proksimal tübüldeki diğer organik katyon substratlarının yeniden emilmesinde ikinci adıma aracılık eder (14). İnsan merkezi sinir sisteminde OCT-2, anti-Parkinson ilaçları amantadin ve memantin gibi ilaçların kan-beyin bariyerinden geçişini kolaylaştırır ve bu bileşikleri nöronlara taşıyarak interstisyel ve hücre içi nörotransmitter, nöromodülatör ve katyonik ilaç konsantrasyonlarının düzenlenmesine katılır (12). Yapılan bazı çalışmalarda, normal standart diyet ile beslenen sıçanlarınkine kıyasla YYD ile indüklenen obez farelerin böbreklerinde birkaç SLC22 aile üyesinin ekspresyonunda değişim tespit edilmiştir (10).

Organik anyon taşıyıcıları-3 (OAT-3) renal proksimal tübüllerin bazolateral membranında bulunan önemli bir taşıyıcı olup, endojen maddelerin veya organik anyon bileşiklerinin ve bunların metabolitlerinin vücuttan aktif olarak elimine edilmesinde rol oynar (15). Streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanlarda proksimal tübüllerde OAT-3 ekspresyonunun azaldığı ve OAT-3 fonksiyonundaki azalmanın insülin direncinin ilerlemesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (16). İnsülin reseptör substratları (IRS) ile insülin direncinden dolayı obezite ve diyabet arasında bir bağlantı olduğu düşünülmektedir (17-19). IRS, tirozin fosforilasyonu ile aktive edilen çok işlevli yerleştirme proteinleri üzerinde rol oynar ve insüline dirençli birçok dokuda IRS-1 ve IRS-2'nin fosforilasyonunda ve seviyelerinde değişiklikler oluşturduğu bildirilmektedir (17). Diyabetik böbrek hasarının gelişiminde, ektopik renal lipid birikiminin, vasküler adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve hücreler arası adezyon molekülü 1 (ICAM-1) aracılığıyla böbrekte glomerüler mesanjiyal genişleme, bozulmuş endotelyal nitrik oksit (NO) biyoyararlanımı ve artan ROS üretiminin önemli bir rolü olduğu bildirilmektedir (20). Vasküler endotelyal büyüme faktörünün (VEGF) anormal ekspresyonunun, artan vasküler geçirgenlik ile ilişkili olduğu ve glomerüler bazal membrana zarar veren neovaskülarizasyon sürecini başlattığı ve bu durumu devam ettirdiği bildirilmiştir (21).

Fitokimyasallar, 1980'lerin sonlarından başlayarak 1990'ların ortalarında ortaya çıkan dejeneratif hastalıklar için “antioksidan hipotezi” veya “serbest radikal teorisi” için ilham veren bir işlev olan antioksidanlar gibi davranma kapasitelerinin öncülüğünü yapmıştır (22). Bu nedenle çeşitli bitkisel kaynaklı gıdalar veya bunların aktif fitokimyasal bileşenleri insanlar ve hayvanların daha sağlıklı olması adına günümüzde halen tüketilmektedir (23, 24). Maca olarak bilinen *Lepidium meyenii Walpers*, Peru And Dağları ve Çin'in orta dağlık bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir ve 2011 yılında Çin hükümeti tarafından yeni bir gıda olarak onaylanmıştır (25). Maca sadece polisakkaritler, tanenler, katı yağlar, dallı amino asitler ve diğer bileşenler açısından zengin değildir, aynı zamanda glukozinolatlar, makaamid, makacen, glukozinolatlar, flavonoidler, terpenler ve steroller gibi bazı ikincil metabolitleri de içermektedir (26, 27). Maca içerdiği aktif bileşenler ile antioksidan etkileri, seksüel aktivite üzerine olumlu etikleri, yorgunluk ve hafıza üzerindeki iyileştirici etkileri nedeniyle son yıllarda dikkat çekmektedir (28). Ayrıca stres ve menopoz semptomlarını azaltmak için kullanılan bu bitkinin, kanser tedavisinde, anemi, gastrit, yüksek tansiyon ve depresyonda da etkili olduğu bildirilmektedir (29). Bazı *in vitro* çalışmalar, macanın, antioksidan etkisini, makrofajlarda antiapoptotik aktivitesini ve sıçan hepatositlerinde toksik olmadığını göstermiştir (29).

Gelecekteki klinik araştırmalara ışık tutabilmesi adına fitokimyasallarda bulunan biyolojik olarak aktif bileşiklerin moleküler etki mekanizmalarının aydınlatılması büyük önem arz etmektedir (23, 24). Macanın YYD ile beslenen sıçanlarda, böbrek dokusunda OCT-1, OCT-2, OAT-3, IRS-1, VCAM-1 ve VEGF gibi önemli transkripsiyon faktörlerinin etkileşimine ait etkileri ile ilgili mevcut literatürde yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu bağlamda, çalışmanın amacı macanın YYD ile beslenen sıçanlarda, böbrek dokusunda OCT-1, OCT-2, OAT-3, IRS-1, VCAM-1 ve VEGF üzerine etkilerini ortaya koymaktadır.

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel işlemler, Fırat Üniversitesi Yerel Hayvan Etik Kurulu, Elazığ, Türkiye (Tarih: 10.04.2019, Toplantı: 2019/50, Karar No: 88) onayı ile yürütüldü

Hayvanlar ve Deneme Düzeni: Bu çalışmada, Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen toplam 28 adet 30 haftalık yaşta Sprague Dawley ırkı erkek sıçan (300±20 g) kullanıldı. Çalışma, deney hayvanlarına yapılacak işlemler ile ilgili yönergeler doğrultusunda FÜDAM’da yürütüldü. Sıçanlar deney süresince kontrollü 22±2 °C sıcaklık, %55±10 nem, günlük 12 saat aydınlık; 12 saat karanlık olacak şekilde bir aydınlatma periyodu altında barındırıldı ve hayvanlara ad *libitum* olarak yem ve su verildi. Hayvanlar standart sıçan diyeti ve YYD ile beslendi.

Deneme Düzeni: Sıçanlar rastgele 4 gruba ayrıldı (n=7). Çalışmaya başlamadan önce hayvanlar 10 gün süreyle adaptasyona tabi tutuldu. **(i)** Kontrol; bazal diyet (kalorinin %12’si yağlardan elde edilen diyet) ile

beslenen sıçanlar, **(ii)** Maca, 60 gün boyunca intra-gastrik gavaj (40 mg/kg CA) ile maca kök ekstraktı verilen sıçanlar, **(iii)** YYD; yüksek yağlı diyet (YYD, kalorinin %42'si yağlardan elde edilen yağlı diyet) ile beslenen sıçanlar, **(iv)** YYD + Maca, YYD beslenen ve 60 gün boyunca intra-gastrik gavaj (40 mg/kg CA) ile maca kök ekstraktı verilen sıçanlardan oluşturuldu. Çalışmada diyetler saf hammaddeler kullanılarak, kontrol diyeti için kalorinin %12'si yağlardan, YYD için kalorinin %42'si yağlardan olacak şekilde hazırlandı (30). Maca dozu önceki çalışmalara göre belirlendi (31, 32). Bu çalışmada ticari bir firmadan (Nutrition 21, Purchase, NY) temin edilen maca kök ekstraktı kullanıldı.

Laboratuvar Analizleri: Bu çalışma 60 gün boyunca devam ettirildi ve sonunda tüm sıçanlar dekapitasyon ile sakrifiye edildi. Çalışma sonunda elde edilen böbrek dokuları analizler yapılıncaya kadar –80 ºC'de muhafaza edildi.

Sıçanların böbrek dokularından OCT-1, OCT-2, OAT-3, IRS-1, VCAM-1 ve VEGF protein düzeylerini analiz etmek için Western blot tekniği kullanıldı. Ayrıca sıçana spesifik antikorlar kullanılarak önceki çalışmalarda belirtilen biçimde analiz edildi (33). Kısaca; sıçanların böbrek numuneleri bir cam-cam homojenizatör yardımıyla soğuk zincirde homojenize edildi ve sonrasında 1X proteaz ve fosfataz ile takviye edilmiş lizis tamponunda kokteyl inhibitörü kullanılarak sonikasyona tabi tutuldu. Her grubun böbrek doku örneğine ait toplam protein içeriğini hesaplamak için NanoDrop cihazı (MaestroGen, Las Vegas, NV) kullanılarak ölçüm yapıldı. Gruplar için eşit miktarda protein (20 µg) içeren çalışma örnekleri, sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) işlemi ile %12'lik akrilamid içeren jele aktarıldı ve ardından Trans-Blot Turbo Transfer Sistemi (Bio-Rad, Life Sciences Research) kullanılarak nitroselüloz membrana aktarıldı. Membranlar daha sonra %0.1 Tween (PBS; bloke edici çözelti) içeren fosfat tamponlu salin (PBS) tampon çözeltisi ile 5 kez yıkandı. Primer antikor uygulanmasından önce nitroselüloz membranlar oda sıcaklığında 2 saat boyunca içinde %1 sığır serum albümin içeren PBS ile bloke edildi ve ardından gece boyunca OCT-1, OCT-2, OAT-3, IRS-1, VCAM-1 ve VEGF primer antikorları ile (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, Amerika Birleşik Devletleri) ile inkübe edildi. Membranlar ertesi gün PBS tampon çözeltisi ile 5 kez yıkandı ve ardından keçi anti-fare (Abcam, Cambridge, İngiltere) sekonder antikoru (1: 1000 seyreltilmiş) ile 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. PBS tampon çözeltisi ile 5 kez yıkandıktan sonra %3'lük H_2O_2 içeren di-amino-benzantrasen (DAB) solüsyonuyla blotlama işlemi sonlandırıldı. Protein seviyeleri, bir görüntü analiz sistemi (Image J; National Institute of Health, Bethesda, MD, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak dansitometrik olarak analiz edildi, β-aktin blotları üzerinde belirlenen değerlerle doğrulandı ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında % nispi değerler olarak ifade edildi.

İstatistiksel Analiz: Çalışmada analizlerin değerlendirilmesinde SPPS istatistik paket programı (IBM SPSS Versiyon 22.0) kullanılmıştır (34). Veriler için parametrik testlerin ön şartlarından varyansların homojenliği "Levene" testi ile kontrol edilirken, normallik varsayımına ise "Shapiro-Wilk" testi ile bakıldı. Gruplar arası farklılıkları belirlemek için tek yönlü ANOVA prosedürü kullanılarak yapıldı. Değişkenler ortalama ± standart hata olarak gösterildi. Daha sonra çoklu karşılaştırmalar için Tukey post hoc testi kullanıldı. İstatiksel anlamlı farklılık için sınır değer 0.05 olarak kabul edildi.

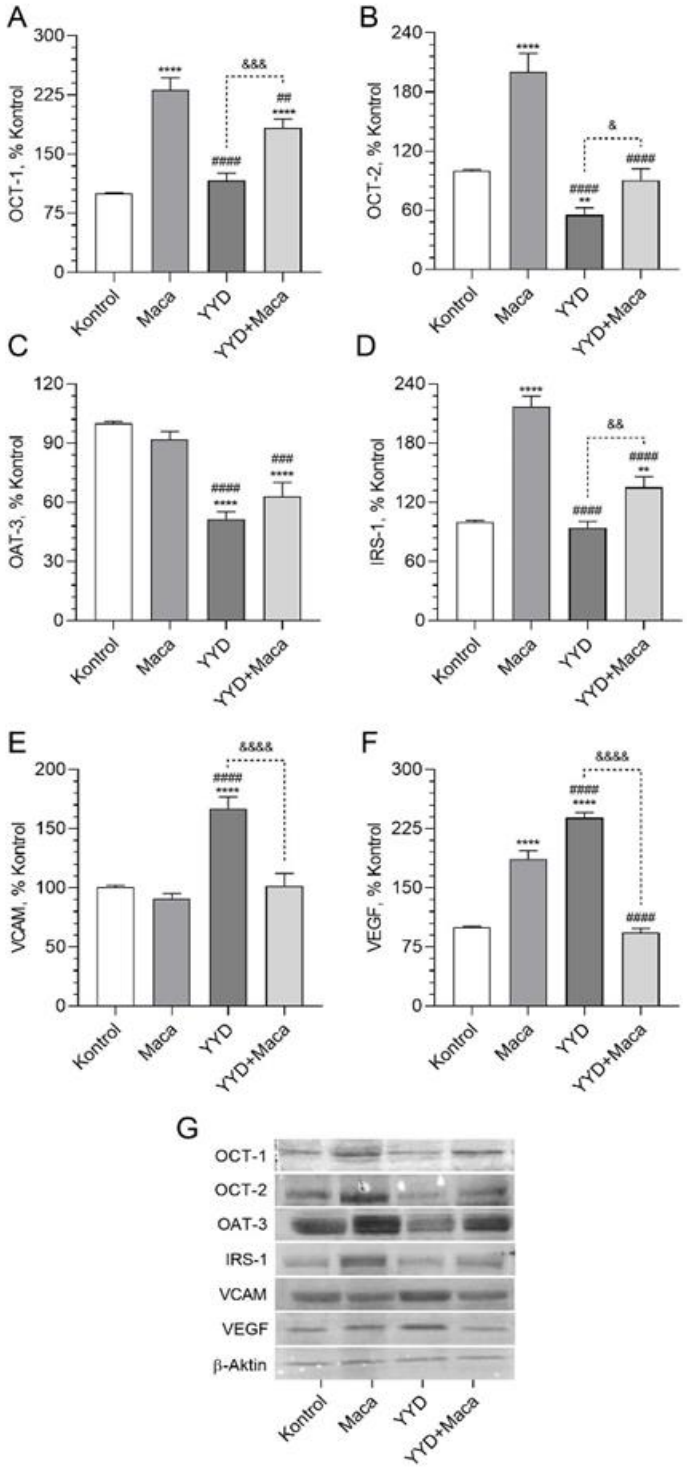
Bulgular

Böbrek OCT-1, OCT-2, OAT-3, IRS-1, VCAM-1 ve VEGF seviyeleri Şekil 1'de (A–G) gösterilmiştir.

Bu çalışmada, böbrek OCT-1, OCT-2 ve IRS-1 protein düzeyleri, gruplar arasında farklılık göstermektedir (Şekil 1, Panel A; $P<0.0001$, Panel B; $P<0.05$, Panel D; $P<0.0001$). YYD grubu sıçanlarda böbrek OCT-1, OCT-2 ve IRS-1 protein düzeyleri kontrol grubuyla kıyaslandığında OCT-1 ve IRS-1 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($P>0.05$), OCT-2 protein düzeyi ise 0.5 kat azalmıştır ($P<0.05$). YYD+maca grubu ile YYD grubu kıyaslandığında OCT-1, OCT-2 ve IRS-1 protein düzeylerinde sırasıyla %57.2, %63.9 ve %43.1 oranında artış göstermiştir (Şekil 1, Panel A; $P<0.0001$, Panel B; $P<0.05$, Panel D; $P<0.001$).

YYD ile beslenen sıçanların böbrek dokusunda OAT-3 protein düzeyi, bazal diyet ile beslenen kontrol grubuna göre %48.4 oranında azalma göstermiştir (Şekil 1, Panel C; $P<0.0001$). YYD gurubu ile YYD+maca takviye edilen sıçanların böbrek dokusu OAT-3 protein düzeyi kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunmadığı (Şekil 1, Panel C; $P>0.05$) gözlemlenmiştir. Kontrol grubu ile maca grubu kıyaslandığında OAT-3 protein düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken (Şekil 1, Panel C; $P>0.05$), YYD+maca grubundaki sıçanların böbrek dokusu OAT-3 düzeyi karşılaştırıldığında ise %36.9 oranında azalma göstermiştir (Şekil 1, Panel C; $P<0.0001$).

YYD tüketimine bağlı olarak böbrek VCAM-1 ve VEGF protein düzeylerinde 1.6 ve 2.3 kat yükseliş tespit edilmiştir (Şekil 1, Panel E; $P<0.0001$, Panel F; $P<0.0001$). Bazal diyet ile beslenen sıçanların böbrek dokusu VCAM-1 ve VEGF düzeyleri, YYD+maca grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0.05$). YYD gurubu ile YYD+maca uygulanan grubun böbrek dokusu VCAM-1 ve VEGF protein düzeyleri kıyaslandığında sırasıyla %39.8 ve %60.9 oranında bir düşüş gözlemlenmiştir (Şekil 1, Panel E; $P<0.0001$, Panel F; $P<0.0001$).



Şekil 1. Yüksek yağlı diyet (YYD) ile beslenen sıçanlarda Maca'nın böbrek dokusu organik katyon taşıyıcı-1 (OCT-1; Panel A), organik katyon taşıyıcı-2 (OCT-2; Panel B), organik anyon taşıyıcıları-3 (OAT-3; Panel C), insülin reseptör substrat-1 (IRS-1; Panel D), vasküler adezyon molekülü-1 (VCAM-1; Panel E) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF; Panel F) protein düzeyleri üzerine etkisii ve Western blot bant görüntüleri (Panel G). Veriler, bantların dansitesine göre kontrolün yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Western blot tekniği ile ölçülen parametre için blotlar en az 3 kez tekrarlandı, eşit miktarda protein yüklemesini sağlamak için β-aktin ile analiz yapıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık; kontrol grubu ile karşılaştırmada: * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, **** P<0.0001; Maca grubu ile karşılaştırmada: # P<0.05, ## P<0.01, ### P<0.001, #### P<0.0001; YYD grubu ile karşılaştırmada $^{\&}$ P<0.05, $^{\&\&}$ P<0.01, $^{\&\&\&}$ P<0.001, $^{\&\&\&\&}$ P<0.0001 şeklindedir (Tukey *post-hoc* test, P<0.05).

Tartışma

Oksidatif stres, artan lipid seviyeleri ve glikoz metabolizmasındaki bozukluklar; diyabet, obezite, kardiyovasküler ve onkolojik hastalıklar ve diğer birçok hastalık için önemli risk faktörlerindedir. Diyet müdahaleleri, bu bozukluklara karşı kilit bir rol oynamaktadır. Meyve ve sebzeler, antioksidanlar da dahil olmak üzere biyolojik olarak aktif maddelerden zengin kaynaklardır. Meyve ve sebzelerden zengin bir diyet, yaşam tarzına bağlı hastalıkların görülme sıklığını azaltmada olumlu bir etkiye sahiptir (35). And bölgesine özgü *Lepidium meyenii* (Maca); yorgunluk giderici, antioksidan, nöroprotektif, hepatoprotektif, antiviral, anti-mikrobiyal, antikanserojen, bağışıklık düzenleyici ve cinsel sağlığı iyileştirici birçok biyolojik özelliğe sahip olduğu yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (36). Maca; niasin, tiamin, riboflavin, çinko, manganez, bakır ve demir açısından zengin bir besin kaynağıdır ve sağlıklı beslenmede fayda sağlayabilecek macamidler gibi biyoaktif bileşikler içerir (21, 36). Maca takviyesinin, yüksek yağlı ve yüksek karbonhidratlı diyetlerle beslenen kemirgenlerde glikoliz/glukoneogenez-TCA döngüsü ve PPAR-alfa sinyal aktivasyonunu düzenleyerek lipid ve glukoz metabolizması bozukluklarını önlediği bildirilmiştir (37). İnsan ve hayvan çalışmalarından elde edilen kanıtlar, YYD tüketiminin ve obezitenin neden olduğu böbrek hastalığının sistemik oksidatif stres ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. YYD ile indüklenen insüline dirençli sıçanlarda yapılan çalışmalar, böbrekte artmış malondialdehit seviyesi ve azalmış süperoksit dismutaz aktivitesinin masif proteinüri ve ciddi renal filtrasyon bariyeri hasarı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (38). Bu çalışmada; YYD ile beslenen deney gruplarında böbrek OCT-1, OCT-2, OAT-3, IRS-1, VCAM-1 ve VEGF seviyeleri üzerine macanın etkinliği incelenmiştir. Düzenli şekilde YYD ile beslenme sonucunda OCT-2, OAT-3, VCAM-1 ve VEGF proteinlerninin etkilendiği gözlenmiştir. Standart ve YYD ile beslenmeye ek olarak uyguladığımız maca kök ekstrakt takviyesi YYD ile beslenen grubun böbrek dokusunda, OAT-3 düzeyini etkilemezken, OCT-1 ve IRS-1 düzeylerini arttırdığı, OCT-2, VCAM-1 ve VEGF düzeylerini ise azaltarak onarıcı etki gösterdiği belirlenmiştir.

Organik katyon taşıyıcıları SLC ailesine aittir; bunlar arasında OCT-1, OCT-2, OCT-3 ve MATE-1 böbrekte bol miktarda bulunur. İnsan OCT-1 ve OCT-2 sırasıyla karaciğer ve böbrekte yüksek oranda eksprese edilirken, OCT-3 birçok dokuda düşük seviyede eksprese edilir (39). Bunlar endojen organik katyonların, toksinlerin ve ilaçların böbrekteki içe ve dışa akışını düzenlerler (40). Renal atılım; glomerüler filtrasyon, tübüler sekresyon ve yeniden emilim olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Tübüler sekresyonla ilgili ana taşıyıcı, bazolateral membranda bulunan OCT-2'dir (40). Ayrıca OCT-1 de bazolateral membran ve distal tübüllerde lokalize olmakta ve OCT-2 ile benzer etkiler göstermektedir (41). Çalışmamızda YYD ile beslenme sonucunda düzeyleri azalan OCT-1 ve OCT-2 seviyelerinin maca ilavesi ile yükseldiği gözlenmiştir. Elde edilen bu bulgular, macanın vücuttaki toksik maddelerin detoksifikasyonuna ilişkin önemli ipuçları verebilir.

OAT-3, vücutta ilaç detoksifikasyonunun ana yollarından biri olan organik anyon maddelerinin elimine edilmesinde önemli bir rol oynar. OAT-3 böbrek, karaciğer, koroid pleksus, koku mukozası, beyin, retina ve plasenta dahil olmak üzere birçok dokudan eksprese edilir (42). Renal OAT-3 değişikliğinin hayvan modelindeki kan basıncını da etkilediği görülmektedir. OAT-3'ün proksimal tübüler hücrelerin bazolateral membranında ekspresyonu, protein kinaz C tarafından düzenlenir (43). Bu araştırmadaki verilerle uyumlu olarak önceki çalışmalarda, tip 1 diyabet ve gentamisin kaynaklı nefrotoksisitede renal OAT-3 fonksiyonunun aşağı regülasyonu ve ekspresyonunun oksidatif stres kaynaklı olduğunu açıkça göstermiştir. Artan kanıtlar, metabolik bozukluğun OAT-3 işlevini değiştirebileceğini ve bağırsak-karaciğer böbrek ekseni boyunca anahtar metabolitleri ve sinyal moleküllerini düzenleyerek veya modüle ederek birkaç organın işlevini etkileyebileceğini göstermiştir (9). Mevcut çalışmamızda da YYD tüketiminin, kontrol grubuna kıyasla OAT-3 seviyelerinde anlamlı bir azalış sağladığı, bununla birlikte YYD+Maca grubunda ise belirgin bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Yağ dokusu, lipid salgılanması ve depolanması gibi görevlerine ek olarak, önemli bir endokrin organ olarak da görev yapar (44). İnsülin, pankreastan salgılanan, glikozun hücrelere (beyin hariç) girmesine izin veren, çoğunu karaciğerde depolayan ve IRS olarak bilinen da hücre içi substrat proteinlerinin tirozin fosforilasyonunu sağlayan bir polipeptit hormondur (19). IRS-1, kaslarda ve yağ dokularında glikoz taşınmasını uyaran ve insülin sinyalleşmesinde rol oynayan önemli bir proteindir (45). Çalışmamızda IRS-1 düzeyleri Maca grubunda en yüksek ve en düşük düzeyler ise YYD gruplarında gözlendi. Ayrıca, bu araştırmada, YYD+Maca grubu ile karşılaştırıldığında, YYD grubundaki sıçanlarda IRS-1'in azaldığı gözlendi. Bu veriler ışığında YYD ile beslenmenin hedef organ düzeyinde metabolik etkileri üzerine önemli fikirler vermektedir. Macanın iyileştirici etkilerine IRS-1'in katkıda bulunduğu ortaya çıkmaktadır. İyileştirilmiş glisemik kontrol, artan IRS-1 ekspresyonu ile ilişkili bulunmuş ve IRS-1'in insülin sinyalleşmesindeki anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (46). YYD ile beslenen sıçanlara maca uygulamasının, IRS-1'in artan ekspresyonu ve insülin sinyal iletiminin iyileştirilmesi ile ilişkili olarak hiperlipidemi üzerinde olumlu bir etki sağladığı düşünülebilir.

Obezite ile ilişkili diyabetik böbrek hasarının altında yatan mekanizmaların tam olarak anlaşılmamış olmasına rağmen, ektopik renal lipid birikiminin, makrofaj infiltrasyonunu içeren inflamasyonun VCAM-1 aracılığıyla böbrekte etkili olduğu gösterilmiştir (47). Bununla birlikte bu çalışmada YYD ile artan VCAM-1 düzeylerinin 60 günlük Maca uygulaması ile azaldığı gözlenmiştir ve bu durumun da inflamatuvar süreci hafifletebileceği düşünülebilir.

VEGF, hiperglisemi gibi stres koşulları altında yüksek düzeyde eksprese edilir (48). Güçlü bir

anjiyojenik ve proinflamatuar faktör olan VEGF, YYD ile beslenen diyabetik sıçanların retina ve vitreusunda yükselmiştir ve bu durum retinopati ile ilişkilendirilmektedir. Bir *in vitro* çalışmada, Muller hücrelerindeki VEGF düzeyinin, yüksek glukoz konsantrasyonlarında anjiyojenik uyarıcılar ve inhibitörler arasında bir dengesizliğe yol açtığı ve diyabetik retinopatide neovaskülarizasyonu arttırabileceği görülmüştür (49). Ayrıca artmış VEGF düzeyleri anjiyogenez ve vasküler geçirgenliği indükleyerek böbrek hasarı ile de sonuçlanabilir. Wang ve ark. yaptıkları çalışmada, böbrek dokusunda kontrol grubuna kıyasla YYD/STZ gruplarında VEGF ve VEGFR2'nin protein ekspresyon seviyelerinde artış bulunduğunu bildirmişlerdir (21). Bu çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik arz eden çalışmamızda YYD uygulamasıyla kontrol grubuna göre belirgin şekilde VEGF artış gözlenirken maca ilavesi yapılan grupta VEGF düzeyinde anlamlı bir azalış bulunmuştur.

Modern dünyanın önemli problemlerinden biri olmaya devam eden obezitenin önemli sebeplerinden birinin YYD ile beslenme olduğu bilinmektedir. Vücudun temel fonksiyonlarının devamı için gerekli organlardan biri olan böbrek dokusu YYD etkisiyle zarar görmektedir. Mevcut çalışmada OCT-2, VCAM-1 ve VEGF moleküler parametreleri üzerinde olumlu etkisi olan koruyucu bir besin alternatifi olan Maca kökü ekstresinin etkinliğinin daha sonraki çalışmalar için umut verici bir şekilde faydalı olduğu söylenebilir.

Kaynaklar

1. Rokholm B, Baker JL, Sorensen TI. The levelling off of the obesity epidemic since the year 1999–a review of evidence and perspectives. Obes Rev 2010; 11: 835-846.
2. van der Heijden RA, Sheedfar F, Morrison MC, et al. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. Aging 2015; 7: 256-268.
3. Dalby MJ, Aviello G, Ross AW, et al. Diet induced obesity is independent of metabolic endotoxemia and TLR4 signalling, but markedly increases hypothalamic expression of the acute phase protein, SerpinA3N. Sci Rep 2018; 8: 15648.
4. Lang P, Hasselwander S, Li H, Xia N. Effects of different diets used in diet-induced obesity models on insulin resistance and vascular dysfunction in C57BL/6 mice. Sci Rep 2019; 9: 1-14.
5. Kanthe PS, Patil BS, Das KK. Terminalia arjuna supplementation ameliorates high fat diet-induced oxidative stress in nephrotoxic rats. J Basic Clin Physiol Pharmacol 2021: 1-9.
6. Sahin K, Kucuk O, Orhan C, et al. Effects of supplementing different chromium histidinate complexes on glucose and lipid metabolism and related protein expressions in rats fed a high-fat diet. J Trace Elem Med Biol 2021; 65: 126723.
7. Salim HM, Kurnia LF, Bintarti TW, Handayani H. The effects of high-fat diet on histological changes of kidneys in rats. Biomol Health Sci J 2018; 1: 109-112.
8. Muller CR, Leite AP, Yokota R, et al. Post-weaning exposure to high-fat diet induces kidney lipotoxicity in Adult rats. Front Nutr 2019; 6: 60.
9. Jaikumkao K, Pongchaidecha A, Chueakula N, et al. Renal outcomes with sodium glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor, dapagliflozin, in obese insulin-resistant model. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis 2018; 1864: 2021-2033.
10. Gai Z, Visentin M, Hiller C, et al. Organic cation transporter 2 overexpression may confer an ıncreased risk of Gentamicin-ınduced nephrotoxicity. Antimicrob Agents Chemother 2016; 60: 5573-5580.
11. Nies AT, Koepsell H, Winter S, et al. Expression of organic cation transporters OCT1 (SLC22A1) and OCT3 (SLC22A3) is affected by genetic factors and cholestasis in human liver. Hepatology 2009; 50: 1227-1240.
12. Koepsell H. Organic cation transporters in health and disease. Pharmacol Rev 2020; 72: 253-319.
13. Motohashi H, Sakurai Y, Saito H, et al. Gene expression levels and immunolocalization of organic ion transporters in the human kidney. J Am Soc Nephrol 2002; 13: 866-874.
14. Aperia AC. Intrarenal dopamine: A key signal in the interactive regulation of sodium metabolism. Annu Rev Physiol 2000; 62: 621-647.
15. Kim BH, Lee ES, Choi R, et al. Protective effects of curcumin on renal oxidative stress and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetic nephropathy. Yonsei Med J 2016; 57: 664-673.
16. Pengrattanachot N, Cherngwelling R, Jaikumkao K, et al. Atorvastatin attenuates obese-induced kidney injury and impaired renal organic anion transporter 3 function through inhibition of oxidative stress and inflammation. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis 2020; 1866: 165741.
17. Lee SH, Lee HJ, Lee YH, et al. Korean red ginseng (Panax ginseng) improves insulin sensitivity in high fat fed Sprague-Dawley rats. Phytother Res 2012; 26: 142-147.
18. Gu JJ, Gao FY, Zhao TY. A preliminary investigation of the mechanisms underlying the effect of berberine in preventing high-fat diet-induced insulin resistance in rats. J Physiol Pharmacol 2012; 63: 505-513.
19. Peng J, He L. IRS posttranslational modifications in regulating insulin signaling. J Mol Endocrinol 2018; 60: R1-R8.
20. Nakagawa T, Tanabe K, Croker BP, et al. Endothelial dysfunction as a potential contributor in diabetic nephropathy. Nat Rev Nephrol 2011; 7(1): 36-44.
21. Wang Y, Lu YH, Tang C, et al. Calcium dobesilate restores autophagy by ınhibiting the VEGF/PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. Front Pharmacol 2019; 10: 886.
22. Azzini E, Giacometti J, Russo GL. Antioxidant phytochemicals at the pharma-nutrition ınterface. Oxid Med Cell Longev 2017; 2017: 6986143.
23. Ramalingum N, Mahomoodally MF. The Therapeutic potential of medicinal foods. Adv Pharmacol Sci 2014; 2014.

24. Gencoglu H, Orhan C, Sahin K. Phytochemical therapies in vascular functioning: a molecular approach. Curr Vasc Pharmacol 2017; 15: 327-338

25. Hao L, Tian A, Zhang L, et al. Optimization of polyphenols extraction from Maca (Lepidium Meyenii) leaves by response surface methodology. J Chin Inst Food Sci Technol 2014; 14(12): 86-93.

26. Vecera R, Orolin J, Kottová N, et al. The influence of Maca (Lepidium meyenii) on antioxidant status, lipid and glucose metabolism in rat. Plant Foods Hum Nutr 2007; 62: 59-63.

27. Sun Y, Dai C, Shi S, et al. Composition analysis and antioxidant activity of essential oils, lipids and polysaccharides in different phenotypes of Lepidium meyenii. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2018; 1099: 25-33.

28. Li A, Liu J, Ding F, et al. Maca extracts regulate glucose and lipid metabolism in insulin-resistant HepG2 cells via the PI3K/AKT signalling pathway. Food Sci Nutr 2021; 9: 2894-2907.

29. Pino-Figueroa A, Nguyen D, Maher TJ. Neuroprotective effects of Lepidium meyenii (Maca). Ann N Y Acad Sci 2010; 1199: 77-85.

30. Orhan C, Sahin N, Tuzcu Z, Komorowski JR, Sahin K. Combined oral supplementation of chromium picolinate, docosahexaenoic acid, and boron enhances neuroprotection in rats fed a high-fat diet. Turk J Med Sci 2017; 47: 1616-1625.

31. Li J, Chen L, Li J, et al. The composition analysis of Maca (Lepidium meyenii Walp.) from Xinjiang and its antifatigue activity. J Food Qual 2017; 2017: 1-7.

32. Vásquez-Velásquez C, Gasco M, Fano-Sizgorich D, Gonzales GF. Inflammatory pathway employed by Red Maca to treat induced benign prostatic hyperplasia in rats. Andrologia 2020; 52: e13516.

33. Gencoglu H, Tuzcu M, Hayirli A, Sahin K. Protective effects of resveratrol against streptozotocin-induced diabetes in rats by modulation of visfatin/sirtuin-1 pathway and glucose transporters. Int J Food Sci Nutr 2015; 66: 314-320.

34. Hair JF, Black WC, Babin BJ, et al. Multivariate Data Analysis. 7th Edition, Prentice Hall: Pearson Education Upper Saddle River, 2014.

35. van der Schouw YT, Kreijkamp-Kaspers S, Peeters PH, et al. Prospective study on usual dietary phytoestrogen intake and cardiovascular disease risk in Western women. Circulation 2005; 111: 465-471.

36. da Silva Leitão Peres N, Cabrera Parra Bortoluzzi L, Medeiros Marques LL, et al. Medicinal effects of Peruvian maca (Lepidium meyenii): a review. Food Funct 2020; 11: 83-92.

37. Wan W, Li H, Xiang J, et al. Aqueous extract of black maca prevents metabolism disorder via regulating the glycolysis/gluconeogenesis-TCA cycle and PPARα signaling activation in golden hamsters fed a high-fat, high-fructose diet. Front Pharmacol 2018; 9: 333.

38. Pan QR, Ren YL, Zhu JJ, et al. Resveratrol increases nephrin and podocin expression and alleviates renal damage in rats fed a high-fat diet. Nutrients 2014; 6: 2619-2631.

39. Wongwan T, Chatsudthipong V, Soodvilai S. Farnesoid x receptor activation stimulates organic cations transport in human renal proximal tubular cells. Int J Mol Sci 2020; 21: 6078.

40. Arruda AC, Perilhão MS, Santos WA, et al. PPARα-Dependent modulation by metformin of the expression of OCT-2 and MATE-1 in the kidney of mice. Molecules 2020; 25: 1-9.

41. Zhou S, Zeng S, Shu Y. Drug-drug interactions at organic cation transporter 1. Front Pharmacol 2021; 12: 628705.

42. Habu Y, Yano I, Okuda M, Fukatsu A, Inui K. Restored expression and activity of organic ion transporters rOAT1, rOAT3 and rOCT2 after hyperuricemia in the rat kidney. Biochem Pharmacol 2005; 69: 993-999.

43. Saito H. Pathophysiological regulation of renal SLC22A organic ion transporters in acute kidney injury: pharmacological and toxicological implications. Pharmacol Ther 2010; 125: 79-91.

44. Erten M. Visfatin as a promising marker of cardiometabolic risk. Acta Cardiol Sin 2021; 37: 464-472.

45. Adeghate E, Saeed Z, D'Souza C, et al. Effect of nociceptin on insulin release in normal and diabetic rat pancreas. Cell Tissue Res 2018; 374: 517-529.

46. Cheatham B, Kahn CR. Insulin action and the insulin signaling network. Endocrine Reviews 1995; 16: 117-142.

47. Huang J, Rajapakse A, Xiong Y, et al. Genetic targeting of arginase-II in mouse prevents renal oxidative stress and ınflammation in diet-ınduced obesity. Front Physiol 2016; 7: 1-10.

48. Hiratsuka S, Maru Y, Okada A, et al. Involvement of Flt-1 tyrosine kinase (vascular endothelial growth factor receptor-1) in pathological angiogenesis. Cancer Res 2001; 61: 1207-1213.

49. Orhan C, Akdemir F, Tuzcu M, et al. Mesozeaxanthin protects retina from oxidative stress in a rat model. J Ocul Pharmacol Ther 2016; 32: 631-637.