

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ * SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

79812

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ İZOLE SIÇAN
TORASİK AORTASINDA AGONİSTLERE KARŞI VASKÜLER
DÜZ KASIN VERDİĞİ YANITLARIN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARAŞ. GÖR. ECZ. ESİN GÖLDELİ

79812

Anabilim Dalı : FARMAKOLOJİ

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

TEMMUZ 1997

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ * SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ İZOLE SIÇAN
TORASİK AORTASINDA AGONİSTLERE KARŞI VASKÜLER
DÜZ KASIN VERDİĞİ YANITLARIN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ARAŞ. GÖR. ECZ. ESİN GÖLDELİ**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 8 Temmuz 1997
Tezin Savunulduğu Tarih : 29 Temmuz 1997**

**Başkan
Doç. Dr. Nejat Gacar**

(.....)

**Üye
Prof. Dr. Güner Ulak**

(.....)

**Üye
Doç.Dr. Berrin Çetinarslan**

(.....)

**Üye
Yrd.Doç.Dr. Tijen Utkan**

(.....)

**Üye
Yrd.Doç.Dr. Faruk Erden**

(.....)

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

TEMMUZ 1997

ÖZET

Diyabetes mellitusun vasküler reaktivitede değişiklik meydana getirdiği bilinmektedir. Bu alışmada İV streptozotosin (STZ, 50 mg kg⁻¹) injeksiyonu ile diyabetik hale getirilmiş 8 haftalık diyabetik ve kontrol grubu sıçan torasik aortalarının vazodilatatör ve vazokonstriktör maddelere karşı endotele-bağımlı ve endotelden bağımsız yanıtları incelendi. Fenilefrin ile önceden kastırılmış diyabetik aorta halkalarında asetilkolinin (ACh, 10⁻⁸-3.10⁻⁶M) endotele bağımlı gevşeme yanıtlarının kontrollerine göre anlamlı olarak azaldığı, EC₅₀ değerinin istatistiksel olarak anlamlı olarak değişmediği; sodyum nitroprusidın (SNP, 10⁻¹⁰-10⁻⁵M) endotelden bağımsız gevşeme yanıtlarının ve EC₅₀ değerinin kontrollerine göre anlamlı olarak değişmediği saptandı. Endotelin-1 (ET-1, 10⁻¹¹-10⁻⁸M) ve serotonin (5-HT, 10⁻⁸-10⁻⁴M) kasılma yanıtlarının hem endoteli sağlam hem de endoteli tahrip edilmiş diyabetik aorta halkalarında kontrollerine göre anlamlı olarak azaldığı, EC₅₀ değerlerinin ise anlamlı olarak arttığı saptandı. Diyabetik ve kontrol dokuların KCl kasılma yanıtlarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Sonuç olarak; diyabette damar düz kasının reaktivitesinde değişme saptandı. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, STZ diyabetik sıçanlarda ET-1 ve serotonine karşı azalmış yanıtlar ekstrasellüler kalsiyuma bağlı olmayıp, reseptörlerin down regülasyonuna veya sürekli reseptör işgaline veya intrasellüler kalsiyum mobilizasyonunun azalmasına bağlı olabilir. Endotele bağımlı gevşeme yanıtlarından ise azalmış NO üretimi ve/veya salıverilmesi sorumlu olabilir.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is known to produce alteration in vascular reactivity. The present study investigated the responsiveness of endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilator and vasoconstrictor substances on thoracic aorta from rats with 8-week streptozotocin (STZ, 50mg kg⁻¹,i.v.) -induced diabetes and vehicle-treated control rats. Endothelium-dependent relaxation induced by acetylcholine (ACh, 10⁻⁸- 3.10⁻⁶M) in aortic rings precontracted with phenylephrine was significantly attenuated in diabetic rings but the endothelium-independent relaxations produced by sodium nitroprusside (SNP, 10⁻¹⁰- 10⁻⁵M) in diabetic preparations were not changed when compared to corresponding controls. There were no significant changes in the EC₅₀ values calculated by sodium nitroprusside-induced relaxations of endothelium-intact and -denuded aortae from STZ-diabetic rats compared with controls. Maximum responses to endothelin-1 (ET-1, 10⁻¹¹-10⁻⁸M) and serotonin (5-HT, 10⁻⁸-10⁻⁴M) were reduced in aorta from STZ-diabetic rats compared to those from control rats and EC50 values increased significantly. Maximum contractions to KCl were no significant differences between diabetic and control tissue.

As a result, it has been observed that there is an alternation the vascular reactivity of vascular smooth muscle in diabetes mellitus. According to our data, reduced maximum responsiveness to ET-1 and serotonin in STZ diabetic rats were not dependent on extracellular calcium, but may be due to impairment of down-regulation of receptors or continuously receptor occupation or diminishing intracellular calcium mobilization of intracellular calcium stores. Reducing in NO production and/or releasing of NO may be responsible for diminished vasodilating reactivity depend on endothelium.

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimimde büyük emeği geçen Sn. Doç. Dr. Mehmet Nejat Gacar'a ve Sn. Prof. Dr. Güner Ulak'a, tezimin hazırlanmasında bana yön veren ve yakın ilgi gösteren Sn. Yrd. Dr. Doç. Tijen Utkan'a, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nın tüm laboratuvar olanaklarını bize açan Sn. Prof. Dr. Gül Ayanoğlu Dülger'e ve Sn. Prof. Dr. Meral Keyer Uysal'a, büyük dostluk ve kardeşlik duygularını paylaştığımız Öğretim Üyesi ve Araştırma Görevlisi arkadaşlara, çalışmalarımın eksiksiz ve aksamadan ilerlemesinde verdikleri destek ve gösterdikleri hassasiyetten ötürü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Doç. Dr. Gökhan Akkan'a, sevgili arkadaşlarıma ve tez çalışmalarım süresince gösterdikleri anlayıştan ötürü aileme içtenlikle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
BÖLÜM 1. GİRİŞ	1
BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Damarın Yapısı ve Fonksiyonu	4
2.2. Endotel	5
2.3. Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör	5
2.3.1. Nitrik Oksidin Yapısı Sentezi Salınımı	9
2.3.2. Patolojik Nitrik Oksit Salıverilmesi	11
2.4. Serotonin	12
2.4.1. Serotonin Reseptörleri	14
2.4.2. Serotoninin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri	16
2.5. Endotelinler	19
2.5.1. Endotelin Reseptörleri	20
2.5.2. Endotelinin Etki Mekanizmaları	21
2.5.3. Endotelinin Farmakolojik Etkileri	22
2.5.4. Endotelinin Klinikteki Rolü	23
2.6. Diyabetes Mellitus	24
2.6.1. Diyabetes Mellitus'un Neden Olduğu Komplikasyonlar	25
2.6.2. Diyabette Vasküler Disfonksiyonu Oluşturan Moleküler Mekanizmalar	27

BÖLÜM 3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	36
3.1. Deneysel Diyabet Oluşturulması	36
3.2. İzole Arter Preparatlarının İnvitro Deneylere Hazırlanması	36
3.3. İzole Arter Halkalarının Çeşitli Agonistlere Verdiği Yanıtların İzlenmesi	37
3.3.1. Agonistlere Bağlı Kasılma Yanıtları	37
3.3.2. Agonistlere Bağlı Gevşeme Yanıtları	38
3.4. Deneylerde Kullanılan Besleyici Solüsyon ve İlaçlar	38
3.5. Glukoz Ölçüm Tekniği	38
3.6. Deneysel Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve İstatistik	39
BÖLÜM 4. BULGULAR.....	40
4.1. KCl Kasılma Yanıtları	40
4.2. Endotelin-1 Kasılma Yanıtları	40
4.3. Serotonin Kasılma Yanıtları	41
4.4. Asetilkolin Gevşeme Yanıtları	41
4.5. Sodyum Nitroprusiyat Gevşeme Yanıtları	41
BÖLÜM 5. TARTIŞMA.....	48
KAYNAKLAR.....	54
EK 1.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	71

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

5-HT	: Serotonin
AA	: Araşidonik Asit
ACh	: Asetil Kolin
ADP	: Adenozin Difosfat
AGE	: İlerlemiş Glikozilasyon Son Ürünü
ATP	: Adenozin Trifosfat
BH ₄	: Tetrahidrobiopterin
CaM	: Kalmodulin
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
ceNOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz (Bazal)
cGMP	: Siklik Guanozin 3', 5' Monofosfat
cNOS	: Bazal Nitrik Oksit Sentaz
DAG	: Diasilgliserol
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EC ₅₀	: Etkin İlaç Konsantrasyonu
ECDF	: Endotel Kaynaklı Kasıcı Faktör
EDHF	: Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör
EDNO	: Endotel Kaynaklı Nitrik Oksit
EDRF	: Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
ET-1	: Endotelin 1
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	: Flavin Mononükleotid
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
IgE	: İmmunoglobulin E
IL-1	: İnterlökin-1
iNOS	: İndüklenebilen Nitrik Oksit Sentaz (Patolojik)
İP ₃	: İnozitol Trifosfat
İP ₄	: İnozitol tetrafosfat
İV	: İntravenöz

LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
L-NMMA	: N ^G - Monometil- L- Arginin
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (Bazal)
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
O ₂ ⁻	: Süperoksit Anyon
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PGF _{2α}	: Prostaglandin F _{2α}
PGG ₂	: Prostaglandin G ₂
PGH ₂	: Prostaglandin H ₂
PGI ₂	: Prostatiklin
PKC	: Protein kinaz C
PIP ₂	: Fosfoinozidit
PLA ₂	: Fosfolipaz A ₂
PLC	: Fosfolipaz C (fosfoinozitidaz)
SNP	: Sodyum Nitroprussiyat
STZ	: Streptozotosin
TBA ₂	: Tromboksan A ₂
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
VP	: Vasopressin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Endotel hücrelerinden agoniste bağlı NO'in salınımının sinyal transdükleme mekanizması.....	6
Şekil 2.2. Damar düz kasının kasılma ve gevşemesinde rol oynayan mediyatörler.....	8
Şekil 2.3. Serotonin sentez ve metabolizması.....	13
Şekil 2.4. Trombositlerden serotonin salınımının lokal etkileri.....	18
Şekil 2.5. Endotelin peptidlerin yapısı.....	19
Şekil 2.6. Sorbitol yolağı ve redoks potansiyelinin hücresel fonksiyonlar üzerine etkisi.....	28
Şekil 2.7. Hiperglisemide endotel disfonksiyonun gelişiminde olası mekanizmalar.....	29
Şekil 4.1. Endoteli sağlam ve endoteli tahrip edilmiş izole sıçan torasik aorta halkalarında 80 mM KCl kasılma yanıtları.....	43
Şekil 4.2. Endoteli sağlam ve endoteli tahrip edilmiş izole sıçan torasik aorta halkalarında endotelin-1 konsantrasyon-yanıt eğrileri.....	44
Şekil 4.3. Endoteli sağlam ve endoteli tahrip edilmiş izole sıçan torasik aorta halkalarında serotonin konsantrasyon-yanıt eğrileri.....	45
Şekil 4.4. 10^{-6} M fenilefrinle kastırılmış izole sıçan torasik aorta halkalarında asetilkolin konsantrasyon-yanıt eğrileri.....	46
Şekil 4.5. 10^{-6} M fenilefrinle kastırılmış endoteli sağlam ve endoteli tahrip edilmiş izole sıçan torasik aorta halkalarında sodyum nitroprussiyat konsantrasyon-yanıt eğrileri.....	47

TABLORAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Serotonin Reseptörlerinin Fizyolojik Etkileri.....	15
Tablo 2.2. Endotelin Reseptörlerinin Etkiledikleri Dokular ve Afiniteleri.....	21
Tablo 4.1. Kontrol ve diyabetik sıçanların vücut ağırlığı, aortik halka ağırlığı ve serum glukoz değerleri.....	42
Tablo 4.2. Endotelin-1 ve serotonin EC ₅₀ (M) değerleri.....	42
Tablo 4.3. Asetilkolin ve nitroprussiyat EC ₅₀ değerleri (M).....	42

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Diyabetes mellitus, lipid ve protein metabolizma bozukluğunun eşlik ettiği insülin eksikliği sendromudur (1-3). Oluşan metabolizma bozukluğu zamanla vasküler, somatik ve otonom sistemde bozukluklara neden olur. Vasküler bozukluklar, sıklıkla böbrek ve retina başta olmak üzere çeşitli dokularda kapiller damarlar ve arterioller gibi küçük damarlar düzeyinde gelişen mikroanjiyopati şeklinde yada aterosklerozun hızlanması sonucu gelişen makroanjiyopatiler şeklindedir. Hastalığın ileri dönemlerinde kardiyovasküler sistemin ateroskleroza maruz kalmasıyla gelişen arteriosklerotik aortik anevrizma teşekkülü, intraserebral hemoraji, myokard yetmezliği, renal arterioskleroz, beyin infarktı ile beraber oluşabilen ateroskleroz, periferik arter hastalığı ve gangren, koroner arter hastalığı gibi komplikasyonların diyabetik morbidite ve mortaliteden sorumlu tutulduğu bilinmektedir (4,5,6). Diyabetik popülasyonda ölümlerin %75'inden makrovasküler değişiklikler sorumlu tutulmaktadır. Diyabetli hastalarda büyük damarlara ait değişiklikler, sağlam bireylere göre daha erken yaşlarda başlar, daha sık görülür ve çabuk ilerler. Diyabetiklerde büyük damar hastalığı ve komplikasyonların gelişme sıklığı ise diyabetik olmayanlara göre en az 2-3 misli daha fazladır .

Damarların intima tabakasında yer alan endotel, vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli rol oynar. Çeşitli ilaçların ve kimyasal maddelerin damarlarda oluşturduğu vazodilatasyon ve vazokonstriksiyonda, endotelden kaynaklanan gevşetici veya kısıcı faktörlerin rolü olduğu

bulunmuştur (7,8). Endotel hücrelerinden salınan endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF), prostasiklin (PGI_2), endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF) damar düz kas hücrelerini gevşetir. Endotelin-1 endotelden salınan damar düz kas hücrelerinde yavaş gelişen ve uzun süren bir kasılma meydana getiren peptid yapılı bir otakoiddir.

Sağlıklı arterlerden daha çok gevşetici faktörler salınırken, endotel hasarı olan arterlerde kasıcı faktörlerin etkileri daha belirgin hale gelir. Bu durum vazospazm, iskemi ve tromboz riskini artırır (9). Diyabetes mellituslu hastalarda ise plazma endotelin-1 düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve bu peptidin vasküler bozuklukları alevlendiren bir faktör olduğu düşünülmüştür (10). Trombositler içinde depolanan serotonin direkt etkiyle damar düz kasını büzer. Bu etkilerini damar düz kaslarının $5HT_2$ reseptörlerini aktive etmesi yanında, düz kaslarda anjiyotensin II, katekolaminler ve prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) gibi vazokonstriktör maddelerin etkilerini potansiyalize ederek oluşturur (11,12).

Trombosit agregasyonu sırasında salınan serotonin ve adenosin difosfat (ADP), EDRF salınımına neden olur. Serotonin bu etkisi $5-HT_1$ benzeri reseptörler aracılığı ile olur. Bu olay muhtemelen trombositlerin aktivasyonu sonucu salınan serotonine bağlı vazokonstriksiyonu kısmen tamponlamaktadır (13).

Diyabetik damarlarda endotel hücre disfonksiyonu olduğu gösterilmiştir (14-16). Diyabetik damarların anormal fonksiyonlarından vasküler düz kaslardaki nörotransmitterlerin ve dolaşım hormonlarının yanıtlarında ya da duyarlılıklarında gelişen değişikliklerin sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (15,16).

Yapılan bazı çalışmalarda diyabetik arterlerdeki azalmış gevşeme yanıtlarında, nitrik oksit (NO) hemostasındaki bir bozukluktan çok vasküler kontraktıl yanıtta gevşeme yanıtını baskılayacak bir artışın rolü olduğu gösterilmiştir (17).

Diyabette vasküler reaktivite ve kan damarlarının fonksiyonel özelliklerinde değişiklik meydana geldiği ve deneysel diyabetli hayvanlarda periferik vasküler sistem üzerinde vazoaktif ajanların etkilerinde değişiklikler olduğu bildirilmektedir (18-22). Ancak bu vasküler patolojinin gelişmesine yol açan nedenler tam olarak açıklanamamıştır. Diyabette adrenalin, noradrenalin gibi endojen katekolaminlerin vazokonstriktör etkilerine karşı duyarlılık meydana gelmesi vasküler hastalığın nedenlerinden biri olarak ileri sürülmüştür(23).

Aynı zamanda plazma endotelin-1 düzeyleri de anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve vazokonstriktör yanıtı potansiyalize edeceği bildirilmiştir (24).

Diyabetin ileri dönemlerinde periferik vasküler sistemin ateroskleroza maruz kalmasından dolayı trombosit agregasyonu sırasında serotonin salınımının artmasını takiben gelişen yanıtlar araştırılmaktadır.

Yukarıdaki verilerin ışığında bu çalışmada STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlar ile kontrol sıçanlardan alınan izole torasik aorta halkalarında ET-1, serotonin ve KCl gibi vazoaaktif ajanların yanıtlarının ve diyabette gözlenen vasküler hastalıkta EDRF'nin rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1.DAMARIN YAPISI VE FONKSİYONU

Arterler intima, media ve adventitia adı verilen üç tabakadan meydana gelir. En içte yer alan intima tabakasını, damarın iç yüzünü kaplayan tek sıralı endotel hücreleri oluşturur. Endotel hücrelerinin uzunluğu ortalama 25-50 Mm, eni ise 10-15 Mm olup, toplam 6×10^{23} adet hücre ile 700-1000 m² lik bir yüzey oluşturmaktadır (25). Endotel hücrelerinin kan ile temas eden yüzeyinde kollojen, elastin, glikoaminoglikan, fibronektin içeren 50-60 A° kalınlıkta bir extrasellüler tabaka mevcuttur. Bu proteoglikan yapılı tabaka antitrombotik yüzeyi oluşturur ve heparan sülfat, dermatan sülfat ve heparin sentezler ve salgılar. Heparin düz kas hücrelerinin proliferasyonu üzerinde inhibitör etkilidir (26,27). Media tabakası intimadan internal elastik lamina ile ayrılır, düz kas hücreleri ve eksternal elastik membranı (elastik lifler ve proteoglikanlar) içerir. Adventitia kalın fibroelastik bir doku olup arterleri besleyen kılcal damarlar ve sinirlerden oluşmuştur. Bu tabakaların herbirinin gerçek kompozisyonu kan damarlarının tipi ile değişkenlik gösterir. Geniş conduit (iletici) arterler yapılarındaki elastik lamina/düz kas hücresi oranının yüksekliği nedeniyle elastik arterler olarak tanımlanmaktadır. Arteriyoller ise bir veya iki sıralı düz kas hücreli yapıya sahiptir. En küçük damarlar olan kapillerler ise tek sıralı endotel hücrelerden oluşan kasılma fonksiyonuna sahip düz kas benzeri hücreler olup perisitler olarak da bilinirler. Venöz sistem

ise yapı olarak arteriollere benzerler fakat temel farkları düz kas hücrelerinin duvar içindeki oriyantasyonlarıdır (28). Vasküler sistemde endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücreleri fizyolojik olarak büyük öneme sahiptirler.

2.2. ENDOTEL

Son 20 yılda yapılan araştırmalar endotel dokusunun güçlü vazoaaktif, antikoagulan, prokoagulan ve fibrinolitik maddeler üreten vücudun en aktif ve en geniş parakrin organlarından biri olduğunu göstermiştir (29). Endotel katmanının 3 temel fonksiyonu; kan ile dokular arasında seçici bir bariyer oluşturmak, antikoagulan, antitrombotik bir yüzey oluşturmak ve hemostatik dengeyi sağlamak için koagülasyon ve fibrinolizisi kontrol altında tutmak; damar tonusunu dolayısıyla kan akışını ve kan basıncını etkileyen fizyolojik ve patolojik mekanizmalarda rol oynayan mediyatörler salgılamaktadır (28).

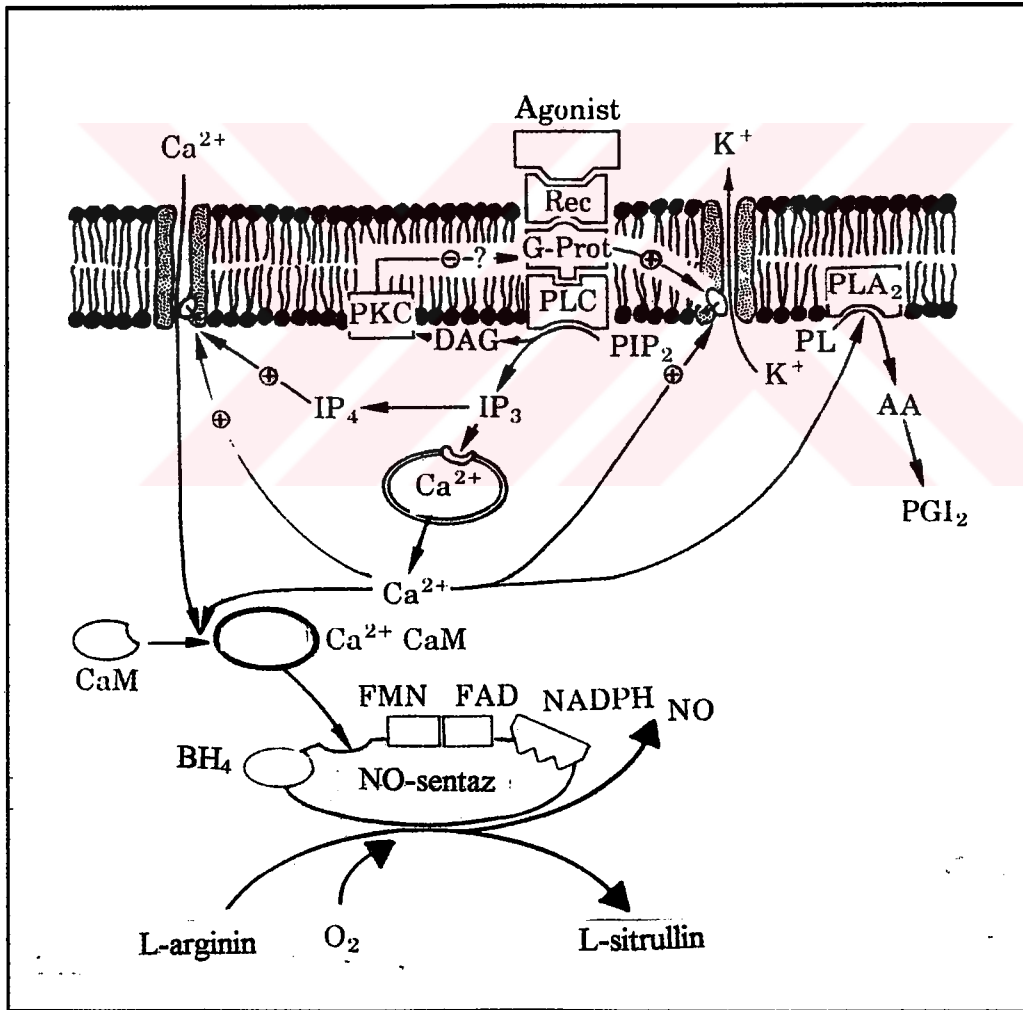
Endotel hücrelerinden birçok vazoaaktif maddeler salgılanmaktadır. Endotel hücrelerinden salınan PGI₂, EDRF ve EDHF vazodilatör etkilidirler (30,31). Endotelin ve endotel kaynaklı kasıcı faktörler (EDCF); koagülasyon/fibrinolitik yolda yer alan faktör VIII antijen, Von Willebrand's faktör, plazminojen aktivatör ise vazokonstriktör etkilidir (8). Ekstrasellüler matris komponentleri (kollajen, elastin, glikoaminoglikanlar, fibronektin), heparanlar ve büyüme faktörleri düz kas hücre proliferasyonunu düzenlerler (28,32,33). Endotel hücreleri plazma lipidleri, lipoproteinler, adenin nükleotidler ve nükleosidler, serotonin, katekolaminler, bradikinin ve anjiotensin I gibi maddeleri lokal olarak salgılamada rol oynar (28). Damar tonusu endotel hücrelerinden salınan bu faktörler arasındaki dengeye ve düz kas hücrelerinin bu faktörlere vereceği yanıtı bağlıdır.

2.3. ENDOTEL KAYNAKLI GEVŞETİCİ FAKTÖR (EDRF)

Damar tonusunu düzenleyen en önemli moleküllerden biri olan EDRF ilk kez Furchgott ve Zawadzki tarafından bulunmuştur (34). Endoteli sağlam tavşan aortik halkaları asetilkoline gevşeme yanıtı verirken, endotel hücrelerinin mekanik ve enzimatik yolla tahrip edilmesinden sonra asetilkolinin gevşetici etkisinin tamamen kaybolması, endotel hücrelerinin güçlü bir gevşetici madde ürettiğini göstermiştir. Asetilkolinin endotel hücrelerinin membranı

açtığı, bu maddenin de damar düz kaslarında gevşetici yanıtlar oluşturduğu gösterilmiştir. Kısa ömürlü olan bu madde düz kas hücrelerinde solubl guanilat siklazı aktive ederek siklik guanozin 3', 5' monofosfat (cGMP) oluşumunu artırarak vasküler düz kası gevşetir. Endotel hücrelerinden salınan Endothelium Derived Relaxing Factor(s) (endotel kaynaklı gevşetici faktör(ler)) diye isimlendirilen bu gevşetici faktör; bilinen en güçlü vazodilatatörlerden biridir ve vasküler direncin önemli bir denetleyicisidir (7,35).

Asetilkolin ve diğer muskarinik agonistler damarların endotel hücreleri üzerindeki M_3 reseptörlerini uyararak; fosfoinozitid hidrolizine ve bu şekilde oluşan IP_3 ve DAG gibi ikinci ulaklar ile intrasellüler Ca^{2+} düzeyini artırarak Ca^{2+} /kalmoduline bağımlı nitrik oksid sentazı (NOS) stimüle ederek nitrik oksit üretimini ve salınmasını artırır (36)(Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Endotel Hücrelerinden Agoniste Bağlı NO'nin Salınımının Sinyal Transdükleme Mekanizmaları

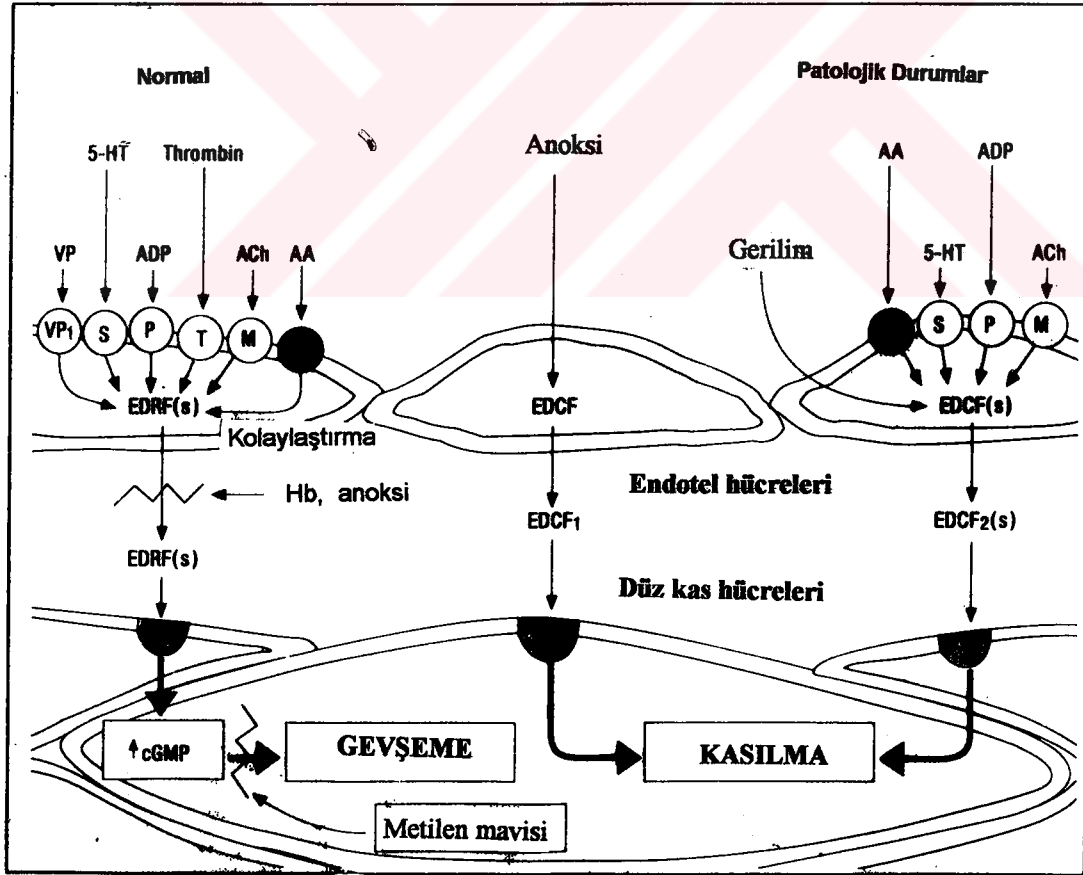
Endoteli tahrip edilmiş izole arter halkalarında asetilkolin ve diğer muskarinik agonistler gevşemeye değil, damar düz kas membranı üzerindeki M_2 reseptörlerin aktivasyonu; Gi proteini aracılığı ile adenilat siklazı inhibe ederek hücrede cAMP oluşumunu azaltıp düz kaslarda kasılmaya neden olurlar (13).

Damar duvarında bulunan başlıca prostaglandin olan prostasiklin (PGI_2)' in güçlü vazodilatör ve antitrombotik etkili bir otokoid olduğu bilinmektedir. İzole tavşan aortasında asetilkolinin neden olduğu gevşeme yanıtında PGI_2 'nin rolü olabileceği düşünülmüştür. Aspirin, indometazin gibi siklooksijenaz inhibitörleri veya nikotin gibi prostasiklin sentetaz inhibitörlerinin asetilkolinin neden olduğu gevşemeyi inhibe etmediği gözlenmiştir. Bu nedenle EDRF'nin prostasiklin, prostaglandin E_2 gibi vazodilatör bir prostaglandin olmadığı bildirilmiştir (7).

Bazı araştırmacılar EDRF'nin kimyasal yapısının tayin çalışmaları sonucunda EDRF ve NO'nin aynı bileşikler olduğunu ileri sürdüler (37-39). EDRF ve NO'nin aynı koşullarda yarılanma ömürlerinin hemen hemen aynı olması (38,40); argininden NO ve EDRF oluşumunun N^G -monometil-L-arginine (L-NMMA) tarafından inhibisyonu (41); hemoglobin ve metilen blue gibi çeşitli farmakolojik blokörlerle hem NO hem de EDRF'nin etkilerinin inhibisyonu (42), agonistlerle hedef dokulardan NO salınımı (38), EDRF ve NO arasındaki biyokimyasal ve farmakolojik benzerlikler, EDRF'nin NO olduğunu ortaya koyan kanıtlardır. Bir çok araştırmacı EDRF'yi endotel kaynaklı nitrik oksit (EDNO) olarak da tanımlamaktadır. Bununla birlikte bazı araştırmacılar EDRF'nin sadece damar düz kasında gevşeme oluşturduğu, NO'nin ise damar düz kas ve diğer düz kaslı yapılarda da (trakeal, taenia coli) gevşeme oluşturduğunu, EDRF ve NO arasında farmakolojik farklılıklar olabileceğini ileri sürmüşlerdir (43,44). Diğer bir çalışmada EDRF'nin NO'den farklı olarak Na^+ - K^+ pompasının aktivasyonu ile vasküler düz kasın hiperpolarizasyonuna neden olduğu, bundan dolayı birden fazla EDRF sentez edilip salıverildiği ileri sürülmüştür (45). Elektron-spin rezonans tekniğiyle yapılmış bir çalışma da; EDRF'nin, NO'den daha fazla aktif vazodilatasyona neden olan NO içeren bir bileşim olabileceği düşünülmüştür (46).

NO'in endotelden salıverilen en güçlü gevşetici faktör olduğuna ilişkin yeterli kanıt bulunmasına karşın henüz yapısı belirlenememiş farklı endotel gevşetici faktörlerin de sentezi olasıdır.

EDRF'nin keşfi endotel kaynaklı vazoaaktif faktörlerin araştırma çalışmalarını başlatmıştır. Bazı vazoaaktif ajanların ve mekanik güçlerin EDRF yapımını ve salınımını uyararak indirekt olarak vasküler düz kaslarda gevşeme meydana getirdiği saptanmıştır. EDRF sentezinden sorumlu endotel reseptörlerine etkili ajanlar asetilkolin, bradikinin, histamin, noradrenalin, serotonin, anjiotensin II, kalsiyum iyonofor A23187 (kalsimin), adenin nükleotidler (adenozin, ADP, ATP), vasopressin (VP), P-maddesi, vazoaaktif intestinal peptid (VIP), trombin, PAF, insülin, klonidin, hidralazin, kalsitonin, peptidolökotrienler, araşidonik asit (AA), endotelin ve agrege trombositlerdir (7,47-49). Mekanik güçlerden en önemli etken ise dolaşan kan akımının meydana getirdiği basınçtır (shear stress) (50), ancak kan basıncı ve pulsatil gerginlik de NO sentezinde etkili mekanik sebepler arasındadır (47,51).



Şekil 2.2. Damar Düz Kasının Kasılma ve Gevşemesinde Rol Oynayan Mediyatörler

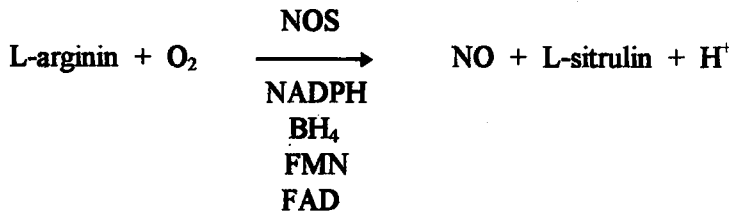
EDRF'nin salınımını uyaran çok sayıda vazoaaktif maddenin ve mekanik güçlerin aynı zamanda bir başka endojen vazodilatör madde olan prostasiklin'in (PGI₂) salgılanmasını da aktive ettiği kanıtlanmıştır (52-53).

NO, vazodilatör özelliklerinin yanı sıra, siklik GMP'ye bağımlı bir mekanizma üzerinden trombosit agregasyonunu engellerler ve trombositteki siklik AMP düzeylerini yükselterek ,agregasyonu engelleyen PGI₂ ile sinerjist etki gösterir. PGI₂'den farklı olarak NO, trombosit adezyonunun da güçlü bir inhibitörüdür (54). Trombositlerin kendileri de NO üretirler ve L-arginin-NO yolu, trombosit etkinleşmesini düzenleyen bir 'negatif feedback' mekanizması olarak iş görür (54). Buna göre in vivo trombosit agregasyonu, damar endotelinin saldığı NO ve PGI₂ kadar, trombositlerin içindeki NO tarafından da düzenlenmektedir.

Ayrıca EDRF'nin, siklooksijenaz yoluyla artmış araşidonat metabolizmasıyla birlikte oluşan bir oksijen radikali olabileceği bildirilmiştir (55).

2.3.1. Nitrik Oksidin Yapısı Sentezi Salınımı

NO lipofilik yapıda biyolojik membrandan kolayca diffüze olabilen yarılanma ömrü yerine ve türe göre değişmek üzere 3-50 sn arasında değişen labil bir moleküldür. L-arginin NO'in fizyolojik bir prekürsörüdür, ekstrasellüler sıvıdan, intrasellüler protein degradasyonu veya endojen sentez ile ortaya çıkar. L-arginin'in terminal guanidino nitrojen atomlarının (aminoasit L-arginin) nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından oksidasyonu sonucunda L-sitrulin ve NO sentez edilmektedir (56,57-60).



Bu reaksiyon için ko-faktör olarak tetrahidrobiopterin (BH₄), nikotin-adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavinler (FAD, flavin adenin dinükleotid, FMN, flavin mononükleotid) ve kalmodulin kullanılmaktadır (56).

NO sentezini katalize eden NOS enziminin üç farklı gen ürünü olan üç farklı NOS izomeri izole edilmiştir. Bu üç değişik izoformların subselüler yeri, aminoasit serisi, düzeni ve fonksiyonları birbirinden farklıdır. Sürekli salınan NOS enzimi constitutive NOS (cNOS) veya bazal NOS olarak adlandırılır ve iki ayrı izoformu mevcuttur; bunlardan biri trombositlerde ve en çok da membrana bağlı olarak vasküler endotelyumda bulunduğu için endotelial NOS (eNOS veya hNOS) (61); diğeri santral ve periferel nöronların sitozolunda bulunduğu için nöronal NOS (nNOS) olarak adlandırılmışlardır (62). Daha sonra yapılan çalışmalar nNOS'ın iskelet kasları, pankreas ve böbrek gibi bazı extranöronal alanlarda da yer aldığını göstermiştir (63,64). cNOS (eNOS ve nNOS), Ca^{++} / kalmoduline bağlandığı zaman enzim içindeki flavinler (FAD, FMN) aracılığıyla NADPH'dan hem 'in aktif alanına elektron transferiyle az miktarda NO oluşmaktadır (65,66). Bu az miktarda sentezlenen kısa ömürlü NO, vazodilatasyon ve nörotransmisyon gibi bir çok fizyolojik olaylara aracılık eden diffüze olabilen sinyalleici bir molekül gibi çalışır. Endotel hücrelerde bulunan cNOS 135 kDa ağırlığında bir enzim olup hücre içi Ca^{++} konsantrasyonlarının fizyolojik sınırlar içinde yükselmesi sonucu aktive olurlar. Nöronlarda sentezlenen cNOS ise 168 kDa ağırlığında olup nöronlarda ve non-adrenerjik non-kolinerjik sinirler (NANK)'den NO'nun Ca^{++} 'a bağımlı salınmasından sorumludur. Endotel hücrelerde asetilkolin, serebral hücrelerde glutamat gibi endojen nörotransmitterlerin reseptör aktivasyonu sonucunda bu cNOS içeren hücrelerin sitozolik Ca^{++} düzeyleri artar ve NO sentezlenir.

Sinir uçlarından bazal veya uyarı ile salınan asetilkolin, bradikinin, ATP, ekstatör aminoasitler, trombositlerden salınan trombin, ADP ve serotonin gibi maddeler reseptör aracılığı ile cNOS'ı uyarırlar. Pulsatil akım, hipoksi, mekanik deformasyon, shear stress gibi fiziksel uyarılar ve kalsiyum iyonoforları, Ca^{++} -ATPase inhibitörleri (Ca^{++} un sarkoplazmik retikuluma girişini engelleyerek hücre içi Ca^{++} seviyelerini yükseltirler), forbol esterleri (protein kinaz C aktivatörü) gibi farmakolojik aktivatörler, reseptöre bağımlı olmaksızın cNOS'ı uyarırlar.

cNOS enzimi aracılığı ile sentezlenen düşük miktarlarda NO, hedef hücrede çözünebilir (solubl) guanilat siklaz (çGS)'in hem grubuna bağlanarak veya sülfidril gruplarını S-nitrozilleyerek enzimi aktive ederler. NO ile çGS'in aktivasyonu cGMP düzeylerinin yükselmesine neden olur. cGMP düzeylerinin yükselmesi ise cGMP'a bağımlı protein kinazları aktive ederek, myozin hafif zincirinin defosforilasyonu ile düz kas hücrelerini gevşetir (56).

NO ile indirgenmiş tiyoller arasındaki reaksiyon sonucunda; stabilitesi NO'dan daha fazla olan ve NO salıvererek etkinlik gösteren S-nitrozo tiyoller gibi çok güçlü vazodilatörler açığa çıkar (67,68). Bundan dolayı NO' in bazı biyolojik etkilerine düşük molekül ağırlıklı S-nitrozotiyol ara ürünlerinin aracılık ettiği düşünülmektedir. NO sülfidril grubu içeren serum albuminle reaksiyona girerek nitrojen oksitlere yükseltgenerek S-nitrozoalbumin oluşur. S-nitrozoalbumin'in NO gibi güçlü antitrombotik ve vazodilatör etkilere sahip olduğu saptanmasına karşın bir NO deposu olarak görev yaptığı ileri sürülmüşse de henüz doğrulanabilmiş değildir (68).

Son zamanlardaki çalışmalar, endotel hücrelerinin bir agonist tarafından uyarılması ile endotel cNOS'ın fosforile olduğu ve enzimin hücre membranından sitozole geçişi ile cNOS aktivitesinin kaybolduğu göstermiştir (61,69).

2.3.2. Patolojik Nitrik Oksit Salıverilmesi

Belirli sitokinler ve lipopolisakkaritler (LPS) tarafından uyarılan hepatositler, böbrek hücreleri, kıkırdak hücreleri, pankreas ada hücreleri ve fibroblastlarda kalsiyumdan bağımsız üçüncü bir NOS izoformu açığa çıkar ki buna indüklenebilen NOS (iNOS) adı verilmiştir (70,71). Molekül ağırlığı 130-135 kDa' dur. iNOS salınımı cNOS'un salınımına göre daha hızlı, yüksek miktarlarda, daha uzun sürelidir ve indüklendiklerinde vasküler düz kas, endotel hücreleri, makrofaj ve myosit gibi hücrelerde aşırı NO salınımına neden olurlar. iNOS, NO'in uzun süreli salınımını sağlayarak memeli doku hücrelerinde hem sitostatik, sitotoksik, hem de sitoprotektif ve bazı patojenlere karşı antimikrobial etkilerin ortaya çıkmasına neden olur (72). Purifiye iNOS, maksimal aktivite gösterebilmek için NADPH, flavin, BH4 ve tiol gibi kofaktörlerin varlığına gereksinim duyar.

iNOS, sepsisle ilişkili hipotansiyon, hemostatik-trombotik denge bozuklukları ve aterosklerozis ve anjioplasti sonrası arter hasarı gibi lokal vasküler lezyonları içeren birçok patolojik durumlar da etkin rol oynar (73,74).

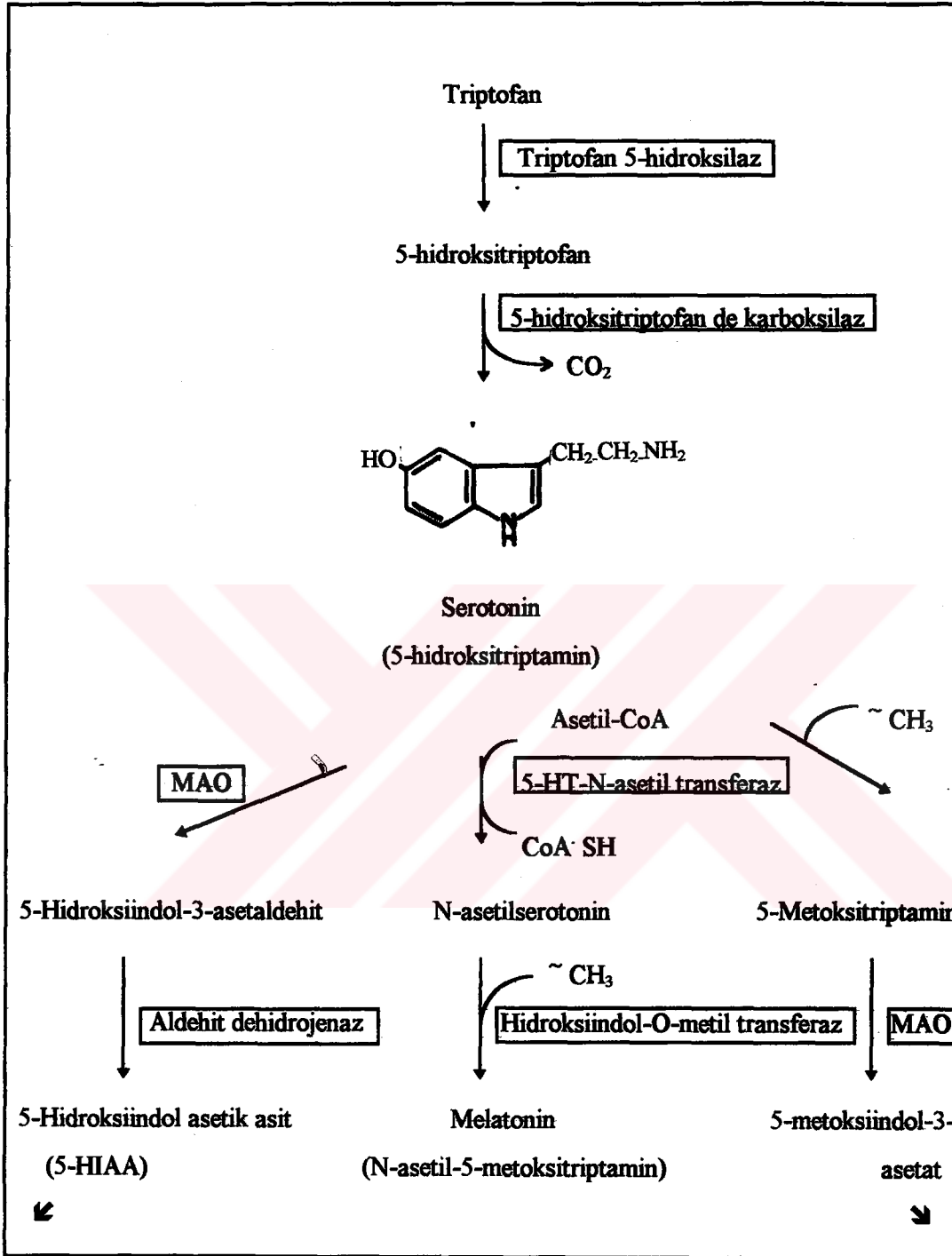
Sitokinler ve endotoksinler tarafından endotel hücre ve vasküler düz kas hücrelerinden iNOS enziminin uyarılması ile salıverilen NO, vazokonstriktörlere dirençli bir patolojik vazodilatasyona neden olmaktadır.

2.4. SEROTONİN

Bitki ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan serotoninin kimyasal yapısı 5-hidroksi triptamindir (5-HT). İnsan vücudunda yaklaşık 10 mg serotonin saptanmış olup bu miktarın büyük bir kısmı (4-8 mg) mide ve barsak mukozasındaki enterokromafin hücrelerde bulunur. Mide ve barsak dışında kalan serotonin büyük bir kısmı trombositlerde ve santral sinir sisteminde bulunur. SSS'nin ve mide- barsak çeperindeki enterik sinir sisteminin serotonerjik nöronlardan sentez edilen serotoninin turnover hızı 1 saat, enterokromafin hücrelerde ise 7-12 saattir. Trombositlerin serotonin sentez etme yeteneği yoktur. Trombositler serotonin plazmadan alırlar ve depolarlar. Serotonin içeren hücrelerde bu madde, ATP ve iki değerli kationlarla kompleks oluşturarak özel veziküller içerisinde depolanır. Serotonin içeren hücreler serotonin hücre dışından aktif transport mekanizmasıyla alır. Enterokromafin hücrelerden ve SSS'deki serotonerjik sinir uçlarından serotonin parsiyel ekzositoz ile salıverilir. Trombositlerden salıverilmesi ise bu hücrelerin parçalanması sonucu olur (13,75).

Serotonin, besin ile alınan bir amino asit olan triptofan'ın önce 5 numaralı karbonundan hidroksillenmesi ile oluşan 5-hidroksitriptofan'ın dekarboksillenmesi ile iki basamakta sentez edilir. İlk olay, serotonin sentezinde hız kısıtlayıcı basamağı oluşturur ve triptofan hidroksilaz enzimi tarafından katalize edilir. İkinci basamak vücutta yaygın olarak bulunan aromatik L-aminoasit dekarboksilaz (dopa dekarboksilaz) enzimi tarafından katalize edilir (13)(Şekil 2.3).

Serotoninin hücrelerden salınmasında birçok maddenin rolü vardır. Trombin, trombositlerden serotoninin salıverilmesine neden olur (13,76). Rezerpin serotonin salıverilmesini artırır ve serotonin içeren bütün hücrelerin veziküllerini boşaltır. p-klorofenilalanin ise SSS'nde ve periferdeki hücrelerde triptofan 5- hidroksilaz enzimini bloke ederek serotonin sentezini azaltarak dokudaki konsantrasyonunu düşürür.



Şekil 2.3. Serotonin Sentez ve Metabolizması

2.4.1. Serotonin Reseptörleri

1957 yılında Gaddum ve Picarelli serotonin reseptörlerini serotonine olan cevaba göre 5HT D (Dibenzylidene) ve 5-HT M (Morfin) tipi reseptörler olmak üzere 2 guruba ayırmışlar (76); daha sonraları Peroutka ve Snyder 1979 yılında bu sınıflamayı radyoligand bağlama tekniklerine göre 5HT₁ ve 5HT₂ reseptörleri şeklinde değiştirmişlerdir (77). Son olarak 1986'da Bradley ve ark. serotonin reseptörlerini 5HT₁ benzeri reseptörler, 5 HT₂ reseptörleri ve 5-HT₃ reseptörleri olmak üzere 3 guruba ayırmışlardır (78) (Tablo 2.1).

5-HT₁ benzeri reseptörler: 5-HT₁ reseptörlerin ortak özellikleri, 5-karboksamidotriptamin ile stimüle edilmeleri, metiotepin ile bloke edilmeleri ve ketanserin tarafından etkilenmemeleridir. Daha sonra serotonin belirli fonksiyonel etkileri ile ilişkili olarak 5HT₁ reseptör alt gurupları tanımlanmıştır (13). 5-HT₁ reseptör gurubunun 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} ve 5-HT_{1F} olmak üzere 6 reseptör alt tipi saptanmıştır (13,79).

5HT₁ reseptörleri: 5- HT₁ reseptörlerinin alt guruplarının tiplerinin 5 üyesi (5-HT_{1C} hariç) adenilat siklazı inhibe ederler. Ayrıca 5-HT_{1A} reseptörleri reseptöre bağımlı K⁺ kanallarını aktive ve voltaj bağımlı K⁺ kanallarını inhibe ederler. 5-HT_{1A} reseptörü serotonerjik nöronlar üzerinde somatodendritik otoreseptör olarak fonksiyon yapan beyin sapının raphe nukleuslarında bulunur. Diğer bir alt tip olan ve 5-HT_{1B}'nin homoloğu kabul edilen 5-HT_{1D} reseptörü akson terminalleri üzerinde serotonin salınımını inhibe ederler (80). Beyinde belirli bölgelerde, bazı rodentlerde 5-HT_{1B} reseptörleri; insan dahil incelenen diğer memelilerin beyinde ise aynı bölgelerde 5-HT_{1B} yerine 5-HT_{1D} reseptörleri bulunmaktadır. 5-HT_{1B} ile aynı özelliği göstermektedir. Moleküler yapısı bakımından 5-HT_{1C} reseptörleri aslında 5-HT₂ reseptör gurubuna ait olup bunlara 5-HT_{2/1C} reseptörleri adı verilmektedir. 5-HT_{2/1C} reseptörleri membranda fosfoinozididaz (fosfolipaz C) ile kenetlenir. Bu reseptörlerin aktivasyonu fosfotidilinozitol 4,5 -bifosfatın fosfolipaz C enzimi ile hidrolizi sonucunda sitoplazmada IP₃ ve DAG gibi ikinci ulakları oluşturur. Bunun sonucu düz kaslarda kasılma meydana gelir. 5-HT_{1E} reseptörlerinin 5-HT_{1D} ile birçok ortak özellikleri vardır ve onun bir alt tipi olarak kabul edilmektedir. 5-HT_{1F} reseptörleri ise bağırsakta enterik sinir sistemine ait nöronların 5-HT tarafından uyarılmasına aracılık eden ve peristaltik refleksin oluşumuna katkıda bulunan nöronal reseptörlerdir.

5-HT₂ reseptörleri: 5-HT reseptörlerinin 3 alt tipi protein kinaz C' yi aktive eden DAG ve Ca'un intraselüler depolardan salınımını sağlayan IP₃ ikinci ulakları oluşturan fosfolipaz C'ye bağlanır. Serotoninin nöronlardaki eksitator etkilerine aracılık eden reseptörler olup nöron membranında fosfoinozidaz ile kenetlenmişlerdir ve aynı transmembanal transdükleme mekanizması ile kenetlenen 5-HT_{1C} reseptörlerine benzerlik gösterirler. 5-HT_{2A} reseptörleri başlıca serotonerjik terminal bölge olmak üzere santral sinir sisteminde yaygın olarak dağılmışlardır. 5-HT_{2B} reseptörleri ilk kez mide fundusunda gösterilmiştir. 5-HT_{2C} reseptörleri ise serebrospinal sıvı yapım yeri olan koroid pleksuslarda yoğun olarak bulunmaktadır. Fibroblastlardaki 5-HT₂ reseptörlerinin uyarılmasıyla mitogenezisin tetiklendiği ve malign transformasyona neden olduğu gösterilmiştir (9,81). Bu bulgular serotoninin nörotransmitter ve kontraktıl etkilerinden çok bir büyüme faktörü olarak rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

5-HT₃ reseptörleri : Barsaktaki afferent sinir uçlarında, nöronlarda ve beyinde hipokampus ve area postrema da bulunmaktadır. 5-HT₃ reseptörleri membranda Na⁺ kanalı ile direkt kenetlenmiştir. 5-HT₃ reseptörlerinin aktivasyonu Na⁺ kanalını açarak nöronlarda ve sinir uçlarında hızlı depolarizasyon yapar. Ondansetron tarafından bu reseptörler selektif olarak bloke edilirler.

5-HT₄ reseptörleri: Vücutta yaygın olarak bulunurlar. Santral sinir sisteminde süperior ve inferior colliculi nöronlarında ve hipokampusta, gastrointestinal sistemdeki düz kas ve salgı hücrelerinde (ör:miyanterik pleksus) yer almaktadırlar. 5-HT₄ reseptörleri adenilat siklazı aktive ederek intraselüler cAMP düzeyini artırırılar. 5-HT₄ reseptörlerinin birçok alt gurubu bulunmaktadır.

Tablo 2.1. Serotonin Reseptörlerinin Fizyolojik Etkileri

Alt Tipleri	Yanıtları
5-HT _{1A, B}	Artmış K ⁺ kondüktansı Hiperpolarizasyon
5-HT _{2A}	Azalmış K ⁺ kondüktansı Yavaş depolarizasyon
5-HT ₃	Na ⁺ ve K ⁺ kapısı Hızlı depolarizasyon
5-HT ₄	Azalmış K ⁺ kondüktansı Yavaş depolarizasyon

Endotel hasarlandığında trombositlerden serotonin, ADP, trombin ve TXA₂ salınarak adezyona neden olur. 5-HT₂ reseptörleri zayıf bir agregasyona yol açar ve serotonin endotel hasarı olan damarın düz kas hücrelerinde direkt kontraksiyona neden olur ve hemostazise katkıda bulunur. Lokal olarak salınan otakoidler (TXA₂, kininler ve vazoaaktif peptidler) vazokonstriksiyonda rol oynarlar. Aterosklerozda endotel harabiyeti ile ortaya çıkan NO yetersizliği sonucu trombüs formasyonu gelişimi hızlanır (8,80).

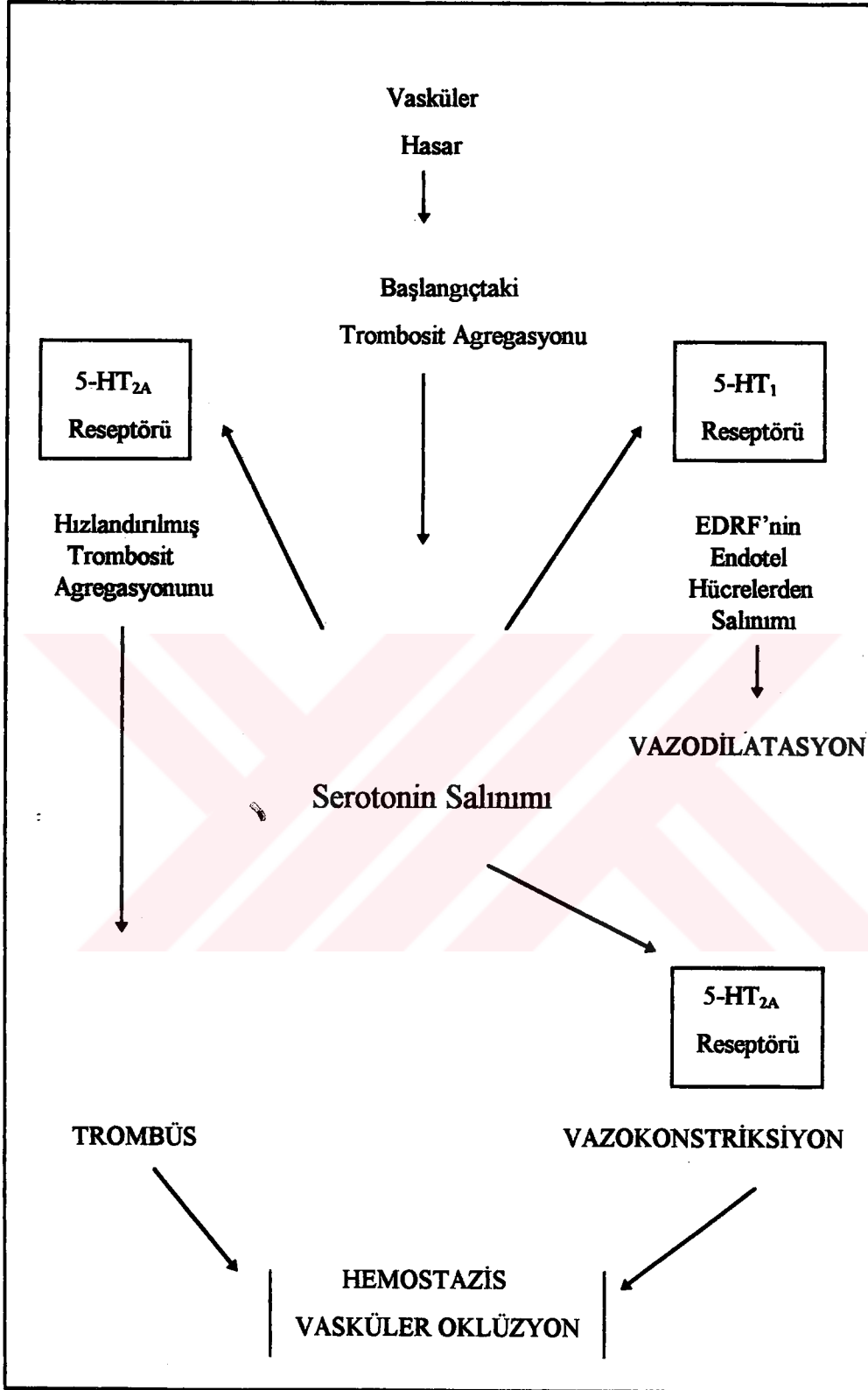
2.4.2.Serotoninin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Serotoninin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri değişkendir. Bunun nedeni hem direkt hem de refleks etkiler oluşturması ve bu etkilerinin tonus ve innervasyon gibi faktörlere göre değişmesidir. Diğer bir neden, serotonin reseptör tiplerinin ve alt tiplerinin sayısının fazlalığı, farklı damar segmentlerinde farklı reseptör bulunması ve aynı damar yatağında farklı hayvan türlerinde farklı reseptör tiplerininin yerleşmiş olmasıdır. Serotoninin damar yatakları üzerindeki klasik yanıtları özellikle splanknik, renal, pulmoner ve serebral dolaşımında kontraksiyondur (80). Bu etkisi bronşiyal düz kaslarında da görülmektedir. Serotonin iskelet kasındaki damar yatakları hariç diğer damar yataklarında damar düz kası üzerine direkt kasıcı etkisiyle kontraksiyona neden olur. Serotoninin damar düz kas üzerindeki 5-HT₁ benzeri ve/veya 5-HT₂ reseptörlerini aktive etmesine bağlı direkt etkiyle vazokonstriksiyon meydana gelir. 5-HT₂ reseptörlerini selektif olarak aktive eden DOI (dimetoksi iodofenil aminopropan) maddesi vazospazma neden olur. Sumatriptan adlı ilaç ise esas olarak 5-HT_{1D} reseptörlerini aktive ederek damarlarda vazokonstriksiyona yol açar. Serotonin damarlarda vazokonstriksiyon meydana getirmesinde ikincil olarak damar düz kasları üzerinde anjiotensinII, katekolaminler, PGF_{2α} gibi endojen vazokonstriktör maddelerin etkisini potansiyalize etmeside rol oynamaktadır (82). Bu etkisi nedeniyle esansiyel hipertansiyonun etiyolojisinde rol oynadığı ileri sürülmektedir. Serotonin insanda koroner damarlarda vazokonstriksiyona yol açar. Köpekte ise serotonin koroner, karotis ve diğer damar yataklarında vazodilatasyona neden olmaktadır (83). Bu etkiye 5-HT₁ benzeri reseptörlerin aracılığıyla olduğuna inanılmaktadır. Serotoninin vazodilatatör etkisi damar endotelinden 5-HT₁ benzeri reseptörler aracılığıyla EDRF salınmasına bağlıdır. Damar çeperinde trombosit agregasyonu olduğunda trombositlerden serotonin ile birlikte salınan ADP de EDRF salınmasına katkıda bulunur. Böbrek damarları serotonine karşı çok duyarlı olup,

deney hayvanlarında böbrekte nekroza neden olacak kadar şiddetli vazospazm meydana gelir. Deneysel hayvanlarında uterus ve plasenta damarlarında vazokonstriksiyona neden olarak fetusun beslenmesini bozduğu ve abortusa neden olduğu gözlenmiştir. Serotonin insanda akciğer damar yatağında vazospazma neden olur. Spazm etkisine en duyarlı damar segmenti venüller ve venlerdir. Çeşitli iskelet kaslarının damar yataklarını genişleterek kan akımını artırır (80).

Serotonin insanda IV uygulandığında kan basıncında 3 fazlı bir değişikliğe neden olur. İlk faz bir dakikadan az süren kan basıncı düşmesi safhasıdır. Bu olay Bezold Jarisch refleksinden kaynaklanmaktadır. Bundan sonraki ikinci faz, serotoninin direkt vazokonstriktör etkisine ve kemoreseptörleri uyarak vazomotor merkezi etkilemesine bağlı kan basıncı artar. Üçüncü faz ise uzun süren bir kan basıncı düşmesidir. İskelet kaslarının damarlarının genişlemesine bağlıdır. EDRF'nin salınımının da bu fazda kısmen etkisi bulunmaktadır.

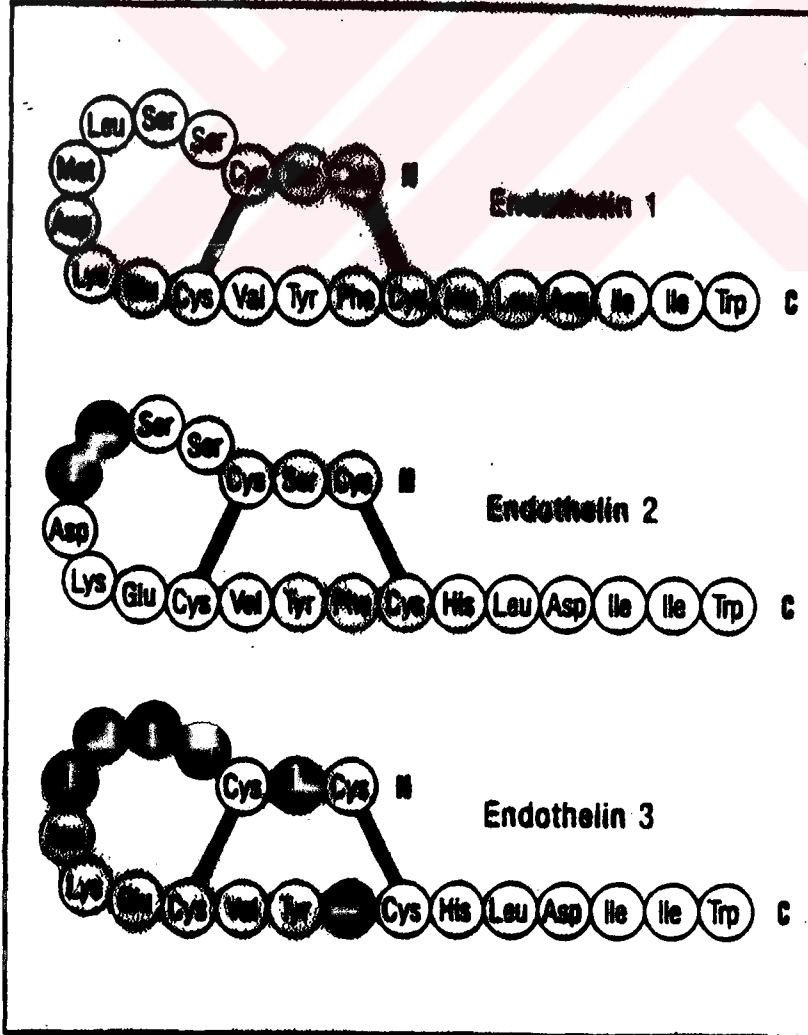
Serotoninin kalp üzerindeki direkt etkisi in vivo deneylerde belirgin değildir. Serotonin Bezold Jarisch refleksinin etkisiyle bradikardiye ve hipotansiyona neden olabileceği gibi adrenal medulladan katekolamin salınımına yol açarak kalbi uyarabilmektedir. İzole kalpte ise (+) kronotrop ve inotrop etki yapar (13).



Şekil 2.4. Trombositlerden Serotonin Salınımının Lokal Etkileri

2.5. ENDOTELİNLER

Damar endotel dokusunun, vasküler tonusun regülasyonunda önemli rolü olduğu bilinmektedir. Endotel hücreleri sadece NO, prostasiklin, bradikinin, histamin gibi vazodilatatör maddeler değil, TXA₂, süperoksid radikali ve endotelin gibi vazokonstriktör maddelerin de oluşumuna neden olmaktadır (11,84,85). 1988 yılında Yanagisawa ve ark. domuz aortik endotel hücrelerinden, endotele bağımlı 21 aminoasitten oluşan ve iki adet disülfid köprüsü içeren (Sistin 1-sistin 15 ve sistin 3-sistin 11) 3 boyutlu konik spiral yapıda endotelin (ET) olarak adlandırılan bir peptidin salındığını ortaya koymuşlardır (8). ET'nin, ET-1 (önceleri domuz veya insan endotelini olarak tanımlanan), ET-2 ve ET-3 (önceleri rat endotelini olarak tanımlanan) adlı 3 izoformu olup herbirinde 21 aminoasitten oluşan ET zinciri 2 disülfid köprüyle bağlı, 4 sistin alt biriminden oluşmakta ve uzun hidrofobik karboksi terminallerinin alfa heliks yapıları bulunmaktadır. ET-2, ET-1'den farklı 2 aminoasit içermektedir. ET-3 ise ET-2'den 6 aminoasit nedeniyle ayrılır. ET insanlarda ve domuzlarda tek bir gen tarafından kodlanmakta olup, bu gen insanda altıncı kromozomda yerleşmiştir.



Şekil 2.5. Endotelin peptidlerinin yapısı

Sentezi

ET-1, endotel hücreleri tarafından yapılan tek ET'dir. ET-2 ve ET-3 ise diğer dokular, örneğin beyin, böbrek, adrenal ve barsaklarda meydana gelmektedir. Ayrıca ET-1 vasküler olmayan dokularda örneğin beyin böbrek ve akciğerde saptanmıştır. Fakat ET-1'in primer olarak endotelden salındığı kabul edilmektedir. ET-2, daha çok böbrek ve barsaklarda bulunmakta, ET-3 ise sinir dokularında bulunan bir nöropeptiddir.

Diğer birçok biyolojik aktif peptid gibi , endotelinler propeptidden meydana gelmektedir. ET-1, 203 aminoasitli peptid öncülü olan preproendotelinden, 38 veya 39 aminoasit içeren proendoteline (Big endotelin) daha sonrada endotelin dönüştürücü enzim (ECE) ile ET'e çevrilmiştir. ET sentezi mRNA transkripsiyonu düzeyinde kontrol edilmektedir. ECE, fosforamidon ve tiorpan gibi metallo inhibitörler ve pepstatin A ile inhibe edilmektedir . Sikloheksimid gibi protein sentez inhibitörleri in vitro olarak ET-1 oluşumunu ve salınımını bloke ederler.

Salınması

Birçok vazoaaktif hormon gibi ET'lerin salınımı için farklı uyarılar gerekmektedir. Endotel hücre kültürlerinde, trombin, epinefrin, kalsiyum iyonoforu A 23187, anjiotensin ve arginin vazopressin gibi birçok madde ET-1'in salınmasına neden olmaktadır (86). ET, endokrin yolla değil otokrin ve parakrin yolla etkilerini göstermektedirler. Yapılan araştırmalarda endotel hücre kültürlerinde, luminal boşluğa salınan miktarın 2 katı ET saptanmış olup, bu gözlem otokrin-parakrin bir yolla etki gösterdiklerini desteklemektedir (87).

2.5.1. Endotelin Reseptörleri

ET reseptörleri sadece vasküler sistemde değil, böbrek, akciğer, adrenal bezi ve nöronlar gibi vücudun birçok dokusunda yaygın olarak bulunmaktadır (88,89). ET reseptörleri ET_A, ET_B ve ET_C olmak üzere 3 guruba ayrılırlar. ET reseptörlerinin etkiledikleri dokular va afinite sıralaması tablo 2.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Endotelin Reseptörlerinin Etkiledikleri Dokular ve Afinitesi.

Reseptör tipi	Afiniteleri	Etkiledikleri prototip doku	Etkileri
ET _A	ET-1>ET-2>ET-3	Vasküler düz kas [Ca ⁺⁺] _i artışı	Vazokonstraksiyon
ET _B	ET-1=ET-2=ET-3	Vasküler endotelyum EDRF, PGI ₂ salınımı	Vazodilatasyon
ET _C	ET-1 < ET-3	Ön hipofiz hücreleri Prolaktin salınımı azalması	İnhibisyon

Yapılan araştırmalar sonucunda vasküler düz kas hücrelerinde ET_A, endotel hücrelerinde ise ET_B reseptörleri bulunmuştur. ET_A reseptörü, düz kas aktivasyonu ile vazokonstriksiyondan sorumludur. ET_B'in nitrik oksit ve PGI₂ aktivitesinden ve salınımından sorumlu olduğu gösterilmiştir. ET_C reseptörleri yakın zamanda bulunmuş olup daha çok ET₃'ü bağlamaktadır. Ön hipofiz hücrelerinde prolaktin salınımının inhibisyonuna neden olmaktadır. ET_B, ET_A'ın % 50 homologu olup, ET_A ve ET_B, rodopsin ailesinin bir üyesidir ve selektivitesi sistin rezidüsünün yerleşimine bağlıdır. ET_A reseptörleri BQ-123 ve FR 139317'e karşı duyarlılıklarına göre ET_{A1} ve ET_{A2} alt guruplarına ayrılmaktadır (90). ET_B reseptörler de IRL 1038 ve RES-701-1 antagonistlere karşı olan duyarlılıklarına göre ET_{B1}, ET_{B2} alt guruplarına ayrılmaktadır (90).

2.5.2. Endotelinin Etki Mekanizmaları

ET'lerin vasküler sistemde birçok fonksiyonları bulunmaktadır. Bunlar arasında endotel kaynaklı vazokonstriksiyon ve vazodilatasyon, vasküler tonusun regülasyonunda önemli katkı sağlamaktadır. ET kaynaklı vazokonstriksiyon, fosfolipaz C aktivasyonu ve kalsiyum

kanallarının açılması olmak üzere 2 farklı intraselüler sinyal transdüksiyon sistemi aktivasyonu ile meydana gelmektedir (91,92). ET'in ET reseptörlerine bağlanarak fosfolipaz C aktivasyonu ile inozitol trifosfat (IP₃) ve diasilgliserol (DAG) oluşur. Daha sonra IP₃ ve DAG oluşumuyla birlikte intraselüler kalsiyum düzeyi artar. IP₃ sarkoplazmik retikulumdan Ca⁺⁺'un sitoplazma içine salınmasını artırarak ve DAG birikimi proteinkinaz C'yi aktive ederek [Ca⁺⁺]_i'u artırır. Bu olayı takiben, düz kas hücrelerinin kasılmasını başlatan miyozin zincirinin fosforilasyonu oluşur. Bu da arter ve venüllerde yavaş gelişen fakat uzun süren vazokonstriksiyona neden olur. ET, bilinen vazokonstriktör maddelerin en güçlüsü olup etki gücü A II'den 10 kat daha fazladır. Böbrek damar yatağı bu maddeye karşı diğer damar yataklarına göre 10 kez daha duyarlıdır.

2.5.3. Endotelinin Farmakolojik Etkileri

ET'in damar duvarındaki etkileri 3 farklı faz oluşturmaktadır.

- a) **Hızlı ve geçici depresör faz:** ANP, EDRF ve PGI₂ aracılığıyla gelişen hipotansif bir fazdır. Hipotansiyon ile birlikte taşikardi oluşmaktadır. Bu etki daha çok kas yatağında daha belirgindir.
- b) **Geçici pressör faz:** Kısa süreli aşırı tansiyon artımı ve bradikardi ile karakterize bir safhadır.
- c) **Şiddetli ve uzun süreli pressör faz:** ET reseptörlerinin agonistler vasıtasıyla aktivasyonu sonrası membran kalsiyum kanallarının açılması ve ekstraselüler kalsiyumun hücre içine girmesi sonucu damarlarda yavaş gelişen fakat uzun süren bir vazokonstriksiyon meydana gelir ve uzun süreli hipertansiyon gözlenir (93).

ET reseptörlerinin uyarılmasıyla sistemik vasküler dirençte gözlenen azalma ve arkasından gelen direnç artımı, ET'in kalp ve damar sistemi üzerindeki etkilerinin refleks otonomik ara yollar aracılığıyla kontrol edilebileceğini düşündürmektedir. ET'in arterlerde belirgin bir eşik değere yükselmesi ile norepinefrin gibi diğer bazı vazokonstriktör maddelerin vazokonstriktör etkilerinin arttığı da gösterilmiştir (94,95). ET reseptörlerinin agonistler yoluyla aktivasyonu sonrası hücre içi serbest kalsiyum iyonlarında bir artış meydana gelirken, fonksiyonel olarak azalmış hücre içi serbest kalsiyum seviyesinin neden olduğu ET'e bağlı değişiklikler, ET reseptörlerinin down regülasyonuna neden olmaktadır (96). ET reseptörlerinin down regülasyonu A II ile oluşurken, arginin vazopressin, bradikinin, enkefalin, noradrenalin veya

karbakol ile oluşmamaktadır. AII veya ET'in neden olduğu ET reseptörlerinin down regülasyonu, proteinkinaz C'nin aktivasyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar (97).

2.5.4. Endotelinin Klinikteki Rolü

Ateroskleroz, hipertansiyon ve hiperkolesterolemi gibi damar endotel hasarına neden olan durumlarda plazma ET düzeyleri artar (98). ET-1 ateroskleroz gibi damar hasarını ortaya koymada yararlı bir marker olarak kabul edilmektedir. Benzer şekilde akut miyokard infarktüsünde akut fazda plazma ET düzeyleri artış gösterir. Plazmadaki ET yüksekliği akut iskeminin nedeni ya da sonucu olabilir. Çünkü ET koronerlerde vazospazma yol açarak akut miyokard infarktüsünün erken safhasında iskemiye artırabilir. Akut miyokard infarktüsü esnasında kardiyojenik şok gelişenlerde plazma ET düzeyi anlamlı derecede yükselmiştir. Yapılan çalışmalarda aterosklerotik damar duvarında modifiye LDL biriktiği ve endotel hücre kültürlerinde okside LDL'nin preproendotelin salınımını hızlandırdığı gösterilmiştir (99).

ET düzeyleri konjestif kalp yetmezliği olanlarda da artış göstermektedir. Potent vazokonstriktör etkiye sahip olan ET'in bu etkisi, konjestif kalp yetmezliğinde arteriyel volümün sürdürülmesini ve arteriyel basıncın korunması yönünde olumlu etki yapmaktadır. Ayrıca, ET'in miyokard düzeyinde hem pozitif inotropik hem de pozitif kronotropik etkileri olup konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde yeni bir alternatif olarak düşünülmektedir (100).

ET-1 ve ET-3 bronş epitelinden salgılandığı gibi pulmoner makro ve mikrovasküler endotel hücrelerinden salgılanmaktadır. ET'in potent bir bronkokonstriktör olduğu ve akut astmanın, pulmoner hipertansiyonun ve fibrozisin gelişiminde rolü olduğu gösterilmiştir (87). ET-1, koroner damarlarda olduğu gibi periferik arterlerde de vazospazma yol açarak Raynaud fenomeninin gelişimine katkıda bulunmaktadır. Kanno ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada plazma immünoreaktif ET-1 düzeyinin çeşitli vasküler hastalıklarda arttığı saptanmıştır (101). Subaraknoid kanamada ET-1 düzeylerinde artış saptanmıştır. Subaraknoid kanamayı takiben gelişen vazospazmdan ET'in sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

Diyabetes mellitus'ta anjiyopati gelişiminden, artmış ET-1 düzeyleri sorumlu tutulmaktadır. Bir çalışmada özellikle Tip I DM'li hastalarda ET-1 düzeylerinde belirgin artış saptanmış ancak ET düzeyi ile mikroalbuminüri arasında bir paralellik saptanmamıştır (87).

2.6. DİYABETES MELLİTUS

Diyabetes mellitus(DM) endokrin pankreasın beta hücrelerinde insülin eksikliği yada glukagon artışı sonucu oluşan insülin salınımindaki yetersizlik ve/veya insüline karşı bozulmuş doku yanıtı sonucu gelişen metabolik bir hastalıktır. Karbonhidrat metabolizmasındaki anormallik hiperglisemiye yol açar ve hızlanmış yağ ve protein katabolizması ile birlikte bulunur(102).

DM'lerin insüline bağımlı diyabet (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan diyabet (NIDDM) olmak üzere iki ana tipi vardır.

IDDM : Tip I diyabet, juvenil diyabet, gençlikte başlayan diyabet veya ketoza yatkın diyabet diye de adlandırılır. İnsülin salgılayan beta hücreleri harap olmuş ve insülin üretimi yapılamamaktadır. IDDM'nin etiolojisinde viral enfeksiyonlar sorumlu tutulmaktadır (103). Otoimmünitenin rolü önemli olabilir (104,105). Diyabetin başlangıcında hemen daima adacık hücrelerine karşı antikor mevcuttur. IDDM'de mutlak insülin eksikliğinin giderilmesi gerekir.

NIDDM : Tip II diyabet, erişkin tip diyabet, ketoza rezistan diyabet diye de adlandırılır. NIDDM olaylarında beta hücrelerinde insülin yapılması ve depolanması genellikle bozulmamıştır. Serum insülin konsantrasyonları azalmış, normal, hatta yükselmiş olabilir.

DM'nin seyrek görülen bazı özel tipleri vardır.

- Pankreas Hastalığı - pankreotektomi, pankreatit, hemokromotoz, pankreas karsinomu
- Hormonla indüklenen diyabet - akromegali, cushing sendromu, feokromositoma, glukagonoma
- Yanıklar ya da diğer ağır hastalıklardan sonra gelişen diyabet (latent diyabet)
- İlaçla indüklenen diyabet- Özellikle yüksek dozlarda kortikosteroid ilaçlar ve ACTH; dizoksid. Tiazid diüretikler ve oral doğum kontrol ilaçları
- Lipoatrofik diyabet - subkütan ve diğer dokular dahil olmak üzere, yağın hiç bir dokuda bulunmaması ile ilişkilidir.
- İnsülin-reseptör antikorlarına bağlı durumlar dahil olmak üzere, insülin reseptör anomalileri
- Proinsülin ve insülinin yanlış sentez edilmesi
- Genetik sendromlar

DM, kan şekerinin yükselmesiyle; susuzluk, bol idrara çıkma, bol yemek yeme, kilo kaybı ve sersemlik, vulva kaşıntısı ya da penis glansında enflamasyon gibi klinik özellikler gösterir.

DM'un kesin etiolojisi henüz ortaya konamamıştır. DM'un patagenezinde genetik ve çevresel faktörler rol oynamaktadır (106). Nadir durumlarda diyabet insülin genindeki mutasyon sonucu gelişmektedir (107). Ayrıca diyabetik hastalarda hücresel prostaglandin metabolizmasındaki değişiklikler, insüline karşı hedef hücrelerin duyarlılığının azalmasından sorumlu olabileceği bildirilmiştir (108,109). Diğer bir çalışma hedef hücrelerde insülin etkinliğinin azalması; insülin reseptörlerindeki azalmaya veya insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesindeki değişmeye bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (110,111). DM'ta glikojen sentezinin insülin kontrolü üzerindeki etkisi de bozulmuştur (112). Diğer bir hipotez ise insüline duyarlı glikoz taşıyıcısının azalmış salınımı olup bu durum hücrelerde glikoz birikimine yol açabilir (113,114).

2.6.1. Diyabetes Mellitus'un Neden Olduğu Komplikasyonlar

Diabetik hastalarda birçok kısa dönem veya uzun dönem komplikasyonlar görülebilir. DM'un başlıca akut komplikasyonu uygun tedavi yapılmadığında ortaya çıkan diabetik asidozdur (115). 1922 yılında insülinin diyabet tedavisinde kullanılmaya başlanması ve güçlü antidiyabetik ilaçların geliştirilmesi ile hipergliseminin akut komplikasyonlarının kontrolünün sağlanmasına rağmen özellikle uzun dönemdeki komplikasyonlar ciddiyetini korumaya devam etmektedir. Muhtelif sistemleri etkileyen birçok diyabetik komplikasyonlar bildirilmiştir.

- Kardiyovasküler komplikasyonlar
- Gastrointestinal komplikasyonlar
- Ürolojik komplikasyonlar
- Solunum sistemi komplikasyonları
- Oftalmik komplikasyonlar
- Üreme sistemi komplikasyonları
- Hematolojik komplikasyonlar
- Biyokimyasal komplikasyonlar
- İlaç metabolizmaları ve farmakokinetiklerle ilgili komplikasyonlar

Gastroenteropati, mesane disfonksiyonu veya erektil impotens gibi bazı diyabetik komplikasyonlar diyabetik hastaların yaşam kalitesini ciddi olarak kötü yönde etkilemesine rağmen ölümcül karakterler de değildir. Nöropati, kardiyomyopati anjiyopati ve nefropati gibi komplikasyonlar diyabetik hastaların morbidite ve mortalite insidansını arttırmırlar.

Diyabetin yol açtığı hastalıklar:

- Mikroanjiyopati (retinopati, nefropati, nöropati)
- Makroanjiyopati (ateroskleroz, iskemik kalp hastalığı, periferik vasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar)
- Otonomik nöropati
- Kalpte yapısal, fonksiyonel ve biyokimyasal değişimler

Makroanjiyopati

Makroanjiyopatik lezyonlar koroner ve karotid arterlerle birlikte alt ekstremite besleyen arterleri de etkileyerek, koroner kalp hastalığı (KKH), serebrovasküler hastalıklar ve gangrenlerin oluşmasına neden olurlar. Diyabetik hastaların ölümlerinin %60'ından kardiyovasküler komplikasyonlar sorumludur.

Kardiyovasküler komplikasyonları meydana getiren risk faktörleri :

- Hiperglisemi
- Hiperinsülinemi
- Hiperlipidemi
- Hipertansiyon
- Santral obesite

Kontrol altına alınmamış diyabetiklerde; vasküler komplikasyonların gelişiminin hızlandığı ve endotel disfonksiyonu ve NO üretiminin bozulduğu gösterilmiştir (5,6,14,17,116-118).

2.6.2. Diyabette Vasküler Disfonksiyonu Oluşturan Moleküler Mekanizmalar

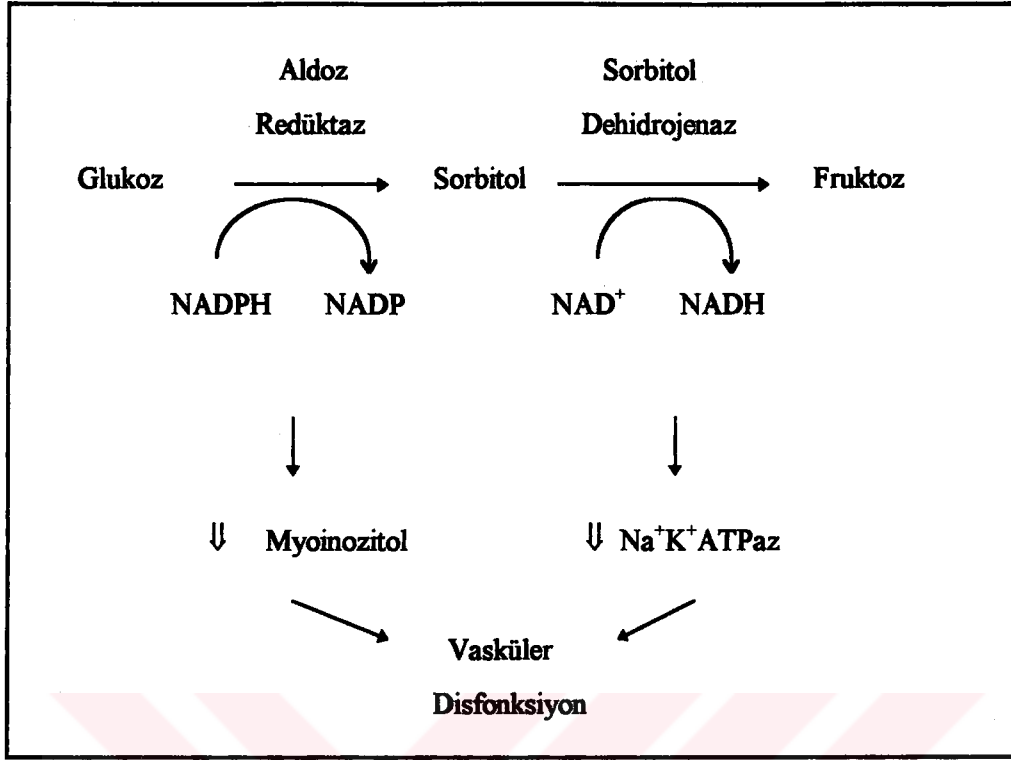
Hiperglisemi : DM'da vasküler disfonksiyonun başlıca nedeni hiperglisemi olup, etki mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Hipergliseminin yan etkileri; glikoz ve onun metabolitlerinin çeşitli yollar tarafından kullanılması sonucunda ortaya çıktığı ileri sürülmüştür.

Hipergliseminin meydana getirdiği vasküler hasarın mekanizmaları:

- 1- Sorbitol yolağı (Poliol yolağı, aldoz redüktaz yolağı)
- 2- Non enzimatik glikozilasyon
- 3- Redoks potansiyelindeki değişiklikler
- 4- Diasilgliserol , Protein kinaz - C yolağı

1-Sorbitol Yolağı: Bazı çalışmalarda hiperglisemik hasardan sorbitol yolağı sorumlu tutulmaktadır (119,120). Hiperglisemik ortamda glukoz metabolizması polioliol yolağına kayar. Glikoz aldoz redüktaz enzimi tarafından fruktoza dönüşür. Aldoz redüktaz aktivitesi sırasında nikotinamid adenin dinükleotid fostat (NADP), sorbitol dehidrojenaz aktivitesi esnasında nikotin amid adenin dinükleotid (NAD) kullanılır ve NAD azalır.

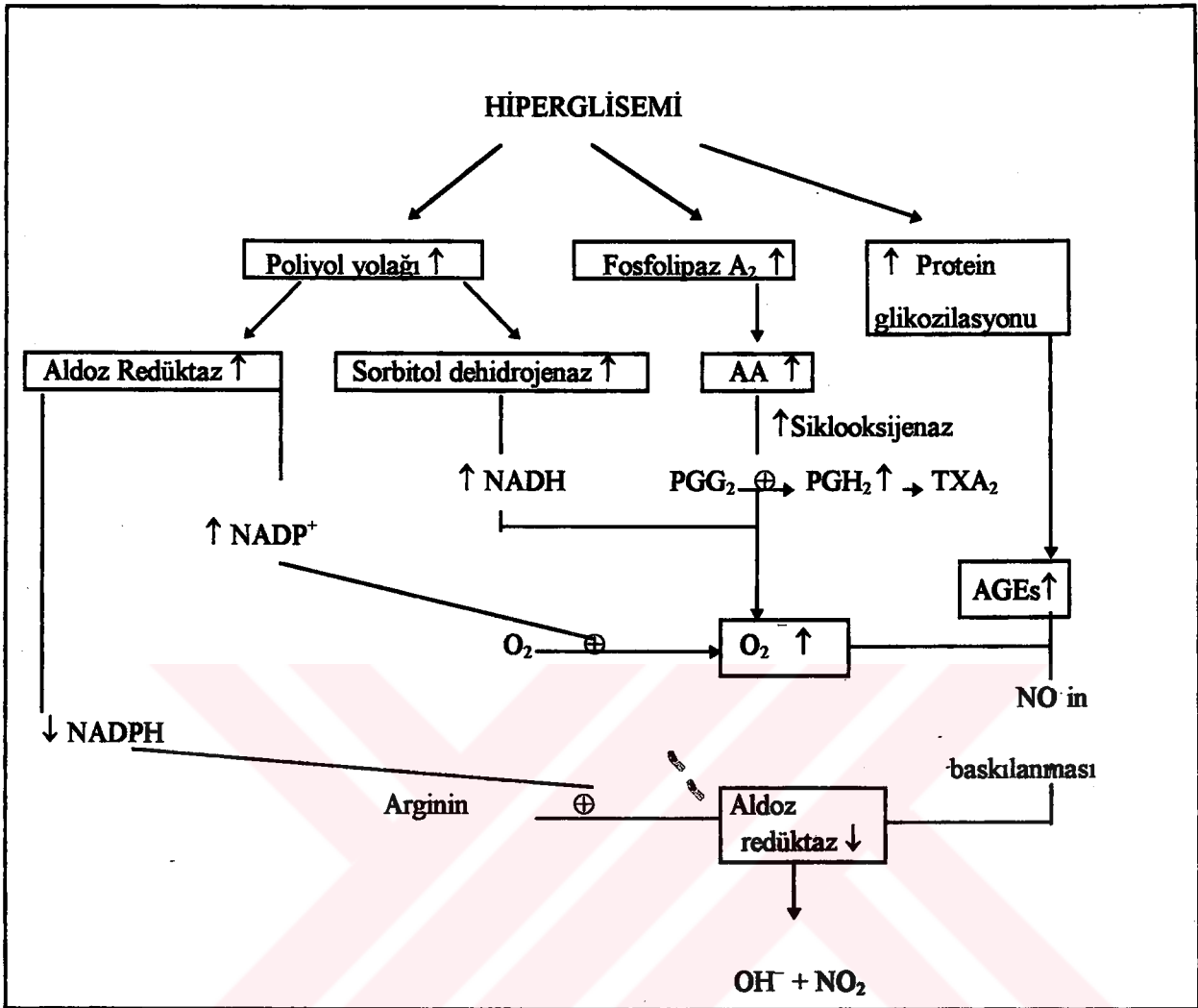
Poliol yolağında aldoz redüktaz enzimi hız kısıtlayıcı basamaktır. Sorbitolun parçalanması nispeten yavaş olmaktadır. Sonuçta vasküler ve nöronal hücrelerde sorbitol birikir (122). Sorbitol hücre membranından kolayca diffüze olamadığı için hücre içinde birikerek ozmotik değişiklikler meydana getirerek hücre hasarına neden olur. Deneysel diyabet modellerinde myoinositol seviyeleri azalmıştır (123) (Şekil 2.6). Doku ve hücrelerde myoinositolun alınımı için hem glukoz hem sorbitol yarışır (119,120). Myoinositol seviyelerindeki bu azalma nöronal dokularda transdüksiyonu sağlayan fosfolipid seviyelerinde değişmelere neden olur. Diyabetik hayvanların nöronal dokularındaki azalmış myoinositolü yerine koyma tedavisi veya aldoz redüktaz inhibitörleriyle tedavi ile normale döndüğü gösterilmiştir (122).



Şekil 2. 6. Sorbitol Yolağı ve Hücresel Fonksiyon ve Redoks Potansiyeli Üzerinde Oluşturabilecekleri Etkiler (121).

Antioksidan aktiviteye sahip glutatyonun sentezi ve NOS ve P450 gibi enzimlerin aktivitesi için indirgenmiş NADPH gereklidir. Diyabette NADPH'nin azalması endotel hücrelerinde NO üretimini azaltabilir (17). Sorbitol'un fruktoza oksidasyonundaki NADH artışı PGG₂'nin PGH₂'ye indirgenmesi aracılığıyla süperoksit anyonu oluşumunu artırarak diyabetik komplikasyonların gelişmesine yol açabilir (123).

Nöronal ve vasküler dokularda Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (122). Endotel hücreesindeki NO'nun düz kastaki Na⁺/K⁺ATPaz enzimini uyardığı gözlenmiştir (124). Diyabette endotel hücre fonksiyonları bozulduğu için Na⁺/K⁺ATPaz enziminin aktivitesinde bir azalma olabileceği düşünülmüştür. Membran potansiyelinin oluşumunda rol oynayan bu enzimin azalması diyabetteki vasküler hiperreaktiviteden sorumlu olabilir. Diyabetle Na⁺/K⁺ATPaz enzimidaki bu değişiklikler sorbitol seviyelerindeki artışla ilişkilidir (Şekil 2.6). Çünkü aldoz redüktaz inhibitörleri kullanılarak bu enzim aktivitesindeki azalma kısmen normale döndürülmüştür (122).



Şekil 2.7. Hiperglisemide ,endotel disfonksiyonunun gelişiminde olası mekanizmalar.

Sorbitol seviyelerindeki bu artış retina, aorta ve renal glomerüllerin vasküler dokusunda saptanmıştır. Deneysel diyabet modellerinde aldoz redüktaz inhibitörlerinin katarakt gelişimini önlediği gösterilmiştir (122).

2-Nonenzimatik Glikozilasyon: Uzun süre yüksek konsantrasyonda glikoza maruz kalan plazma ve hücre membranı proteinleri glikoza amino gruplarıyla nonenzimatik bir yolla bağlanarak kovalen ürünler oluştururlar. Bu olaya "Nonenzimatik glikozilasyon" denir (125). Yeni oluşan glikozilasyon ürünleri birkaç haftadan fazla sürede dengeye ulaşır, bu reaksiyon proteinlerin yarılanma ömürlerine bağlı ve yavaş gelişir. Biraz daha stabil olan "erken

glikolizasyon ürünleri" oluşur. Glikozillenmiş hemoglobin bunun tipik örneğidir. Erken glikozilasyon ürünleri irrevesbl bir kimyasal reaksiyonla "İlerlemiş Glikozilasyon Son Ürünleri (AGE) " nin" oluşuma neden olur. Bu uzun yarılanma ömürlerine sahip makromoleküller birikerek hücrel fonksiyonların bozulmasına ve diyabetik komplikasyonların gelişmesine yol açarlar (125,126,127).

Glikozillenmiş proteinler otooksidasyon sonucunda serbest radikaller üretir. Bu reaksiyon reaktif ketoaldehitlerin gelişimine ve AGE'nin oluşumuna neden olur. Diyabette, endojen antioksidanların gelişimindeki bozukluğun da oksidatif hücre hasarını arttırabileceği düşünülmektedir (121).

Bu glikozillenmiş ürünlerin meydana gelmesinde rol oynayan başlıca faktörler glikoz seviyesi ve glikoza maruz kalma süresidir.

AGE'nin vasküler hasara yol açma mekanizmaları:

1- AGE'nin ekstrasellüler matris ve fonksiyonları üzerine etkileri: Ekstrasellüler matrisde hemoglobin, albümin ve düşük dansiteli lipopolisakkarid (LDL) gibi plazma proteinleri ile glikozillenmiş ürünler oluşabilmektedir(126,129). AGE oluşumu ekstrasellüler matrisin moleküler bileşimini ve aralıklarını bozarak kollojenin fonksiyonlarını değiştirir, LDL ve IgE gibi çözünür plazma proteinlerinin kollojene kovalent bağlarla bağlanmasını uyarır ve endotel hücreleri adezyonunu azaltır(121). AGE ekstrasellüler matris proteinleri üzerinde biriktiğinde monositler bazal membrana (subendotelyal bölgeye) göç ederek makrofoljara dönüşürler. Tüm bu değişiklikler diyabetik damarlarda aterojenik yapının gelişmesine katkıda bulunur.

2-Glikozillenmiş LDL, bazal membranın kollojeni veya diğer komponentlerine çapraz bağlanabilir ayrıca kendi reseptörlerine bağlanmasını değiştirebilir (126,128). İn vitro çalışmalarda bazal membranda kollojenin glikozillenmesi veya herbirine glukozun çapraz bağlanmasıyla parçalanması zor dirençli kompleks bir yapı oluşur. Sonuç olarak bazal membran kalınlaşması söz konusudur. Bazal membrandaki bu değişiklikler proteinin yapısını değiştirerek vasküler hücrelerin metabolizmasını, fonksiyonunu ve büyümesini etkiler (129).

3- Dolaşımdaki AGE monositler, makrofoljar ve endotel hücreleri üzerindeki AGE'ye spesifik reseptörlere bağlanarak vasküler fonksiyonlarda değişikliklere neden olur. AGE'nin makrofoljardaki reseptörlerine bağlandıklarında tümör nekroz faktörün (TNF), interlökin-1 (IL1) ve diğer sitokinlerin salınımını arttırırlar. Bu büyüme faktörleri ve sitokinler glomerüler

mezenşimal ve arteriyel düz kas hücrelerinde proliferasyona ve media tabakasından intimaya göç etmelerine, lipidle yüklenerek miyojenik köpük hücreleri, fibroz plak ve trombüs oluşmasına neden olur. Bu faktörler ve AGE endotel hücrelerindeki reseptörlerini uyararak, permeabilitenin artışına, koagülasyonun uyarılmasına, antikoagülan ve antitrombotik madde olan trombomodulin aktivitesinin azalmasına yol açarak tromboz gelişimini ve diyabetik arteriosklerozu daha da hızlandırır (121).

AGE bileşiklerinin infüzyonu bazal membran kalınlaşması ve vasküler kontraktilitedeki değişiklikler ile diyabette görülen vasküler anormallikleri taklit ettiği gözlenmiştir (130).

Glikozillenmiş ürünlerin artması deneysel diyabetik hayvanların geniş arterlerin vasküler yapıda gevşeme fazının azalmasına neden olabilir. AGE'nin in vitro olarak NO'yi inaktive ettikleri bulunmuştur(129). Aminoguanidin HCl erken glikozilasyon ürünlerinin reaktif karbonik grubunu selektif olarak bloke ederek AGE'nin oluşumunu engelleyen nonenzimatik glikozilasyon inhibitörüdür. Aminoguanidinin in vivo kronik olarak tedavide kullanılmasının bazal membran kalınlaşmasını geriletmediği, diyabetik sıçanlardaki retinal damarlardaki erken dönem değişikliklerini engellediği gösterilmiştir. Aminoguanidinin in vitro olarak diyabetik sıçan aortalarındaki endotele bağımlı gevşeme yanıtlarındaki azalmayı düzelttiği gösterilmiştir. Bu ürünler in vitro ortamda çok yavaş oluştuktan, yüksek glukoza 6 saat maruz bırakılan damarlar üzerindeki olumsuz etkilerin aminoguanidinle düzeltilemediği gözlenmiştir. Aminoguanidin yapıca bir arginin analogudur ve nitrik oksid sentezini de inhibe eder(131).

3- Redoks Potansiyelindeki Değişiklikler: Hiperglisemi redoks potansiyeli üzerinde değişiklikler meydana getirir. Diğer yollardaki glikozun kullanımı NADH/NAD oranını etkiler. Glikoliz veya sorbitol yolağıyla gerçekleşen glikoz metabolizması NADH/NAD oranını arttırmaktadır. Özellikle NADH/NAD oranındaki artışı DAG sentezi, DNA onarımı ve yağ asidi oksidasyonu gibi birçok yolları da etkileyebilir. Bu teoriyi desteklemek amacıyla bazı araştırmacılar tarafından in vivo ve hücre kültürlerinde piruvat uygulaması ile diyabetik veya yüksek glikoza maruz bırakılmış vasküler hücrelerin bozulmuş olan fonksiyonlarının düzeldiği gösterilmiştir (121).

4- Protein Kinaz C ve Diasilgliserol Yolağının Aktivasyonu: Fosfolipid seviyelerindeki ve protein kinaz C aktivitesindeki olası değişiklikler üzerinde pek çok çalışma mevcuttur (131-

136). Bu enzim sistemi ve fosfolipidler permeabilite, kontraktilite, koagülasyon, kan akımı, hormonal ve büyüme faktörünün etkileri ve bazal membran sentezi gibi vasküler fonksiyonları düzenlemektedir (121). Kimyasal veya genetik diyabet oluşturulmuş hayvanlarda membrandaki proteinkinaz C aktivitesinin, retina, aorta, kalp ve renal glomerül gibi birçok vasküler dokuda arttığı gösterilmiştir. Bu dokularda protein kinaz C aktivitesindeki değişikliklere paralel olarak DAG seviyeleri de artmıştır. Diyabetik dokuda total DAG miktarının artarak protein kinaz C aktivitesini artırdığı düşünülmektedir. Diyabetteki DAG ve protein kinaz C'ye olan vasküler yanıtta değişikliklerin nedeni bilinmemektedir. *In vitro* çalışmalarda vasküler hücrelerde yükselmiş glikoz seviyelerinin DAG sentezini artırdığı gösterilmiştir (132-134). Kültüre edilmiş düz kas hücreleri, aorta ve retina endotel hücreleri yüksek glikoza maruz bırakılmasıyla total DAG ve protein kinaz C aktivitesi artmaktadır (135). Normal damarlar protein kinaz C aktivatörü olan forbol esterleriyle inkübe edildiğinde endoteli sağlam diyabetik damarlardaki gevşemeye benzer yanıtlar gözlenmiştir. Ayrıca çeşitli protein kinaz C inhibitörlerinin yüksek glikoza maruz kalan arterlerdeki gevşeme bozukluğunu düzelttiği gözlenmiştir (132).

Hiperglisemik ortamda artan DAG sentezi negatif feed back mekanizması ile fosfolipaz C yi baskılar ve sentez fosfolipaz A₂ yönüne kayar. Sonuç olarak endotelden siklooksijenaz yoluyla ile tromboksan A₂ ve PGF_{2α} vazokonstriktör prostaglandinlerin yapımı artar (136,137).

Yüksek glikoz konsantrasyonlarına maruz bırakılmış aortalarda ortaya çıkan endotele bağımlı gevşeme yanıtındaki bozukluk büyük olasılıkla siklooksijenaz yoluyla oluşan serbest radikallere bağlı olduğu gösterilmiştir (137). Antioksidan tedavisiyle *in vitro* vasküler düz kas hücrelerinde glukozun neden olduğu protein kinaz C β_{II} aktivasyonu ve *in vivo* sıçan aortasında diyabetin neden olduğu protein kinaz C aktivitesindeki artış önlenmektedir (138).

Sonuç olarak hiperglisemi vasküler hücrelerde birçok önemli metabolik yolları etkilemektedir. Bu değişiklikler kolayca vasküler hücre fonksiyonlarını değiştirerek diyabetik komplikasyonlara yol açar. Hücre fonksiyonlarının bozulmasında hangi mekanizmaların primer rol oynadığı henüz kesin olarak bilinmemektedir. Muhtemelen tüm vasküler dokulardaki değişikliklerden tek bir mekanizma sorumlu değildir. Gerçekten diyabetiklerde

gözlenen vasküler değişikliklerin meydana gelmesinde birçok mekanizmanın rol oynadığına inanılmaktadır.

Hiperinsülinemi: Eksojen insulin ile tedavi edilen IDDM'li hastaların (insulinin artmış dolaşım düzeyleri) ve NIDDM'li hastaların (insulin direncine bağlı endojen hiperinsülinemi) yüksek plazma insülin seviyeleri, diyabetik aterosklerozisin patogenezinde rol oynamaktadır (121,140,141). İnsülin bir büyüme hormonudur ve düz kas hücre proliferasyonunu stimüle eder. Hiperinsülinemi arteriyal duvarda lipid sentezini artırmaktadır. Artmış insülin seviyeleri böbrekte volüm retansiyonunu arttırmaktadır. Hiperinsülineminin etkisiyle adrenejik sistemde artmış sempatik deşarja neden olmaktadır.

Hiperlipidemi: Makroanjyopatinin gelişiminde rol oynayan başlıca lipid anormallikleri hipertrigliseridemi, düşük HDL ve artmış LDL düzeyleridir (121,123).

Hipertansiyon: Diyabetiklerin 1/3'ünden fazlası hipertansiftir. Hipertansiyon artmış renal hastalığın gelişmesinde de yer almaktadır. Volüm yüklenmesi ilave bir risk faktörüdür.

Ateroskleroz : Yapılan son çalışmalar DM, hipertansiyon, dislipidemi ve obesite arasında bir bağlantı olduğu ve bunların her birinin ateroskleroz riskini arttırdığı ortaya konmuştur (139,140). IDDM ve NIDDM'li hastaların damarlarında hızlanmış ateroskleroz görülür. Myokard infarktüsü ve serebral yetersizlikte dahil olmak üzere kardiyovasküler hastalıkların çoğunun altında yatan temel neden aterosklerozdur.

Diyabetiklerde frajil olan arter, endotel harabiyeti ile kolesterolden zengin lipoproteinlerin damar duvarına penetre olmasına yol açar. Endotel tabakasının ortadan kalkması ile aktive olan ve adezyon gösteren trombositlerden düz kas hücrelerinin proliferasyonunu ve media tabakasından intimaya göç etmelerini sağlayan büyüme faktörleri salınır. Bu süreç (Neo-intima → Yağ izleri → fibröz plak) aterosklerotik plak oluşumu ile sonuçlanır. Aterosklerotik plağın ülserasyonu ile geniş trombosit adezyonu, aktivasyonu ve agregasyonu sonucunda oluşacak trombüs arter lümeninin tıkanmasına veya trombüsün tümünün yada bir kısmının sertleşmesi ile emboliye veya trombüsün arterin media tabakasına entegre olmasıyla bütünüleşen yapının kalınlaşması ve kalsifikasyonuna (arterioskleroz) neden olur.

Diyabet damarlarda endotel, subendotel ve düz kas tabakalarında yapısal değişikliklere yol açar. Endoteldeki yapısal değişiklikler diyabetik damarların fonksiyonlarında çok önemli fizyolojik rol oynar. Elektron mikroskopik çalışmalar histamin, serotonin gibi permeabilite

faktörlerinin kontrol hayvanlarında intraendotelial açılıma neden olduğunu göstermelerine rağmen, diyabetik hayvanlarda bu durum nadiren gözlenmektedir (141). Diyabetik hayvanlarda azalmış intraendotelial açılıma rağmen trombositlerden salınan bir faktör ile endotelyumun permeabilitesi artmıştır (142). Endotelyumun permeabilitesindeki bu artış sonucu kan komponentleri subendotelial bölgeye geçer ve fokal deskuamasyon için bir alan oluşturur ve dolaşan trombositlerin subendotele temas etmesini sağlar. Yaygın lipid, kolesterol birikimi ve bağ dokusu formasyonu ateromatöz plağın oluşumuna neden olur. Son yıllarda, STZ diyabetik sıçanlarda makromoleküllerin endoteli geçişi artmıştır (143).

Diyabetik hastaların serumlarında büyüme hormonlarının seviyelerinde artma gözlenmiş ve buna bağlı olarak düz kas hücre proliferasyonunda hızlanma ortaya konmuştur (144-146). Büyüme faktörlerinin bulunmadığı sekonder hücre kültürlerinde de, arteriyel düz kas hücre proliferasyonunun arttığı bildirilmiştir (147). Alloksan - diyabetik tavşanlarda kontrollerle karşılaştırıldığında argirofilik elementlerin sayısında belirgin bir artış saptanmıştır. Bu bulgu hızlanmış endotelial hücre turnover'nın bir göstergesi olarak yorumlanabilir(148). Bunun aksine bazı araştırmacılar, kültür ortamında glikozun suprafizyolojik konsantrasyonuna maruz kalan endotel hücrelerde DNA sentezinde azalma ve replikasyon geçikmesi olduğunu göstermişlerdir (149). Alloksan injeksiyonundan 2 hafta sonra endotel hasarının oluşmasıyla lökosit, trombosit ve fibrin benzeri materyalin endotel yüzeyine yapıştığı gözlenmiştir (150). Bu gelişmeler muhtemelen VCAM-1 (vasküler cell adhesion molecule-1), E-selektin ve endotelial lökosit adezyon molekülünün aşırı salınımına bağlıdır (151). Bu iki adezyon molekülü ve diğerleri, vasküler endotel ve lökositler arasında etkileşimi düzenleyen önemli fizyolojik faktörlerdir (152). Lökositlerin endotele karşı artmış adezyonu, vasküler duvarda artmış serbest radikal oluşumu sonucu gelişmektedir. Bu değişiklikler kan damarlarında endotelial hücre ölümüne neden olur (143). Ayrıca tavşan aortasındaki endotel hücre proliferasyonunda belirgin bir azalma olduğu saptanmıştır (153). Diyabetik aorta düz kas hücre kültürlerinde, kontrollere oranla duplikasyon zamanında kısımla gözlenmiştir (147). Bu bulgu, diyabetik arteriyel düz kas hücrelerinde artan proliferasyonu ve diyabetin aterojenik cevabı indüklediğini desteklemektedir. Arteriyel düz kasdaki artmış proliferasyon endotel hücre kaybı ve dolayısıyla NO sentezinde azalmaya neden olabilir. NO düz kas hücrelerinin proliferasyonunu düzenlemektedir. Ayrıca NO prekürsörü olan L-arginin, düz kas hücre proliferasyonunu azaltmakta ve tavşanlarda intimal kalınlaşmayı engellemektedir (154). Hasara, karşı yanıt olarak vasküler hücreler tarafından üretilen insülin benzeri büyüme

hormonu, sitokinler, interlökin - 1,3 ve tümör nekroz faktör α ile maruz bırakılan sıçan aortasında NO üretiminin inhibe edildiği gösterilmiştir (155). Artmış glikoz konsantrasyonları vasküler endotelyumda prostasiklin üretiminde azalmaya neden olmaktadır. Düz kas hücreleri üzerinde antimitojenik etkileri olan PGI_2 'in biyosentezindeki azalma diyabetik arterlerde düz kas hücre proliferasyonunun gelişimine katkıda bulunur (156,157). Bununla beraber aortik düz kas üzerine mitojenik etkileri olan TXA_2 ve IGF-I'in artmış biyosentezi diyabetik vasküler düz kas hücre proliferasyonunun gelişiminde önemli rol oynar (145,146). Açlık vasküler düz kas proliferasyonunda azalmaya, tokluk ise artışa neden olmaktadır (158). AGE, NO'nun diyabetik vasküler düz kas hücrelerine olan antiproliferatif etkilerini inhibe etmektedir (129,118). Diğer bir çalışma da alloksan diyabetiklerde arteriyel düz kas kalınlaşmasına bağlı tavşan transarteriyel duvar oksijen gradiyentinde azalma gözlenmiştir (159). Arteriyel duvar hipoksisinin de aterosklerotik lezyonların gelişiminde katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Tüm bu gözlemler kontrol altına alınmamış diyabetiklerde vasküler komplikasyonların gelişiminin hızlanmasını, endotel disfonksiyonu ve NO üretiminin bozulmasını desteklemektedir.

BÖLÜM 3

GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMASI

STZ nitrozoamid yapısında bir DNA alkilatıdır. STZ, rodentlerin pankreasındaki Langerhans adacıklarındaki beta hücreleri üzerine sitotoksik etkilidir. 50- 70 mg/kg IP veya IV STZ injeksiyonunu takiben 2-4 gün süren geçici hiperglisemi ; 6 hafta boyunca normale yakın; 7-8. haftalarında 200-350 mg/dl plazma glukoz konsantrasyonlarıyla kronik hiperglisemi gelişmektedir. Deneylede 10 adet 230-250g ağırlıklarında erkek albino Spraque - Dawley cinsi sıçanlara 50 mg/kg STZ penis veninden injekte edilmiştir. Kontrol grubu olarak kullanılacak 10 adet sıçana ise penis veninden serum fizyolojik injekte edilmiştir. Vücut ağırlıkları, kan glukoz seviyeleri STZ injeksiyonu takiben 8 hafta sonunda saptanmıştır.

3.2. İZOLE ARTER PREPARATLARININ İNVİTRO DENEYLERE HAZIRLANMASI

Kontrol ve diyabetik sıçanlar dekapite edildikten sonra torasik aortaları zedelenmeden çıkartıldı. Etrafındaki yağ ve bağ dokusundan temizlenen arter segmentleri 2-3 mm

genişliğinde halkalar halinde kesildikten sonra halka açılarak şerit haline getirildi. Her iki ucundan çelik klipsler ile tutturuldu. Hazırlanan preparatlar % 95 O₂ - % 5 CO₂ ile gazlandırılan, 37°C'de ısıtılan, Krebs-Henseleit solusyonu içeren 20 ml'lik ceketli tip organ banyosuna, bir ucu organ askısına diğer ucu dokudaki gerim değişikliklerini ölçmek üzere izometrik transdüsöre (Grass FT 03 Force-displacement) bağlanarak yerleştirildi. Dokular önceden yaptığımız çalışmalarda optimum olduğunu belirlediğimiz 1 g'lık ön gerim altında 2 saat dengelenme süresinde bekletildi. Bu süre içerisinde her 30 dakikada bir banyo ortamı değiştirildi. Çeşitli agonistlere bağlı izometrik kasılmalar ve gevşemeler poligrafa (Grass model 7E) kaydedildi. İzlenen aortik halka sayısı n olarak belirtildi.

İzole Arter Halkalarında Endotelinin Tahrip Edilmesi

Endotelsiz çalışılacak preparatlarda pamuk ipliği kullanılarak arterlerin endotelleri mekanik olarak ortadan kaldırıldı. Arterlerin endotel tabakasının bu işlem sonucu uzaklaştırıldığı 10⁻⁶ M fenilefrin ile önceden kastırılmış arter preparatlarında 10⁻⁸-3.10⁻⁶ M asetilkolin ilavesiyle gevşeme cevabının meydana gelmemesi ile fonksiyonel olarak test edildi.

3.3. İZOLE ARTER HALKALARININ ÇEŞİTLİ AGONİSTLERE VERDİĞİ YANITLARIN İZLENMESİ

3.3.1. Agonistlere Bağlı Kasılma Yanıtları

Kontrol ve diyabetik sıçanların torasik aortalarında fenilefrin, serotonin, ET-1 ve KCl gibi agonistlere bağlı kontraktıl yanıtlar gözlemlendi. Bu yanıtlar üzerinde endotel dokusunun etkisini araştırmak için hem endoteli sağlam hem de endotel dokusu uzaklaştırılmış arter halkalarında aynı agonist ilaçlara bağlı kontraktıl yanıtlar alındı. Agonistlerin konsantrasyon-yanıt eğrilerinin elde edilmesi için agonist ilaçlar organ banyosuna kümülatif konsantrasyonlarda ilave edildi. Agonistlerin bir önceki dozlarına ait kasılmalar dengeye eriştikten sonra üst konsantrasyonları ilave edildi. ET-1 yanıtları PG sentezini inhibe eden indometazin (10⁻⁵ M) varlığında alındı.

Bu çalışmada agonitlerin konsantrasyon-yanıt eğrileri, artan konsantrasyonlardaki kasılmaları mg kasılma /mg doku olarak hesaplanarak grafiklendi.

3.3.2. Agonistlere Bağlı Gevşeme Yanıtları

Asetilkolin ve sodyum nitroprussiyat (SNP) yanıtlarının araştırılması için hem kontrol hem de diyabetik torasik aort halkaları fenilefrin ile ön kasılmaya alındılar. Kasılma dengeye eriştikten sonra agonistler kümülatif olarak organ banyosuna ilave edildi. Agonistlerin her bir konsantrasyonundaki gevşeme yanıtı dengeye eriştikten sonra agonistlerin bir üst konsantrasyonu ilave edildi.

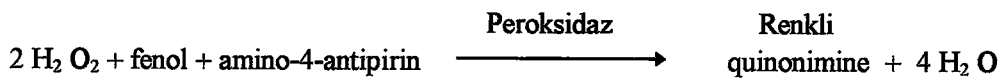
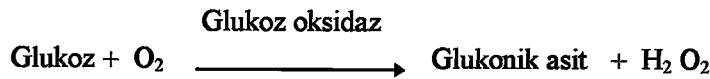
Asetilkolin ve SNP'ye bağlı artan konsantrasyondaki gevşeme yanıtları fenilefrinin oluşturduğu önkasılmanın yüzdesi olarak grafiklendi.

3.4.DENEYLERDE KULLANILAN BESLEYİCİ SOLÜSYON VE İLAÇLAR

Endotelin-1 (Sigma), Serotonin kreatinin sülfat (Sigma), Asetil kolin HCl (Sigma), Fenilefrin hidroklorür (Sigma), Nitroprussid sodyum (Schwarz Pharma A.G.), İndometazin (Nobel). İndometazin %5 (a/h) NaHCO₃ içinde çözülmüştür. Kullanılan diğer ilaçlar distile su içinde çözülmüştür. Dilüsyonlar Krebs solüsyonu ile yapılmıştır. İn vitro deneylerde kullanılan Krebs-Henseleit solüsyonunun içeriği litrede mM olarak: NaCl 118, CaCl₂ 1.6, KCl 4.7, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 24.9, MgSO₄ 1.2 ve Glukoz 11.1.

3.5. GLUKOZ ÖLÇÜM TEKNİĞİ

OpeRA chemistry system otoanalizör cihazında kullanılan Glucose enzymatique color II (A 02466) kitleriyle glukozun, glukoz oksidaz ve peroksidaz enzimleri ile katalize edilen reaksiyonlar sonucunda oluşan renkli quinonimine'in ölçülmesi esasına dayanır.



3.6. DENEY SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ VE İSTATİSTİK

Deney sonuçları aritmetik ortalama \pm standart hata olarak sunuldu. İki grup arasındaki farkın anlamlılığı Student's t testi ile değerlendirildi. $P < 0.05$ olması halinde ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olduğu kabul edildi. Agonist ilaçların oluşturdukları maksimal yanıtın %50'sini oluşturmak için gerekli olan konsantrasyonları (EC_{50}) her bir deneyin log konsantrasyon-yanıt eğrilerinden elde edilip aritmetik ortalama \pm standart hata olarak gösterildi.

BÖLÜM 4

BULGULAR

STZ ile diabetik hale getirilmiş sıçanlarda 8 hafta sonra vücut ağırlığında ve aortik halka ağırlığında bir azalma saptanırken, serum glukoz düzeylerinde ise anlamlı bir artma bulundu ($p<0.05$) (Tablo 4.1).

4.1. KCl KASILMA YANITLARI

Gerek endoteli sağlam gerekse endoteli tahrip edilmiş diyabetik sıçan aortalarının 80 mM KCl kasılma yanıtları kontrollerle karşılaştırıldığında bir azalma saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 4.1).

4.2. ENDOTELİN-1 KASILMA YANITLARI

İzole torasik aorta halkalarında endotelin-1 konsantrasyona-bağılı olarak (10^{-11} - 10^{-8} M) kasılma meydana getirdi. Bu kasılma cevaplarının geç başladığı, plato düzeyine geç ulaştığı ve yıkamadan sonra bile başlangıç noktasına dönmediği gözlemlendi. Endotelin tahrip edilmesi kontrol ve diyabetik grupta kasılma yanıtı ve EC_{50} değerinde değişiklik oluşturmadı. Gerek endoteli sağlam gerekse endoteli tahrip edilmiş diyabetik aortalarda ET-1 yanıtlarının kontrollerine göre anlamlı olarak azaldığı, konsantrasyon-yanıt eğrisinin sağa kaydığı ve EC_{50} değerlerinin anlamlı olarak arttığı saptandı ($p<0.05$) (tablo 4.2), (şekil 4.2).

4.3. SEROTONİN KASILMA YANITLARI

İzole sıçan torasik aorta halkalarında serotonin konsantrasyona-bağlı olarak (10^{-8} - 10^{-4} M) kasılma meydana getirdi. Endotelin tahrip edilmesinden sonra kontrol ve diyabetik aortalarda serotonin kasılma yanıtı ve EC_{50} değerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı saptandı. Gerek endoteli sağlam gerekse endoteli tahrip edilmiş diyabetik sıçan aortasının serotonin kasılma yanıtlarının kontrollerine göre anlamlı olarak azaldığı, konsantrasyon-yanıt eğrisinin sağa kaydığı ve EC_{50} değerlerinin arttığı saptandı ($p<0.05$) (tablo 4.2),(şekil 4.3).

4.4. ASETİLKOLİN GEVŞEME YANITLARI

İzole torasik aorta halkalarında submaksimal konsantrasyonda (10^{-6} M) fenilefrin ile kasıldıktan ve bu kasılma dengeye ulaştıktan sonra kümülatif konsantrasyonda (10^{-8} - 3.10^{-6} M) asetilkolin ile konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları alındı. Her bir konsantrasyondaki gevşeme yanıtı dengeye ulaştıktan sonra bir sonraki konsantrasyon ilave edildi. Endotelsiz preparatlarda bu gevşemeler gözlenmedi. Asetilkolin aracılığı ile oluşan EDRF'ye ait gevşeme yanıtlarının diyabetik halkalarda kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu ($p<0.05$). Kontrollerde 3.10^{-6} M konsantrasyondaki asetilkoline bağlı maksimum gevşeme %95 iken, bu yanıtın diyabetik halkalarda % 60 olduğu saptandı. Ancak EC_{50} değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı bulundu (tablo 4.3),(şekil 4.4).

4.5. SODYUM NİTROPRUSİYAT GEVŞEME YANITLARI

İzole torasik aorta halkaları submaksimal konsantrasyonda (10^{-6} M) fenilefrin ile kasıldıktan sonra hem kontrol hem de diyabetik arter halkalarında SNP'e (10^{-10} - 10^{-5} M) bağlı kümülatif konsantrasyon cevap eğrileri alındı. Gerek diyabetik gerekse kontrol endoteli sağlam ve endoteli tahrip edilmiş sıçan aorta halkalarında cGMP aracılığıyla oluşan vasküler düz kasa ait gevşeme yanıtlarında ve EC_{50} değerlerinde değişme olmadığı saptandı (tablo 4.3), (şekil 4.5).

Tablo 4.1. 8 hafta sonra kontrol ve diyabetik sıçanların vücut ağırlığı, aortik halka ağırlığı ve serum glukoz değerleri

	Kontrol (n=10)	Diyabetik (n=10)
Vücut Ağırlığı (g)	386 ± 21,7	245,5 ± 10,3*
Aortik Halka Ağırlığı (mg)		
E (+)	2.88 ± 0.30	1.97 ± 0.13*
E (-)	2.85 ± 0.36	1.93 ± 0.13*
Glukoz (mg/dl)	132,3 ± 9,83	468,7 ± 41,2*

* Kontrollerine göre p<0.05., n: Aortik halka sayısı

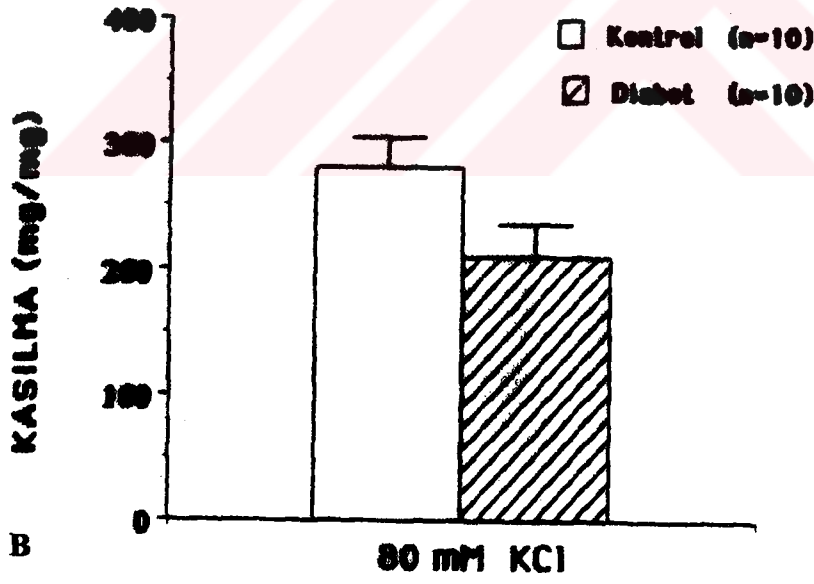
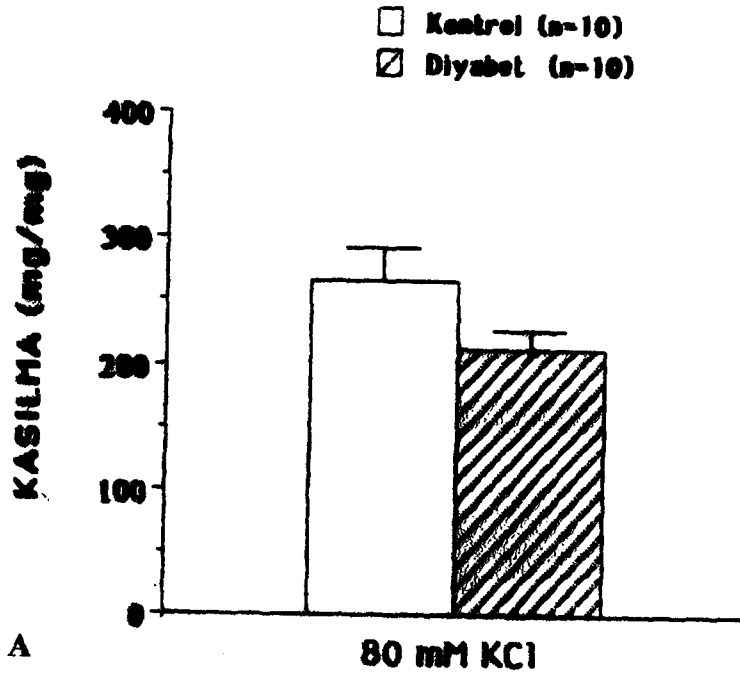
Tablo 4.2. Endotelin-1 ve serotonin EC₅₀ değerleri (M).

	Endotelin-1	n	Serotonin	n
Kontrol				
E(+)	0.26 ± 0.09.10 ⁻¹⁰	8	2.08 ± 0.41.10 ⁻⁶	9
E(-)	0.22 ± 0.05.10 ⁻¹⁰	8	2.13 ± 1.54.10 ⁻⁶	10
Diyabetik				
E(+)	1.62 ± 0.42.10 ⁻⁹ *	6	6.66 ± 1.54.10 ⁻⁶ *	9
E(-)	1.10 ± 0.23.10 ⁻⁹ *	8	6.15 ± 0.50.10 ⁻⁶ *	9

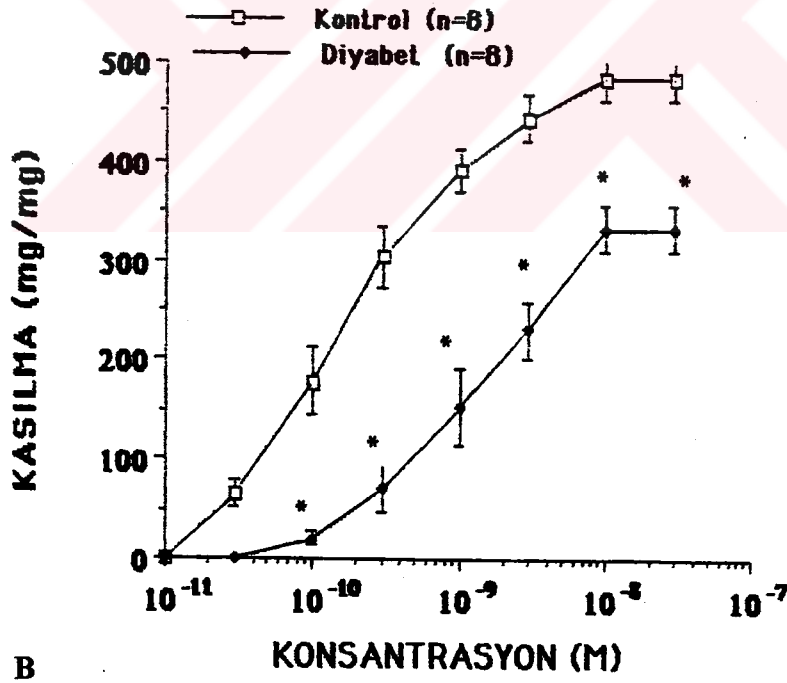
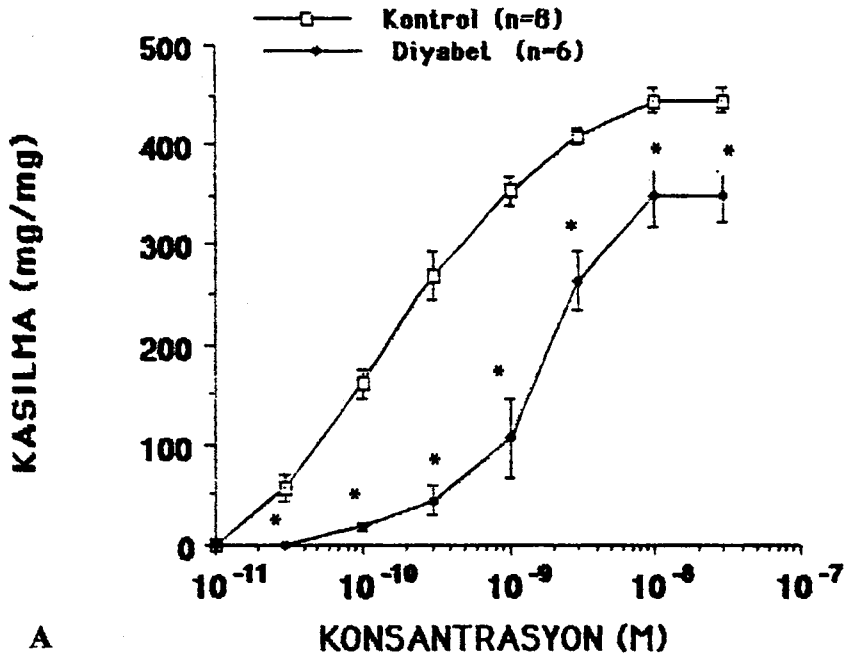
* Kontrollerine göre p<0.05

Tablo 4.3. Asetilkolin ve nitroprussiyat EC₅₀ değerleri (M).

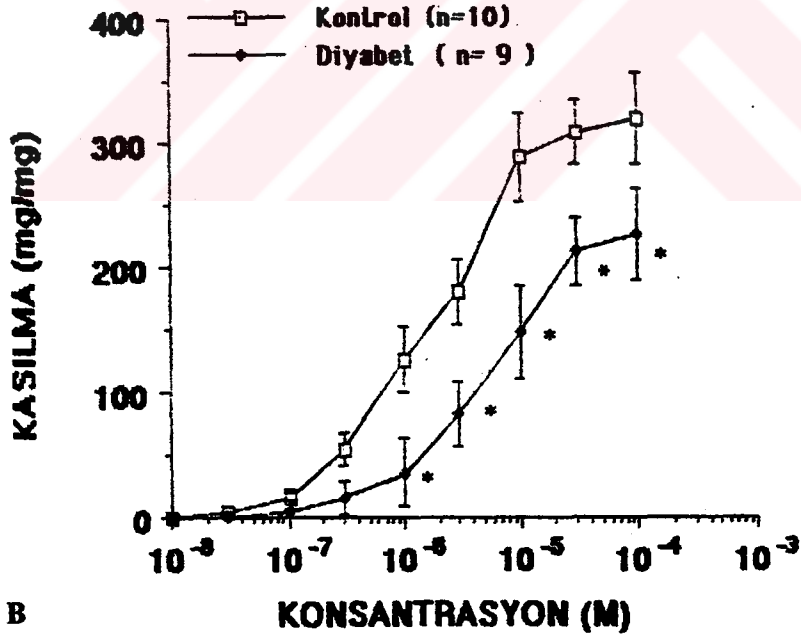
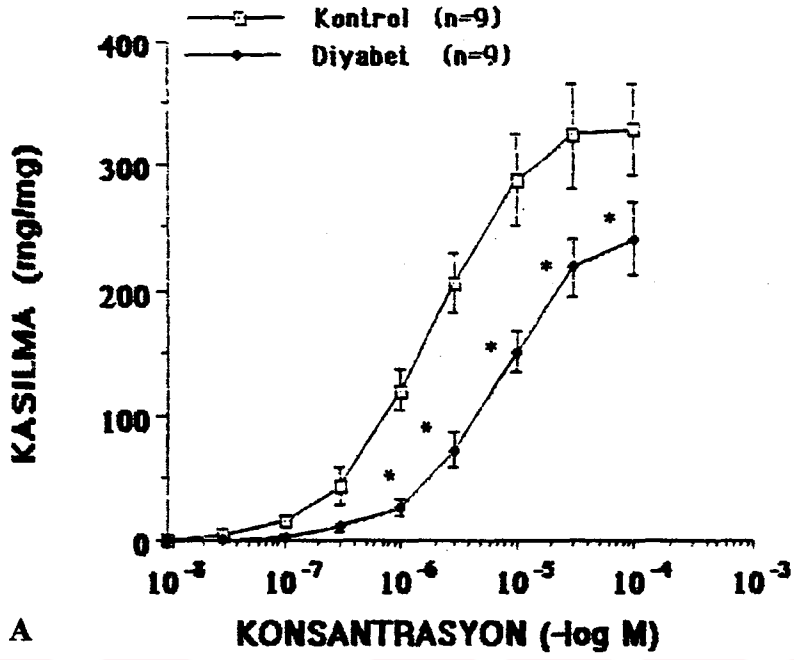
	Asetilkolin	n	Nitroprussiyat	n
Kontrol				
E(+)	0.15 ± 0.03.10 ⁻⁷		1.90 ± 1.16.10 ⁻⁸	8
E(-)	—	10	1.90 ± 1.25.10 ⁻⁸	8
		-		
Diyabetik				
E(+)	0.17 ± 0.19.10 ⁻⁷		1.40 ± 0.65.10 ⁻⁸	6
E(-)	—	10	1.40 ± 1.39.10 ⁻⁸	8
		-		



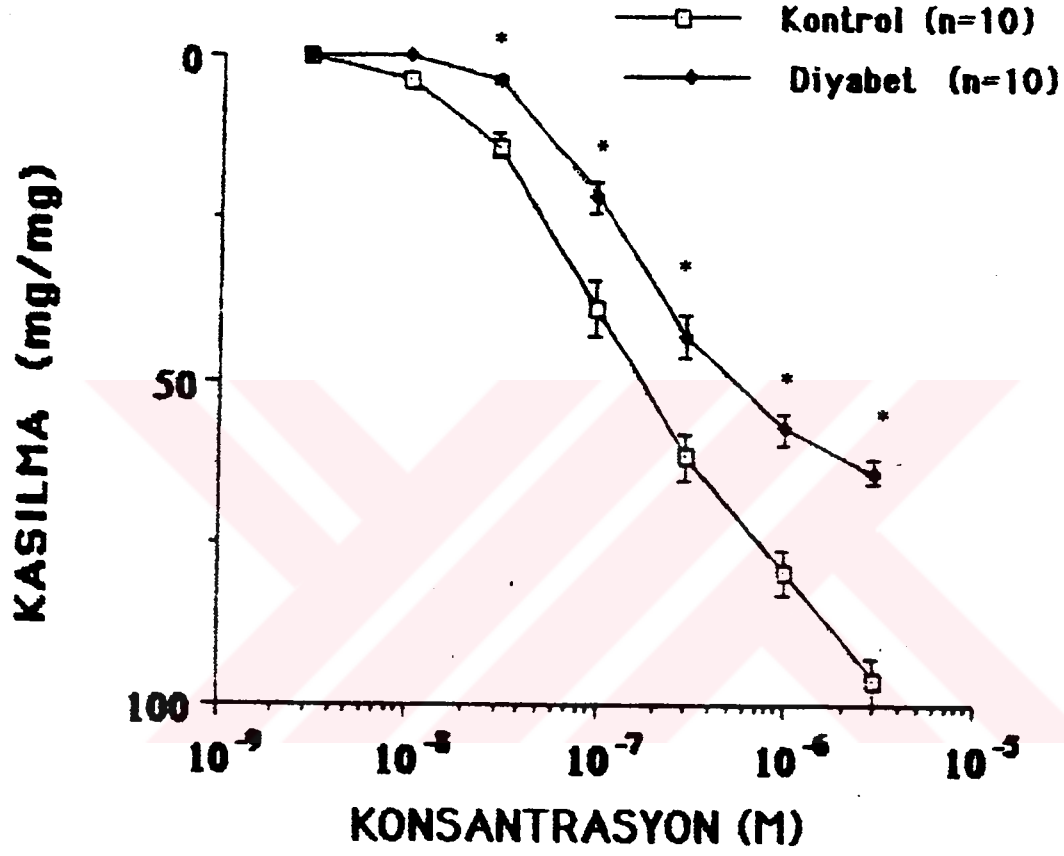
Şekil 4.1. Endoteli sağlam (A) ve endoteli tahrip edilmiş (B) izole sıçan torasik aorta halkalarında 80 mM KCl kasılma cevapları



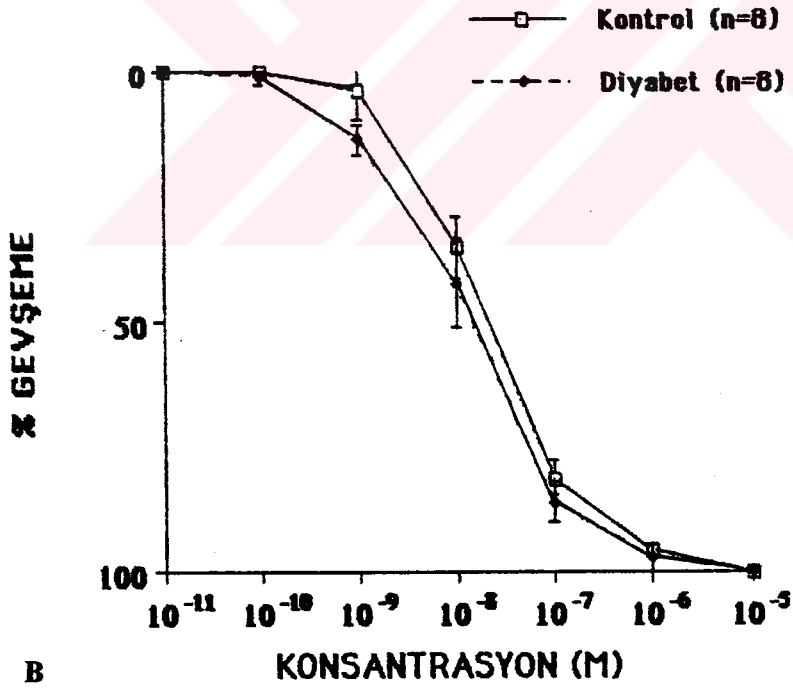
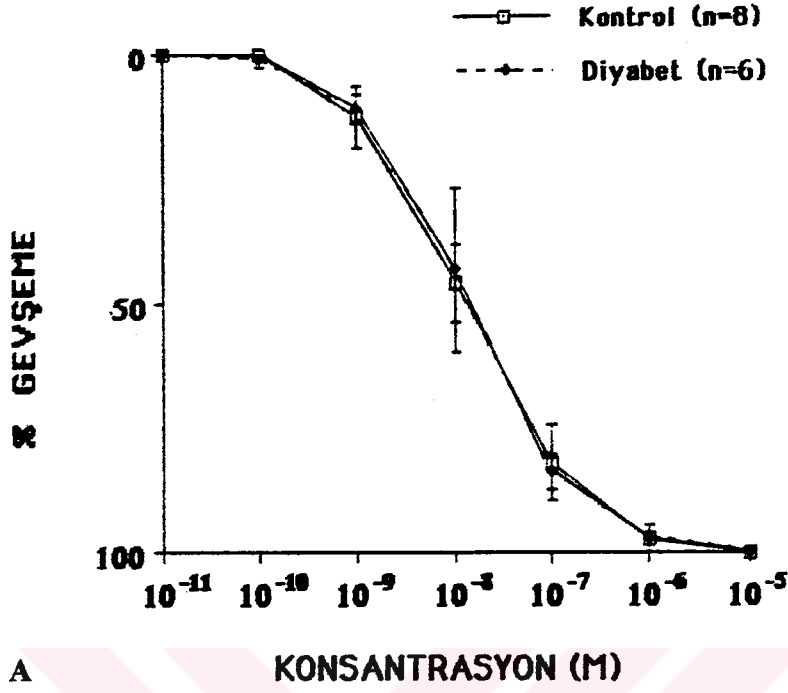
Şekil 4.2. Endoteli sağlam (A) ve endoteli tahrip edilmiş (B) izole sıçan torasik aorta halkalarında endotelin-1 konsantrasyon-yanıt eğrileri. * kontrol değerlerine göre $p < 0.05$.



Şekil 4.3. Endoteli sağlam (A) ve endoteli tahrip edilmiş (B) izole sıçan torasik aorta halkalarında serotonin konsantrasyon-yanıt eğrileri. * kontrol değerlerine göre $p < 0.05$.



Şekil 4.4. 10^{-6} M fenilefrinle kastırılmış endoteli sağlam izole sıçan torasik aorta halkalarında asetilkolin konsantrasyon-yanıt eğrileri. * kontrol değerlerine göre $p < 0.05$.



Şekil 4.5. 10^{-6} M fenilefrinle kastırılmış endoteli sağlam (A) ve endoteli tahrip edilmiş (B) izole sıçan torasik aorta halkalarında sodyum nitroprussiyat konsantrasyon-yanıt eğrileri. * kontrol değerlerine göre $p < 0.05$.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Otonomik nöropati, nefropati, periferik arter hastalığı ve ateroskleroz gibi komplikasyonlar gösteren diyabetes mellitusda sıkça rastlanan hipertansiyon, ateroskleroz ve vasküler oklüzyon gibi çeşitli patolojik durumların gelişimi; dolaşımdaki vazoaktif faktörlerin kan düzeylerinde, endotel kaynaklı vazoaktif faktörlerin salınımında veya vasküler düz kas üzerine olan etkilerinde, endojen humoral uyarılara karşı duyarlılıkta değişiklikler ve endotel disfonksiyonu sonucu olduğu ileri sürülmektedir. Diyabette çeşitli endojen vazoaktif maddelerin vasküler reaktiviteye etkisi incelenmiş ve farklı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (15,82,83,117,160-165). Bu endojen vazoaktif maddelere karşı vasküler yanıtın değişkenliği ve birbirinden farklı, hatta zıt sonuçların elde edilmesi vasküler reaktivitedeki mekanizmaların incelenmesini güncel hale getirmiştir. Kimyasal ve/veya cerrahi uygulama ile diyabet oluşturulmuş hayvanların çeşitli damar segmentlerinde ET-1, serotonin, KCl ve asetilkolin gibi vazoaktif maddelere karşı farklı vasküler yanıtların alınması ve bu farklılığı meydana getiren faktörlerin net olarak belirlenememesi nedeniyle bu çalışmada STZ ile diyabet oluşturulmuş izole sıçan aortasının endoteli sağlam ve endoteli tahrip edilmiş preparatlarında ET-1, serotonin, KCl, asetilkolin ve SNP'a karşı vasküler reaktivite mekanizmaları incelendi.

Bazı araştırmacılar diyabette vazoaktif maddelere karşı yanıtın değişkenliğinin endotel kaynaklı olduğunu ortaya koymuşlardır (117,161-164,166-169). Diyabetik hayvanlar kullanılarak yapılan in vitro deneylerde çeşitli damar segmentlerinde değişik asetilkolin yanıtları elde edilmiştir. Bazı araştırmacılar STZ diyabetik sıçan aortalarında ve alloksan diyabetik sıçanların mezenterik arterlerinde asetilkoline karşı gevşeme yanıtlarında herhangi bir değişiklik saptamamışken (20,166,167,169,170); bir grup araştırmacı da deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda muskarinik agonistlere karşı artmış gevşeme yanıtları bildirilmiştir (161,171,172). Buna karşılık farklı deneysel diyabetik modellerin kullanıldığı ęalıřmalarda diyabetik sıçan aortalarının asetilkoline karşı gevşeme yanıtlarında belirgin azalma saptandığı gosterilmiştir (117,120,162,163,173). Bu ęalıřmada 8 haftalık STZ diyabetik sıçan aorta halkalarında asetilkolin gevşeme yanıtlarının kontrollere góre anlamlı olarak azaldığı ve bu gevşeme cevabının endotelin tahrip edilmesinden sonra hem kontrol hem de diyabetik aorta halkalarında tamamen kaybolduğu gızlenmiştir. Bu azalmış yanıtların, diyabetik anjiyopati nedeniyle gelişen endotel hasarına bağlı olarak EDRF salınımının azalmasına, endotelden salınan prostaglandin gibi vazokonstriktör maddelerin üretimindeki artışa, EDRF'nin hızla yıkılmasına yol açan serbest radikal üretimindeki artışa, ikinci ulak cGMP üretiminin azalmasına ve vasküler düz kasın EDRF'ye yanıtının azalmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir (116,117,161-164,174-177). Sıçan aortasında hiperglisemiye bağlı serbest radikal üretimi poliol yolağının aktivasyonu ve L-arginin metabolizmasının değişmesi gibi biręok mekanizmalar yoluyla endotele- bağımlı anormal gevşemelere yol açabilir (177,178). Serbest radikal formasyonunun hem normal hem de diyabetik damarlarda endotel bağımlı gevşemeyi ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (175,176). Yüksek glukoza maruz bırakılmış endotel hücrelerinde asetilkoline karşı bozulmuş olan EDRF yanıtlarının serbest radikal temizleyicileri tarafından önlendiği gosterilmiştir (179,180). Hiperglisemiye maruz bırakılan tavşan aortasında reseptör-aracılı endotele-bağımlı gevşemelerdeki azalma protein kinaz C aktivasyonu ile endotelden vazokonstriktör prostanooidlerin artması sonucu oluşur (132). Diyabetik tavşan ve sıçanlarda endotel kaynaklı PGH_2-TXA_2 gibi kontraktıl faktörlerin üretimindeki artışa bağlı olarak da endotele-bağımlı gevşemeler bozulabilir (116,174). Diyabetik damarlarda endoteliumda Ca^{++} iyonlarının ięe alımındaki azalma sonucunda gevşeme faktörlerinin üretimi ve salınımının azaldığı ileri sürülmüştür (181). Son ęalıřmalarda STZ diyabetik sıçan aortalarındaki endotel kaynaklı gevşemenin azalmasında EDHF'nin rolü olmadığı gosterilmiştir (182). Deneysel diyabetin endotel fonksiyonları üzerindeki etkileri tartışmalıdır ve altta yatan mekanizmalar tam olarak ortaya konamamıştır.

Asetilkoline bağılı gevşeme yanıtlarının vasküler düz kas hücrelerindeki cGMP oluşumu aracılığı ile ortaya çıktığını ve EDRF'nin etkisi vasküler düz kastaki cGMP formasyonun oluşumundaki artışla ilişkili olduğunu bilinmektedir (183-185). Çalışmamızda ve diyabetik sıçan aortasında yapılan bir başka çalışmada guanilat siklaz aktivatörü SNP ile elde edilen gevşemelerin kontrol gruplarına benzer olması, diyabette gözlenen asetilkoline karşı azalmış gevşemelerden vasküler düz kasın EDRF'ye yanıt verebilirliğindeki azalmanın sorumlu olamayacağı gösterilmiştir. STZ diyabetik sıçan aortasında ölçülen bazal cGMP düzeyleri ile asetilkolinin neden olduğu cGMP düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma bulunmuştur (163). Sonuç olarak diyabetik sıçan aortasında asetilkoline karşı azalmış yanıtların endotel hücrelerinin harabiyetine, EDNO üretiminin azalmasına veya düz kas hücrelerinde NO tutulumuna aracılık eden reseptör sayısının azalmasına bağılı olabilir; fakat düz kas guanilat siklaz aktivitesinde herhangi bir bozukluk söz konusu değildir. Diğer bir çalışmada ise STZ diyabetik sıçan aortasının asetilkolin gevşeme yanıtlarının değişmediği ve diyabetik damarlardan EDRF salınımında bir azalma olmadığı gibi cGMP düzeylerinde de bir farklılık olmadığı gösterilmiştir (186). Buna karşılık alloxan diyabetik tavşan aortasında saptanan artmış noradrenalin ve serotonin yanıtlarından asetilkolinin neden olduğu EDRF salınımındaki azalmanın sorumlu olduğu bildirilmiştir (187).

ET-1'in plazmada bulunduğu, ateroskleroz ve vasküler hastalıklar gibi çeşitli patolojik durumlarda düzeylerinin arttığı bilinmektedir (10,188,189). Diyabetli hastalarda ve hayvanlarda da ET-1 düzeyleri kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (10). Diyabette görülen endotel hasarı ve doku hipoksisinin ET-1'in salınımını arttırdığı bilinmektedir (190,191). Artmış glukoz düzeylerinin sığır aortik endotel hücre kültürlerinde ET-1 sekresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (192). Buna karşın domuz vasküler endotelinde ET-1 salınımını insülin ile stimüle edilirken glukoz ile deprese edilmiştir (193). ET-1 düzeylerinde ve ekstraselüler glukoz konsantrasyonundaki artış vasküler düz kas hücrelerinde protein kinaz C'yi aktive eder. Artmış ET-1 düzeyleri ve aktive olan protein kinaz C, endotelin reseptörlerinin down-regülasyonundan sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (135,194-196). Kronik diyabet oluşturduğumuz sıçan aortalarında ET-1'e karşı vasküler yanıtta azalma saptanmış olup birçok çalışmalardaki sonuçlarla uyumluluk göstermektedir (49,196,197). Bozulmuş olan ET-1 yanıtlarının mekanizmasının voltaja bağımlı kalsiyum kanallarından ekstraselüler Ca^{++} influksundaki artışa veya fosfoinozitol turnover hızındaki değişikliklerle ilgili olabileceği ileri sürülmüş (197). Ancak KCl yanıtının değişmemesi voltaja bağımlı Ca^{++}

influksunun değişmediğini, bu azalmış yanıtta bu mekanizmanın sorumlu olmadığını göstermiştir. Ayrıca ET-1'in vazodilatör prostaglandin üretimini artırarak azalmış kontraktil yanıtta yol açabileceği ileri sürülmektedir (198,199). Ancak çalışmamızda bütün deneyler indometazin varlığında yapıldığı için bu mekanizmanın azalmış kontraktiliteye yol açması olası değildir. ET-1'in endotel hücrelerinde NO salınımını uyararak diyabette azalmış kontraktil yanıtta yol açabileceği (200); L-N^G- nitro-L-arginin metil ester (L-NMMA) ile engellendiği gösterilmektedir (201). Buna karşılık bir grup araştırmacıda L-NMMA'nın ET-1'e bağlı gevşeme yanıtını değiştirmediğini göstermiştir (202). Bu çalışmada endoteli tahrip edilmiş aortalarda da azalmış kasılma yanıtlarının gözlenmesi diyabette azalmış kontraktilitede endotel hücrelerinin rolü olmadığını göstermektedir. Sonuç olarak 8 haftalık diyabette vasküler düz kasın reaktivitesinin değişmektedir.

Diyabetik damarlarda oluşan endotel disfonksiyonunu takiben trombosit agregasyonu ile birlikte serotonin salınımının artması sonucu gelişen vasküler yanıtlar araştırılmaktadır. İn vitro olarak STZ diyabetik sıçan aortasında serotonine karşı kontraktil yanıtta azalma ortaya konmuştur (203). STZ diyabetik sıçan aortalarının serotonine karşı maksimal yanıtın % 63 azaldığı ve doz yanıt eğrisinin sağa doğru kaydığı gösterilmiştir (204). Bununla beraber STZ sıçan aortasında, alloxan diyabetik tavşanların karotis ve basiller arterlerinde serotonine karşı değişmemiş kontraktil yanıtlar elde edilmiştir (166,187). Diyabetik ratlarda aortik düz kas hücrelerinde serotonine karşı artmış yanıt saptanmıştır (205) Bu çalışmada STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçan torasik aorta halkalarında ve kontrol grubuna ait torasik aorta halkalarının serotonine karşı duyarlılığı incelenmiş, endoteli sağlam ve endoteli tahrip edilmiş diyabetik aortaların serotonine karşı gösterdiği kasılma yanıtının, kontrol grubunda elde edilen kasılma yanıtlarından belirgin derecede azaldığı gösterilmiştir. Serotoninin sıçan aortasındaki kasılma yanıtları voltaja-bağımlı kanallar yoluyla Ca⁺⁺ influsu aracılığıyla oluşan fazik komponent, fosfoinozimid hidroliz ürünleri aracılığıyla oluşan tonik komponent olmak üzere iki farklı komponent ile oluşabilir (206). Bu çalışmada diyabetik ve kontrol gruplarındaki KCl yanıtlarının değişmemesi; voltaja-duyarlı kalsiyum kanallarının aktivasyonunun bozulmadığını ve azalmış serotonin yanıtlarından bu mekanizmanın sorumlu tutulamayacağını göstermiştir. Bundan dolayı ET-1'in yanıtlarında görüldüğü gibi IP₃/DAG gibi ikinci ulak sistemlerinde bir değişiklik söz konusu olabilir (197,207). Kronik olarak hiperglisemiye maruz bırakılan endotel ve düz kas hücrelerinde diasilgliserol ve protein kinaz C seviyeleri artmış bulunmuştur (208). Uzun süren hiperglisemi esnasında 5-HT₂ reseptörlerinin downregülasyonu serotonine karşı

azalmış duyarlılığı izah edebilir (134,209). Bununla birlikte diyabetik sıçan aortasındaki azalmış kasılma yanıtları 5-HT_{2/1C} reseptörünün afinitesindeki bir azalma sonucu gelişmektedir (210). Ancak yeterli yedek reseptör varsa, reseptör sayısındaki orta derecede azalma dokunun maksimum cevabını oluşturma yeteneğini etkilemeyecektir (209). Periferik 5-HT₂ reseptörlerinin uyarılması sıçanlarda hiperglisemiye artırmaktadır (211). Diyabet sonucu 5-HT₂ reseptörleri aracılığıyla gelişen vazokonstriktör cevaptaki azalma, inozitol fosfatın ve intraselüler Ca⁺⁺ mobilizasyonunun azalmasıyla izah edilmektedir (134). Endotel hücrelerindeki 5-HT₁ benzeri reseptörlerin NO salınımını sağladığı ileri sürülmüştür (212). Serotonine karşı azalmış yanıtlardan diyabetik hayvanların vasküler dokusunda iNOS tarafından NO üretiminin artması ile ilişkili olabileceği ileri sürülmekle (213) birlikte endoteli tahrip edilmiş sıçan aort halkalarında da serotonine karşı azalmış yanıtların bulunması nedeniyle diyabetteki azalmış kontraktıl yanıtın endotel hücrelerindeki artmış NO üretiminin sorumlu tutulamayacağı düşünülmektedir. Serotonin, vazoaaktif prostaglandinlerin sentezini uyardığı bildirilmiştir (214,215). Serotonin vazokonstriktör etkisini oluşturabilmesi için prostaglandinlere gereksinimi olduğu ve diyabette meydana gelen makro ve mikroanjiopatiye bağlı olarak prostaglandin sentezindeki azalmayla paralel olarak serotonin vazokonstriktör etkisinin azaldığı bildirilmiştir (216,217). Son olarak sıçan aortasının serotonin'e karşı oluşturduğu kasılma yanıtı yaşa-bağımlı azalma gösterdiği bildirilmiştir (166).

Damar düz kasında eksitasyon-kontraksiyon kenetinde primer rolü Ca⁺⁺ iyonları üstlenmiştir. Ca⁺⁺ iyonları, reseptör ve voltaja bağımlı kalsiyum kanalları yoluyla hücre içine girmektedir. Membran depolarize edici ajan olan KCl voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının açılmasını sağlayarak Ca⁺⁺ iyonlarının hücre içine akımını artırır ve konsantrasyona bağımlı kasılma meydana getirmektedir. Bu çalışmada, STZ diyabetik sıçanların endoteli sağlam ve endoteli tahrip edilmiş izole aorta halkalarında KCl kasılma yanıtları kontrollerle karşılaştırıldığında azalmış yanıtlar gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Sonuç olarak, gerek endoteli sağlam gerekse endoteli tahrip edilmiş sıçan aorta halkalarında ET-1 ve serotonin yanıtlarındaki azalma ekstraselüler Ca⁺⁺'dan bağımsız olarak ortaya çıkmıştır.

Bu çalışmada STZ'in neden olduğu pankreas β hücre harabiyeti sonucunda insülin salınımının bozulmasıyla serum glukoz düzeyleri yüksek bulunmuştur. 8 hafta süreyle artmış plazma glukoz düzeylerine maruz bırakılan diyabetik sıçan torasik aortalarında serotonin, ET-1, KCl,

asetilkolin ve sodyum nitroprusiyat gibi vazoaktif ajanların yanıtlarının incelenmesi sonucunda; STZ diyabetik sıçan aortalarının ET-1 ve serotonin kontraktıl yanıtlarında ve asetilkolinin gevşeme yanıtlarında kontrollere göre anlamlı azalma gözlenmiştir. Azalmış gevşeme yanıtlarından kronik diyabet sonucu gelişen endotel hücre hasarına bağı azalmış NO üretimi ve/veya salıverilmesi sorumlu olabilir. Ancak serotonin ve ET-1'in azalmış kasılma yanıtları; endotel hücrelerinde EDRF salınımındaki değışikliklerden ve vasküler düz kas hücre membranındaki voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının aktivasyonundan bağımsız, artmış plazma düzeyleriyle sürekli reseptör işgaline veya reseptör down- regülasyonuna ve ikinci ulaklardaki (IP₃/DAG) değışikliklerle IP₃'in aktivasyonu ile intrasellüler kalsiyum mobilizasyonunun azalmasına bağımlı olarak gelişmektedir.

Bulgularımız literatürdeki birçok çalışmaları uygunluk göstermektedir. Ancak bazı çalışmaları olan farklılıklar diyabet oluşturmak için kullanılan metod, diyabet oluşturmak için kullanılan ajan, diyabet için kullanılan hayvan türü, kullanılan damar tipi ve segmenti, diyabetin süresi ve deney şartlarıyla ilişkili olabilir. Diyabetik damarlarda gözlenen vasküler yanıtta bozukluğun olası nedenleri kısmen açığa kavuşsa da altta yatan moleküler düzeydeki disfonksiyonu ortaya koyma açısından ileri çalışmaları gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1-STEINKE, J. 1977. Diabetes mellitus. In ed. Harrison, T.R. Principles of internal medicine. 8th ed, Mc Graw Hill Kogakusha LTD, p.563-582, Tokyo.
- 2-BURNS, T.W. and KLACHKO, D.M. 1985. Endocrin pancreas. In ed: Sodeman, T.M. Patolojic physiology mechanizm of disease. 7th ed. W.B. Saunders Company, p.1044-1056, Philadelphia.
- 3-BIVINS, B.A., HYDE, G.L., SACHATELLO, C.R. and GRIFFEN, W.O. 1982. Physiopathology and management of hyperosmolar hyperglysemic nonketotic dehydration. Surgery Gynecology Obstetrics, 157, p.584.
- 4-BEACH, K.W. and STRANDNESS, D.E.Jr. 1980. Arteriosclerosis obliterals and associated risk factors in insulin dependent diabetes. Diabetes, 29, p.882.
- 5-KANNEL, W.B. and McGee, D.L. 1979. Diabetes and cardiovascular disease. JAMA, 241, p.2035 -2038.
- 6-GARCIA, M.J., McNAMARA, P.M., GORDON, T. and KANNEL, W.B. 1974. Morbidity and mortality in diabetics in the Framingham population. Diabetes, 103, p.105-111.
- 7-FURCHGOTT, R.F. 1983. Role of endotelium in responses of vascular smooth muscle. Circ Res., 53, p.557-573.
- 8.YANAGISAWA, M., KURIHARA, H., KIMURA, S., et al. 1988b. A novel potent vasoconstrictor peptid produced by vascular endothelial cells. Nature, 332, p.411-415.
- 9-LUSCHER, T.F., ZHIHANG, Y., DIEDERICH, D. and BOHLER, F.R. 1989. Endothelium derived vasoactive substances: potential role in hypertension, atherosclerosis and vascular occlusion. J.Cardiovascular Pharmacology, 14 (supl 6), p.63-66.
- 10-TAKAHASHI, K., GHATEL, M.A., LAM, H.C., et al. 1990. Elevated plasma endothelin in patients with diabetes mellitus. Diabetologia ,33 (5), p.306-310.
- 11-SAXENA, P.R. 1990. Cardiovascular pharmacology of 5-Hydroxytryptamine. Kluwer Academic Publ, Amsterdam.
- 12-LUSCHER, T.F. and VANHOUTTE, P.M. 1988. Endothelium dependent responses in human blood vessels. TIPS, 9, p.181-185.
- 13-KAYAALP, O. 1993. Tibbi Farmakoloji., 6.Baskı, C.3, p.2947, p.2218, p.2942, Ankara.
- 14-TESFAMARIAM, B. and COHEN, R.A. 1991. Role of sorbitol and myo-inositol in the endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose, FASEB., 4, p. A416-A419.
- 15-CHRISTLIEB, A.R., JANKA, H.V. and SOLANO, A. 1976. Vascular reactivity and angiotensin II and norepinephrine in diabetic subjects. Diabetes, 25, p.268-274.

- 16-WEDMANN, P., BERETTO-PICOLI C. and KEUSCH, G. 1979. Sodium-volume factor, cardiovascular reactivity and hypertensive mechanism of associated with diabetes mellitus. *Am. J Med.*, 657, p.779-784.
- 17-COHEN, R.A. 1993. Dysfunction of vascular endothelium in diabetes mellitus. *Circulation* , 87 (suppl V), p. V67-V76.
- 18-KAMATA, K., MIYATA, N., ABIRU, T. and KASUYA, Y. 1992. Functional changes in vascular smooth muscle and endothelium of arteries during diabetes mellitus. *Life. Sci.*, 50 (19), p.1379-1387.
- 19-FRIEDMAN, J.J., 1989. Vasküler sensitiviy and reactivity to norepinephrine in diabetes mellitus. *Am. J. Physiol.*, 256(Heart Circ.Physiol.25), p. H1134-H1138.
- 20-FORTES, Z., LEEME, J.G. and SCIVOLETTO, R. 1983. Vascular reactivity in diabetes mellitus: role of the endothelial cell. *Br. J. Pharmac.*, 79, p.771-781.
- 21- TESFAMARIAM,B., JAKUBOWSKI, J.A. and COHEN, R.A. 1989. Contraction of diabetic rabbit aorta due to endothelium derived PGH_2/TXA_2 . *Am. J.Physiol.* 257, p. H1327-H1333.
- 22- LORENZI, M.and CAGLIERO, E. 1991. Pathobiology of endothelial and other vascular cells in diabetes mellitus. *Diabetes*, 40, p. 653-659.
- 23- BRODY, M.J. and DIXON, R.L. 1964. Vascular reactivity in experimental diabetes mellitus. *Circ. Res.*, 14, p. 494-501.
- 24- RUBANYI, G.M.and POLOHOFF, M.A. 1994. Endothelins: Molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology and pathophysiology. *Pharmacol. Rev.*, 46, p.325-415.
- 25- LUSCHER, T.F. 1993. NO the link between EDRF and nitrates. *Schwarz Pharma Scientific Forum*, 4, p.25.
- 26- SATO, T., ARAK, ISHIHARAJIMA, S. and ASANO, G. 1987. Role of glycosaminoglycan and fibronectin in endothelial cell growth. *Exp.Mol.Pathol.*, 47, p.202-210.
- 27- CASTELLOT, JJ Jr., ADDONIZIO, ML., ROSENBERG R. and KARNOVSKY MJ.1981. Cultured endothelial ceels produce a heparin-like inhibitor of smooth muscle cell growth. *J.Cell Biol.*, 90, p.372-379.
- 28- GRIENDLING, K.K and ALEXANDER, R.W. 1994. Cellular biology of blood vessels in: Schlant, R.C and Alexander,R.C.(Editors), *The Heart Arteries and Veins*, McGraw-Hill, Inc, p.31-43, New York.
- 29- HENDERSON, A.H. 1991. Endothelium in control. *Br. Heart. J.*, 65, p.116.

- 30- MONCADA, S. and VANE, J.R. 1979. Arachidonic acid metabolites and the interaction between platelets and blood vessel walls. *N. Engl. J. Med.*, 300, p.1142-1147.
- 31- TAYLOR, S.G. and WESTON, A.H. 1988. Endothelium-derived hyperpolarizing factor: A new endogenous inhibitor from the vascular endothelium. *Trends Pharmacol Sci.*, 9, p.272-274.
- 32- HANNAN, R.L., KOUREMBANAS, S., FLANDERS, K.C., et al. 1988. Endothelial cells synthesize basic fibroblast growth factor and transforming growth factor beta. *Growth Factors.*, 1, p.7-17.
- 33- DELAFONTTAIN, P., BERNSTEIN, K.E. and ALEXANDER, R.W. 1991. Insulin-like growth factor I gene expression in vascular cells. *Hypertension.*, 17, p.693-699.
- 34- FURCHGOTT, R.F. and ZAWADZKI, J.V. 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 28, p.373-376.
- 35- ANGUS, J.A. and COCKS, T.M. 1989. Endothelium derived relaxing factor. *Pharmac. Ther.*, 41, p.303-351.
- 36- FERNANDES, F.A. 1991. M₃-muscarinic receptor mediates prejunctional inhibition of noradrenaline release and the relaxation in cat femoral artery. *J. Pharm. Pharmacol.*, 43, p.644-651.
- 37- IGNARRO, L.J., BUGA, G.M., WOOD, K.S., et al. 1987. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 84, p.9265-9269.
- 38- PALMER, R.M.J., FERRIGE, A.G. and MONCADA, S. 1987. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature (Lond.)*, 327, p.524-526.
- 39- MYERS, P.R., MINOR, R.L., GUERRA, R., et al. 1990. Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitro-L-cysteine than nitric oxide. *Nature*, 345(6271): p.161-163.
- 40- MARIN, J. and SANCHES-FERRER, F.C. 1990. Role of endothelium formed nitric oxide on vascular response. *Gen. Pharmacol.*, 21, p.575-587.
- 41- REES, D.D., PALMER, R.M.J. and MONCADA, S. 1989. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc. Acad. Sci. USA.*, 86, p.3375-3378.
- 42- MARTIN, W., VILLANI, G.M., JOTHIANANDAN, D. and FURCHGOTT, R.F. 1984. Selective blockade of endothelium-dependent and glycerol trinitrat-induced relaxation by hemoglobin and by metylene blue in the rabbit aorta. *J. Pharmacol. Exp Ther.*, 232, p.709-716.

- 43- SHIKANO, K., OHLSTEIN, E.H. and BERKOWITZ, B.A. 1987. Differential selectivity of endothelium-derived relaxing factor and nitric oxide in smooth muscle. *Br.J.Parmacol.*, 92, p.483-485.
- 44- LONG, C.J., SHIKANO, K. and BERKOWITZ, B.A. 1987. Anion exchange resins discriminate between nitric oxide and EDRF. *Eur. J. Pharmacol.*, 142, p.317-318.
- 45- VANHOUTTE, P.M. 1987. The end of the quest ?. *Nature*, 327 p.459-460.
- 46- RUBANYI, G.M., WILCOX, D.E. and GREENBERG, S. 1989. Studies on EDRF released from canine femoral arteries by acetylcholine and its identity as NO (abstract). *J. Vasc. Med. Biol.*, 1, p.111-115.
- 47- MEHTA, J.L., MONCADA, S., PEARSON, J.D., MANN, G.E. 1992. Identification of inhibitors of nitric oxide synthase that do not interact with the endothelial cell L-arginine transporter. *Br. J. Pharmacol.*, 105, p.768-770.
- 48- DE MEY, J.G., CLAEYS, M. and VANHOUTTE, P.M. 1982. Endothelium-dependent inhibitory effects of acetylcholine, adenosine, triphosphate, trombin and arachidonic acid in the canine femoral artery. *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 222, p.166-173.
- 49- COCKS, T.M. and ANGUS, J.A. 1983. Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenalin and serotonin. *Nature*, 305, p.1-3.
- 50- BUGA, G.M., GOLD, M.E., FUKUTO, J.M. and IGNARO, L. 1991. Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension*, 17, p.187-193.
- 51- NAVA, E. and LUSCHER, T. 1995. Endothelium-derived vasoactive factors in hypertension : Nitric oxide and endothelin. *J. Hypertens.*, S39-S48.
- 52- VANHOUTTE, P.M., LUSCHER, T.F. and GRASER, T. 1991. Endothelium dependent contraction. *Blood vessels*, 28(1-3), p.74-78.
- 53- VANHOUTTE, P. and RUBANYI, G.M. 1986. Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium. *Am. Rev. Physiol.*, 48, p.307-320
- 54- RADOMSKI, M.W. and MONCADA, S. 1991. Biological role of nitric oxide in platelet function. *Clinical relevance of nitric oxide in the cardiovascular system*. Ed. By Moncada, S., Higgs, E.A., Berrazuetta, J.R.: Edicomplet, p.3-28, Madrid.
- 55- MARSHALL, J.J. and KONTOS, H.A. 1990. Endothelium-derived relaxing factor. A perspective from in vivo data. *Hypertension*, 16, p.371-386.
- 56- MONCADA, S. and HIGGS, A. 1993. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.*, 329, p.2002-2012.

- 57- PALMER, RMJ., REES, DD., ASHTON, DS., MONCADA, S. 1988a. L-arginin is physiological precursors for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 153, p.1251-1256.
- 58- HACKER, M., SESSA, W.C. and MITCHELL, JA. 1991. Biosynthesis of endothelium dependent relaxing factor endothelial cells as means of removing excess nitrogene. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*,17(suppl. 3)2,p.519-524.
- 59- MONCADA, S., PALMER, RMJ. and HIGGS, EA.1989. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. *Biochem. Pharmacol. Exp. Ther.*, 38, p.1709-1715.
- 60- PALMER, R.M., ASHTON, D.S. and MONCADA,S. 1988. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.*, 33, p.664-666.
- 61- MICHEL, T., LI, G.K. and BUSCONI, L. 1993. Phosphorylation and subcellular trans location of endothelial nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90, p.6252-6256.
- 62- BREDT, D.S., GLATT, C.E., HWANG, PM., et al. 1991. Nitric oxide synthase protein and mRNA are discretely localized in neuronal populations of the mammalian CNS together with NADPH diaphorase. *Neuron.*, 7, p.615-624.
- 63- NAKANE, M., SCHMIDT, H.W., POLLOCK, J.S. et al. 1993. Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle. *FEBS lett.* 316, p.175-180.
- 64- NATHAN, C. 1992. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB.*, 6, p.3051-3064.
- 65- ABU-SOUD, H.M. and STUEHR, D.J. 1993. Nitric oxide synthases reveal a role for calmodulin in controlling electron transfer. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90, p.10769-10772.
- 66- WANG, J., STUEHR, D.J., IKEDA-SAITO, M. and ROUSEAU, D.L. 1993. Heme coordination and structure of the catalytic site of nitric oxide synthase. *J. Biol. Chem.* , 268 ,p.22255-22258.
- 67- STAMLER, J.S., SIMON, D.L., JAROKI, O.,et al. 1992b. S-nitrosilation of proteins with nitric oxide: synthesis and characteris of biologically active compounds. *Proc. Acad. Sci.*, 89, p.444-448.
- 68- STAMLER, J.S., JAROKI, O., OSBOURNE, J.A., et.al. 1992a. Nitric oxide circulates mammalian plasma primarily as a S-nitrosoalbumin of serum albumin. *Proc. Acad. Sci.*, 89, p.7674-7677.
- 69- BREDT, D.S., FERRIS, C.D. and SNYDERS, H.1992. Nitric oxide synthase regulatory sites. Phosphorylation by cyclic AMP-dependent protein kinase, protein kinase C, and calcium/calmodulin protein kinase C, identification of flavin and calmodulin binding sites. *J. Biol. Chem.*, 267, p.10976-10981.

- 70- NORTAN,C.1992.Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells.FASEB.,6,p.3051-3064.
- 71- NUSSLER,A.K. and BILLIAR T.R. 1993. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *J. Leukocyte. Biol.*, 54, p.171-178.
- 72- SIDNEY, M., MORRIS, J.R., TIMOTHY, R. and BILLIAR. 1994. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *Am. J. Physiol.*, 266, p.E829-E839.
- 73- JOLY, G.A., SCHINI, V.B. and VANHOUTTE, P.M. 1992. Ballon injury and interleukin-1 β induce nitric oxide synthase activity in rat carotid arteries. *Circ. Res.*, 71, p.331-338.
- 1- VERBEUREN, T.J., BONHOMME, E., LAUBIE,M. and SIMONET,S. 1993. Evidence for induction of nonendothelial NO synthase in aortas of cholesterol-fed rabbits. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 21, p.841-845.
- 75- BRAUNWALD,E. 1992. Heart Disease. Risk Factors for Coronary Artery Disease. W.B. Saunders, Vol.2, p.1125-1161, Philadelphia.
- 76- GADDUM, J.H. and PICARELLI, Z.P. 1957. Two kinds of tryptamine receptor. *Br. J. Pharmacol.*, 12, p.323-328.
- 77- PEROTKA, S.J. 1984. 5-HT₁ receptor sites and functional correlates. *Neuropharmacology.*, 23, p.1487-1492.
- 78- BREDLEY, P.B., ENGEL, G. and FENIUK,W. 1986. Proposal or the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology.*, 25, p.563-576.
- 79- HOYER, D. and MIDDEMISS, D.N. 1989. Species differences in the pharmacology of terminal 5-HT autoreceptors in mammalian brain. *TIPS.*, 10, p.130-134.
- 80- SANDERS, E. and MAYER, S.E. 1996. 5-Hydroxytryptamine receptor agonists and antagonist. In A.Goodman Gilman Editor. *The Pharmacological basis of therapeutics*. 9 th. Edition., Mc Graw.Hill., p.249-269., Newyork.
- 81- JULIUS, D., LIVELLI, T.J. and JESSELL, J.M. 1989. Ectopic expression of the 5-HT_{1c} receptor and the triggering of malignant transmutation. *Science.*, 244, p.1057-1062.
- 82- HARDER, D.R., SANCHEZ-FERRER, C.F., KAUSER, K., et al. 1989. Pressure releases a transferable endothelial contractile factor in cerebral arteries. *Circ. Res.*, 65, p.193-198.
- 83- CONNOR, H.E. and FENIUK, W. 1989. Influence of the endothelium on contractile effects of 5-hydroxytryptamine and selective 5-HT agonists in canine basiler artery. *Br.J. Pharmacol.*,96,170-178.
- 84- MARLETTA, M.A., YOON, P.S., LYENGAR, R., et al. 1988. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate. *Biochemistry.*, 27, p.8706-8711.

- 85- EGLLEN, R.M., MICHEL, A..D., SHARIF, N.A., et al. 1989. The pharmacological properties of the peptide endothelin. *Br. J. Pharmacol.*, 97, p.1297-1307.
- 86- INOVE, A., YANAGISAWA, M. and KIMURA, S. 1989. The human endothelin family: Three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 86, p.2863-2867.
- 87- STONLEY, A.R. AND ELLIS, R.C. 1994. The endocrinology of vasoactive peptides: Synthesis to function. *Clin. Endocrinol. Metab.*, 78, p.6-10.
- 88- YOKOKAWA, K., KOHNO, M. and YASUNARI, K. 1991. Endothelin 3 regulates endothelin-1 production in cultured human endothelial cells. *Hypertension.*, 18, p.304-315.
- 89- MASAKI, T., KIMURA, S., YANAGISAWA, M. and GOTO, K. 1991. Molecular and cellular mechanism of endothelin regulation: Implications for vascular function. *Circulation.*, 84(4), p.1457-1468.
- 90- KARAKI, H., SUDJARWO, S.A. and HORI, M. 1994. Novel antagonist of endothelin ET_{B1} and ET_{B2} receptors, BQ-T88: Effects on blood vessels and small intestine. *Biophys. Res. Commun.*, 207(1), p.168-173.
- 91- RESINK, T.J., SCOTT-BURDEN, T. and BUHLER, F.R. 1988. Endothelin stimulates phospholipase C in cultured vascular smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157, p.1360-1368.
- 92- TAKUWA, Y., KASUYA, Y. and YAMASHITA, K. 1990. Endothelin receptor is coupled to phospholipase C via a pertussis toxin-insensitive guanine-nucleotide binding regulatory protein in vascular smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.*, 85, p.653-658.
- 93- MACLEAN, M.R., RANDALL, M.D. and HILEY, C.R. 1989. Effects of moderate hypoxia, hypercapnia and acidosis on haemodynamic changes induced by endothelin 1 in pithed rat. *Br. J. Pharmacol.*, 98, p.1055-1065.
- 94- DOHL, Y., HAHN, A.W., BOULANGER, C.M., et al. 1992. Endothelin stimulated by angiotensin II augments contractility of spontaneously hypertensive rat resistance arteries. *Hypertension.*, 19, p.131-137.
- 95- YANG, Z.H., RICHARD, V., VON SEGESSER, L., et al. 1990c. Threshold concentrations of endothelin 1 potentiate contractions to norepinephrine and serotonin in human arteries. A new mechanism of vasospasm? *Circulation.*, 82, p.188-195.
- 96- HIRATA, Y., YOSIMI, H., TAKAICHI, S., et al. 1988. Binding and receptor down-regulation of a novel vasoconstrictor endothelin in cultured rat vascular smooth muscle cell. *FEBS Lett.*, 239, p. 13-17.
- 97- MASAKI, T., YANAGISAWA, M. and GOTO, K. 1992. Physiology and pharmacology of endothelin. *Med. Res. Rev.* 12, p.391-421.

- 98- NEILD, G.H. 1994. Endothelin plasma levels in hypertensive patient with vascular disease. *J.Hypertens.*, 12(1), p.17-20.
- 99- WATANABE, T., SUZUKI, N. and SHIMAMATO, N. 1990. Endothelin in myocardial infarction. *Nature*. 344, p.114-118.
- 100-ALFREDO, C., ANDREW, S., KONNETH, M., et al. 1993. Physiological significance of endothelin. *Circulation. Suppl* 5,85,5, p.45-49.
- 101-KANNO, K. and YUKIO, H. 1989. Endothelin-1 and vasculitis. *JAMA.*, 257, p. H799-H803.
- 102-GEDIK, O. AKALIN, S. Modern tıp seminerleri: Diabetes Mellitus. Güneş Kitapevi, Ankara, 1989
- 103-YOON, J.W., AUSTIN, M., ONODERA, T. and NOTKINS, A.L., 1979 Virus - induced diabetes mellitus: isolation of a virus from the pancreas of a child with diabetic ketoacidosis. *New Engl. J. Med.*, 300, p. 1173 - 1179.
- 104-BETTERLE, C. ZANETTE, F., PEDINI, B., et al. 1984. Clinical and subclinical organ-specific autoimmune manifestations in type 1 (insulin - dependent) diabetic patients and their first degree relatives. *Diabetologia.*, 26, p: 431 - 436.
- 105-WILKIN, T.J. 1990. Receptor autoimmunity in endocrine disorders. *New. Engl. J. Med.* 323, p.1318 - 1324.
- 106-ELSAS, L.J., LONGO, N., LANGLEY, S., et al. 1989. Molecular genetics of severe insulin resistance. *Yale. J. Biol. Med.*, 62, p: 533 - 547.
- 107-TAGER, H. 1984. Abnormal products of the human insulin gene. *Diabetes.*, 33, p. 693 - 699.
- 108- ROBERTSON, R.P. and CHEN, M. 1977. A role for prostaglandin E₂ in defective insulin secretion and carbohydrate intolerance in diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, 60, p: 747 - 753.
- 109- BORISOVA, A.M., ZAHARIEVA, S., TANKOVA, T.S.V. and POPOVA, J. 1991. Prostaglandin E₂ effects both insulin secretion and peripheral insulin sensitivity. *Diabet. and Metab.*, 17, p. 346 - 349.
- 110-SLIEKER, L.J. ROBERTS, E.F., SHAW, W.N. and JOHNSON, W.T. 1990. Effect of streptozotocin - induced diabetes on insulin - receptor - tyrosine kinase activity in obese Zucker rat. *Diabetes*. 39, p: 619 - 625.
- 111-BLOCK, N.E., KOMORI, K., ROBINSON, K.A., et al. 1991. Diabetes - associated impairment of hepatic insulin receptor tyrosine kinase activity: A study of mechanism. *Endocrinology.*, 128, p. 312 - 322.
- 112- LARNER, J., LAWRENCE, J.C., WALKENBACH, P.J., et al. 1977. Insulin control of glycogen synthesis. In *Endocrine Pancreas and Diabetes (Proceedings of the First*

International Symposium, Caracas, Venezuela 19 - 23 June, International Congress Series 459), p: 147 - 171. Excerpta Medica, Amsterdam - Oxford.

- 113- GARVEY, W.T., HUECKSTEADT, T.P. and BIRNBAUM M.J. 1989. Pretranslational suppression of an insulin responsive glucose transporter in rats with diabetes mellitus. *Science* (Wash. Dc). 245, p: 60 - 63.
- 114- STROUT, H.V., VICARIO, P.P., BISWAS, C., et al. 1990. Vandalate treatment of streptozotocin diabetic rats restores expression of the insulin responsive glucose transporter in skeletal muscle. *Endocrinology.*, 126, p. 2728 - 2732.
- 115-FOSTER, D.W. 1984. From glycogen to ketones and back. *Diabetes.*, 33, p: 1188 - 1199.
- 116-TESFAMARIAM, B., JAKUBOWSKI, J.A. and COHEN, R.A. 1989. Contraction of diabetic rabbit aorta due to endothelium derived PGH₂/TXA₂. *Am. J. Physiol.*, 257, p. H1327-H1333.
- 117-OYAMA, Y, KAWASAKI, H., HATTORI Y. and KANNO, M. 1986. Attenuation of endothelium-dependent relaxation in aorta from diabetic rats. *Eur J Pharmac.*, 131, p.75-78.
- 118-HOGAN, M., CERAMI, A. and BUCALA, R.1992. Advanced glycosylation and products block the antiproliferative effect of nitric oxide : Role of vascular and renal complication of diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, 90, p. 1110 - 1115.
- 119-HAWTHORNE, G.C., BATLETT, K., HETHERINGTON, C.S. and ALBERTI K.G.M.1989. The effect of high glucose on polyol pathway activity and myoinositol mechanism in cultured human endothelial cells. *Diabetologia.*, 32, p.163,166.
- 120-CAMERON, N.E. and COTTER, M.A. 1992. Impaired contraction and relaxation in aorta from streptozocin - diabetic rats: role of polyol pathway. *Diabetologia.*, 35 (11), p. 1011 - 1019.
- 121-KING, G.L. and BANSKOTA, N.K. 1994. Mechanisms of diabetic microvascular complications In: Kahn C.R., Weir G.C. editors. *Joslin's Diabetes Mellitus* Lea and Febiger, p. 631- 641, Philadelphia.
- 122-GREENE, D.A., LATTIMER, S.A., SIMA, A.F., et al. 1987. Sorbitol, phosphoinositides and sodium- potassium- ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. 316, p: 599-606.
- 123-GIUGLIANO, D., CERIELLO, A. and PAOLISSO, G. 1995. Diabetes mellitus, hypertension and cardiovascular disease: The role of oxidative stress. *Metabolism*, 44, p. 363 - 368.
- 124-GUPTO, S., SUSSMON, I., et al 1992. Endothelium - dependent inhibition of Na⁺ - K⁺ - ATPase activity in rabbit aorta by hyperglycemia: Possible role of endothelium-derived nitric oxide. *J. Clin. Invest.*, 90, p.727 - 732.

- 125-ROSENBERG, C.R., MODRAK, J.B. and HASSING, J.M., et al. 1979. Glycosylated collagen. Biochem. Biophys. Res. Commun., 91, p. 498-501.**
- 126-BROWLEE, M., CERAMI, A. and VLASSARA, H. 1988. Advanced glycosylation end production in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. N. Engl. J. Med, 318.p. 1315-1321.**
- 127-FAGAN, J.M., SATARUG, S., COOK,P. and TISCHLER, M.E. 1987. Rat muscle protein turnover and redox state in progressive diabetes. Life Sci., 40,p. 783-790.**
- 128-GUPTA, S., RIFICI, V., CROWLEY, S., et al. 1992. Interaction of LDL and modified LDL, with mesangial cells and matrix. Kidney Int., 41, p. 1161-1169.**
- 129-BUCALA, R., TRACEY, K.J. and CERRAMI, A. 1991. Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilation in experimental diabetes. J. Clin Invest, 87, p: 432 - 438.**
- 130-BROWLEE M. 1994. Glycosylation and diabetic complication. Diabetes., 43, p. 836-841.**
- 131-BROWLEE, M., VLASSARA, H., KLOONEY, A., et al. 1986. Aminoguanidine prevents diabetes- induced arterial wall protein cross-linking. Science.(Wash. DC), 232, p.1629-1632.**
- 132-TESFAMARIAM, B., BROWN, M.L. and COHEN R.A. 1991. Elevated glucose impairs endothelium - dependent relaxation by activating protein kinase C. J. Clin. Invest., 87, p. 1643-1648.**
- 133-OWEN, M.P. and CARRIER, G.O. 1980. Calcium dependence of norepinephrine-induced vascular contraction in experimental diabetes. J. Pharmacol. Exp. Ther., 122,p. 253-258.**
- 134-LEGAN,E.1989. Effects of streptozotocin induced hyperglycemia on agonist stimulated phosphatidylinositol turnover in rat aorta. Life Sci.,45, p. 371-378.**
- 135-WILLIAMS,B. 1995. Glucose-induced vascular smooth muscle dysfunction: The role of protein kinase C. Journal of Hypertension., 13, p.477-486.**
- 136-COHEN, R.A. 1993. Dysfunction of vascular endothelium in diabetes mellitus. Circulation., 87(Supp V),p.V67-V76.**
- 137-TESFAMARIAM, B. and COHEN, R.A. 1992. Role of superoxide anion and endothelium in vasoconstrictor action of prostaglandin endoperoxide. Am. J. Physiol., 31, p.1915-1919.**
- 138-KUNISAKI, M., BURSELL, S.E., UMEDA, F., et al. 1994. Normalization of diacylglycerol-protein-kinase C activation by vitamin E in aorta of diabetic rats and cultered rats vascular smooth muscle cells exposed to elevated glucose levels. Diabetes., 43, p. 1372-1377.**
- 139-DAVIS, S.N. and GRANNER, D.K. 1996. Insulin, oral hypoglycemic agents and the pharmacology of the endocrine pancreas. 6.In A.Goodman Gilman Editor. The**

Pharmacological basis of therapeutics. 9 th. Edition., Section XIII, Chapter 60.,p.1497-1500.
Newyork: Graw.Hill.

- 140-CHOIT, A. and BIERMAN, E.L. 1994. Pathogenesis of macrovascular disease in diabetes. *Joslin's. Diabetes.*, 38, p.641-651.
- 141-GARCIA LEME, J., BÖHM, G.M., MIGLIORINI, R.H. and SOUZA, M.Z.A. 1974. Possible participation of insulin in the control of vascular permeability. *Eur.J. Pharmacol.*, 29, p. 298-306.
- 142-COLLWELL, J.A., WINOCOUR, P.D., LOPES-VIRELLA, M. and HALUSHKA, P.V. 1983. New concepts about to patogenesis of atherosclerosis in diabetes mellitus. *Am. J. Med.*, 75, p.67-79.
- 143-LIN, S.J., HONG, C.Y., CHANG, M.S., et al. 1993. Increased aortic endothelial death and enhanced transendothelial macromoleculer transport in streptozotocin diabetic rats. *Diabetologia.*,36, p. 926-930.
- 144-KOSCHINSKY, T., BUNTING,C.E., SCHIPPERT, B. and GRIES, F.A. 1979. Increased growth of human fibroblast and arterial smooth muscle cells from diabetic patients related to diabetic serum factors and cell origin. *Atherosclerosis*, 33, p. 245-252.
- 145-HANASAKI, K., NAKANO, T. and ARITA, H. 1990. Receptor mediated mitojenic effect of thromboxane A₂ in vascular smooth muscle cells. *Biochem. Pharmacol.*, 40, p.2535-2542.
- 146-BORNFELDT, K.E., ARNQVIST, H.J. and CAPRON, L. 1992. in vivo proliferation of rat vascular smooth muscle in relation to diabetes mellitus insulin-like growth factor I and insulin. *Diabetologia.*, 35, p.104-108.
- 147-ALLIPUI, C., TENNER, T.E.JR and RAMOS, K. 1991. Rabbit aortic smooth muscle cell cultered: A model for the pharmlological study of diabetes- induced alterations in cell proliferation. *J. Pharmacol. Methods.*, 26, p.211-222.
- 148-DOLGOV, V.V., ZAUKINA, O.E., BONDARENKO, M.F. and REPIN,U.S. 1982. Aortic endothelium of alloxan diabetic rabbits: A quantitavive study using scanning electron microscopy. *Diabetologia.*, 22, p.338-343.
- 149-LORENZI, M., CAGLIERO, E. and TOLEDO, S. 1985. Glucose toxicity for human endothelial cells in culture: Delayed perlication, disturbed cell cycle,and accelerated death. *Diabetes.*, 34, p. 621-627.
- 150-HADCOCK, S., RICHARDSON, M., WINNOCOUR, P.D. and HATTON, M.W. 1991. Intimal alterations in rabbit aortas during the first 6 months of alloxan- induced diabetes. *Arterioscler. Tromb.*, 11, p. 517-529.
- 151-RICHARDSON, M., HADCOCK, S. J., DE RESKE, M. and CYBULSKI, M.I. 1994. Increased expression in vivo of VCAM-1 and E-selectin by the aortic endothelium of normolipemic and hyperlipidemic diabetic rabbits. *Arterioscler. Thromb.*, 14, p.760-769

- 152-NOURSHARGY, S. and WILLIAMS, T.J.** 1990. Neutrophil-endothelial cell interactions in vivo. In *The Endothelium: An Introduction to Current Research*, ed. By J.B. Warren, p. 171-186, Wiley-Liss, London.
- 153-SANTILLI, S.M., FIEGEL, V.D., ALDRIDGE, D.E. and KNIGHTON, D.R.** 1992. The effects of diabetes on the proliferation of aortic endothelial cells. *Ann. Vasc. Surg.*, 6, p. 503-510.
- 154-HAMON, M., VALLET, B., BAUTERS, C., et al.** 1994. Long-term oral administration of L-arginine reduces intimal thickening and enhances neoendothelium-dependent acetylcholine-induced relaxation after arterial injury. *Circulation.*, 90, p. 1357-1362.
- 155-SCHINI, V.B., CATOVSKY, S., SCHRAY-UTZ, B., et al** 1994b. Insulin-like growth factor I inhibits induction of nitric oxide synthase in vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.*, 74, p. 24-32.
- 156-KOH, E., MORIMOTO, S., JIANG, B., et. al.** 1993. Effects of prostacyclin, on hyperplasia, hypertrophy and glycosaaminogly can synthasesis in rat aortic smooth muscle cells. *Artery.*, 20, p.242-252.
- 157-SHIROTANI, M., YUI, Y., HATTORI, R. and KAWAJ, C.** 1991. U-61, 431F, a stable prostacyclin analogue, inhibits proliferation of bovine vascular smooth muscle cells with little antiproliferative effect on endothelial cells. *Prostaglandins.*, 41, p. 97-110.
- 158-RIDRAY, S., CAPRON, L., HEUDES, D., et al.** 1991. Effects of fasting and refeeding on the proliferative response of rat aorta to injury. *Am. J. Physiol.*, 261, p. H190- H195.
- 159-SANTILLI, S.M., FIEGEL, V.D. and KNIGHTON, D.R.** 1993. Alloxan diabetes alters the rabbits transendothelial wall oxygen gradient. *J. Vasc. Surg.*, 18, p.227-233.
- 160-CHRISTLIEB AR.** 1973. Diabetes and hypertensive vascular disease. *Am. J. Cardiol.* 32,p. 592-606.
- 161-ALTAN, V.M., KARASU, Ç. and ÖZÜARL, A.** 1989. The effects of Type-1 and Type-2 diabetes on endothelium-dependent relaxation in rat aorta. *Pharmac. Biochem and Behav.*; 33:519-522.
- 162-ABIRU, T., WATANABE, Y., KAMATA, K., et al.** 1990. Decrease in endothelium-dependent relaxation and levels of cyclic nucleotides in aorta from rabbits with alloxan-induced diabetes. *Res. Commun. Chem. Path. Pharmac.*, 68, p.13-25.
- 163-KAMATA, K., MIYATA, N. and KASUYA, Y.** 1989. Decrease in endothelium-dependent relaxation and changes in levels of cyclic GMP in aorta from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br. J. Pharmac.*, 97, p.614-618.
- 164-DURANTE, W., SEN, A.K. and SUNAHARA, F.F.** 1988. Impairment of endothelium-dependent relaxation in aorta from spontaneously diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.*; 94:463-468.

- 165-KAMOI, K., ISHIBASHI, M. and YAMAJI, T. 1994. Endothelin-1 and big endothelin-1 in NIDDM patients with and without microangiopathy. *Diabetes Research and Clinical Practice.*, 24, p.125-129.
- 166-MULHERN, M. and DOCKERTY, JR. 1989. Effects of experimental diabetes on the responsiveness of rat aorta. *Br J Pharmacol.*, 97, p.1007-1012.
- 167-HEAD, R.J., LONGHURST, P.A., PANEK, R.L. and STITZEL, R.E. 1987. A contrasting effect of the diabetic state upon the contractile responses of rat aortic preparations from the rat and rabbit. *Br. J. Pharmacol.*, 91, p.275-286.
- 168-MERAJI, S., JAYAKODY, L., MANOHORA, P., et al. 1987. Endothelium-dependent relaxation in aorta of BB rat. *Diabetes.*, 36, p.978-981.
- 169-FELETOU, M., MOREAU, N. and DUHAU, H.J. 1994. Vascular responsiveness in young, diabetic and aging hyperinsulinemic rats. *Life Sci.*, 54, p.1801-1813.
- 170-WAKABAYASHI, I., HATAKE, K., KIMURA, M., et al. 1987. Modulation of vascular tonus by the endothelium in experimental diabetes. *Life Sci.*, 40, p.643-648.
- 171-KARASU, Ç. and ALTAN, V.M. 1993. The role of endothelial cells on the alterations in vascular reactivity induced by insulin-dependent diabetes mellitus: Effects of insulin treatment. *Gen.pharmacol.* 24, p.743-755.
- 172-WHITE, R.E. and CARRIER, G.O. 1986. Supersensitivity and endothelium-dependence of histamine-induced relaxation in mesenteric arteries isolated from diabetic rats. *Pharmacology (Basel)*, 33, p.34-38.
- 173-ORIE, N.N., ALOMAKA, C.P. and IYAKE, V.I. 1993. Duration-dependent attenuation of acetylcholine-but not histamine-induced relaxation of the rat aorta in diabetes mellitus. *Gen.Pharmacol.*, 24, p.329-332.
- 174-MAYHAN, W.G., SIMMONS, L.K. and SHARPE, G.M. 1991. Mechanism of impaired responses of cerebral arterioles during diabetes mellitus. *Am.J.Physiol.*, 260, p. H319-H326.
- 175-WEI, E.P., KONTOS, H.A., CHRISTMAN, C.W., et al. 1985. Superoxide generation and reversal of acetylcholine-induced cerebral arteriolar dilation after acute hypertension. *Circ.Res.*, 57, p.781-787.
- 176-GRYGLEWSKI, R.J., PALMER, R.M.J. and MONCADA, S. 1986. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature.(Lond)*, 320, p. 454-456.
- 177-TAYLOR, P.D. and POSTON, L. 1994. The effect of hyperglycemia on rat isolated mesenteric resistance artery. *Br. J. Pharmacol.* 113, p.801-808.
- 178-PIPER, G.M. and GROSS, G.J. 1988. Oxygen free radicals abolish endothelium-dependent relaxation in diabetic rat aorta. *Am. J. Physiol.*, 255(Heart Circ Physiol 29), p.H825-H833.

- 179-TEFAMARIAM, B. and COHEN, R.A.1992. Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. *Am. J. Physiol.*, 263, p.H321-H326.
- 180-HATTORI, Y., KAWASAKI, H., KAZUHIRO, A. and KANNO, M. 1991. Superoxide dismutase recovers altered endothelium-dependent relaxation in diabetic rat aorta. *Am. J. Physiol.*, 261, p. H1086-H1094.
- 181-KAMATA, K., SUGIURA, M. and KASUYA, Y. 1995. Decreased Ca²⁺ influx into the endothelium contributes to the decrease in endothelium-dependent relaxation in the aorta of streptozotocin-induced diabetic mice. *Res. Commun. Pathol. Pharmacol.* 90(1), p. 69-74.
- 182-ENDO, K., ABIRU, T.,MACHIDA,H., et al. 1995. Endothelium-derived hyperpolarizing factor does not contribute to the decrease in endothelium-dependent relaxation in the aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. *Gen. Pharmacol.*,26,p.149-153.
- 183-RAPPOPORT, R.M. and MURAD, F. 1983. Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circ. Res.*, 52, p.352-357.
- 184-FURCHGOTT, R.F. 1984. The role of endothelium in responses of vascular smooth muscle to drugs. *Annu. Rev. Pharmacol.Toxicol.*,24,p. 175-197.
- 185-IGNARRO, L.J. and KADOWITZ, P.J. 1985. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth relaxation. *Annu.Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 25, p. 171-192.
- 186-HARRIS, K.H. and MACLEOD, M. 1988. Influence of the endothelium on contractile responses of arteries from diabetic rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 153, p. 55-64.
- 187-ABIRU, T., KAMATA, K. and KASUYA,Y. 1991. Effects of cronic diabetes on vascular responses of basilar artery and aorta from rabbits with alloxan-induced diabetes. *Res. Commun. Chem. Path. Pharmacol.*, 74(1), p.71-87.
- 188-HAAK, T., JUNGMANN, E., FELBER, A., et al. 1992. Increased plasma levels of endothelin in diabetic patients with hypertension. *Am .J. Hypertens.*, 5, p. 161-166.
- 189-KANNO, K., HITATA, Y., SHICHIRI, M. and MARUMO, F. 1991. Plasma endothelin-1 levels in patients with diabetes mellitus with or without vascular complications. *J. Cardivasc. Pharmacol.*, 17(Suppl 7), p. S475-S476.
- 190-VANE, J.R., ANGGARD, E.A. and BOTTING, R.M. 1990. Regulatory functions of the vascular endothelium. *New. Engl. J. Med.*, 323, p.27-36.
- 191-SIMONSEN, M.S. 1993. Endothelins: Multifunctional renal peptides. *Physiol. Rev.*, 78, p.375-411.
- 192-YAMAUCHI, T., OHNAKA, K, TAKAYANAGI, R.,et al. 1990. Enhanced secretion of endothelin-1 by elevated glucose levels from cultured bovine aortic endothelial cells. *FEBS Lett.*, 267, p.16-18.

- 193-HATTORI, Y., KASAI, K., NAKAMURA, T., et al. 1991 a. Effect of glucose and insulin on immunoreactive endothelin-1 release from cultured porcine endothelial cells. *Metabolism.*, 40, p.165-169.
- 194-TAKEDA, Y., MIYAMORI, I., YONEDA, T. and TAKEDA, R. 1991. Production of endothelin-1 from mesenteric arteries of streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci.* 48, p.2553-2556.
- 195-AWAZU, M., PARKER, R.E., HARVIE, B.R., et al. 1991. Down-regulation of endothelin-1 receptors by protein kinase C in streptozotocin diabetic rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 17 (suppl. 7), p.S500-S502.
- 196-MIASIRO, N. and PAIVA, A.C.M. 1990. Homologous desensitization of the effects of endothelin on rabbit aorta rings and on cultured rat aorta smooth muscle cells. *Eur. J. Pharmacol.*, 179, p. 151-158.
- 197-FULTON, D.J.R., HODGSON, W.C., SIKORSKI, B.W. and KING, R.G. 1991. Attenuated response to endothelin-1, KCl and CaCl₂ but not noradrenaline of aortae from rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Br. J. Pharmacol.*, 104, p. 928-932.
- 198-DE NUCCI, G., THOMAS, R., D'ORLEANS, J.P., et al. 1988. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium derived relaxing factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85, p. 9797-9788.
- 199-THIEMERMANN, C., LIDBURY, P.S., THOMAS, G.R. and VANE, J.R. 1989. Endothelin releases prostacyclin and inhibits ex vivo platelet aggregation in the anesthetized rabbit. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 13 (suppl. 5), p.S138-S141.
- 200-BOTTING, R.M. and VANE, JR. 1990. Endothelins: Potent releasers of prostacyclin and EDRF. *Pol. J. Pharmacol.*, 42, p. 203-218.
- 201-FOZARD, J.R. and PART, M.L. 1992. The role of nitric oxide in the regional vasodilator effects of endothelin 1 in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 105, p. 744-750.
- 202-LERMAN, A., SANDOK, E.K., HILDEBRAND, F.L. and BURNETT, J.C. 1992b. Inhibition of endothelium derived relaxing factor enhances endothelin mediated vasoconstriction. *Circulation.*, 85, p. 1894-1898.
- 203-OWEN, M.P. and CARRIER, G.O. 1979. Alteration in vascular smooth muscle sensitivity to vasoconstrictor agents by streptozotocin induced diabetes. *Proc. West. Pharmacol. Soc.*, 22, p. 363-366.
- 204-HAGEN, A.A., SHIRASAWA, Y. and WHITE, R.P. 1985. Experimental diabetes: reduction of serotonin induced vasoconstriction by meclofenamic acid in vitro. *Pharmacology.*, 30, p. 197-204.

- 205-McLEOD, K.M. and MCNEIL, J.H. 1985. The influence of chronic experimental diabetes on the contractile response of rat isolated blood vessels. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 63, p.52-57.
- 206-NAKAKI, T., ROTH, B.L., CHUANG, D.M. and COSTA, E.K. 1985. Phasic and tonik components in 5-HT₂ receptor-mediated rat aorta contraction: Participation of Ca⁺⁺ channels and phospholipase C. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 234, p. 442-446.
- 207-HODGSON, W.C. and KING, R.G. 1992. Effects of glucose, insulin or aldose reductase inhibition on responses to endothelin-1 of aortic rings from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.*, 106, p. 644-649.
- 208-INOBUCHI, T., XIA, P., KUNISAKI, M., HIGASHI, S., et al. 1994. Insulin's effect on protein kinase C and diacylglycerol induced by diabetes and glucose in vascular tissues. *Am.J.Physiol.*, 267, p. E369-E379.
- 209-STEPHENSON, R.P. 1956. A modification of receptor theory. *Br. J. Pharmacol.*, 11, p. 379-393.
- 210-JAMES, G.M. , HODGSON, W.C., DAVIES, E.A. and HAYNES, J.M. 1994. Attenuated 5-hydroxytryptamine receptor-mediated responses in aortae from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br.J. Pharmacol.*, 111, p. 370-376.
- 211-CHAOULOFF, F., LAUDE, D. AND BAUDRIE, V. 1990. Effects of 5-HT_{1C}/5-HT₂ receptor agonist DOI and α -methyl-5-HT on plasma glucose and insulin levels in the rat. *Eur. J. Pharm.*, 187, p.435-443.
- 212-ANGUS, J.A. and COCKS,T.M. 1989. Endothelium derived relaxing factor. *Pharmac. Ther.*, 41, p. 303-351.
- 213-CORBET, J.A., TILTON, R.G., CHANG, K., et al. 1992. Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. *Diabetes.*, 41, p. 552-556.
- 214-HAGEN, A.A., WHITE, R.P. and ROBERTSON, J.T. 1979. Synthesis of prosta glandins and tromboxane A₂ by cerebral arteries. *Stroke.*, 10, p. 306-309.
- 215-CHAPLEAU, C.E., WHITE, R.P. and ROBERTSON, J.T. 1980. Cerebral vaso- spasm : Effects of prostaglandin synthetase inhibitors in vitro. *Neurosurgery.*, 6, p. 155-158.
- 216-HARRISON, H.E., REECE,A.H. and JOHNSON, M. 1978. Decreased vascular prostacyclin in experimental diabetes. *Life Sci.*, 23, p. 351-356.
- 217-SUBBIAH, M.T.R. and DEITEMEYER, D. 1980. Altered synthesis of prostaglandins in platelet and aorta from spontaneously diabetic Wistar rats. *Biochem. Med.* , 23, p.231-235.

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ İZOLE SIÇAN
TORASİK AORTASINDA AGONİSTLERE KARŞI VASKÜLER
DÜZ KASIN VERDİĞİ YANITLARIN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ARAŞ. GÖR. ECZ. ESİN GÖLDELİ**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : Haziran 1997
Tezin Savunulduğu Tarih :**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Nejat Gacar**

Üye

Üye

(.....)

(.....)

(.....)

HAZİRAN 1997

ÖZGEÇMİŞ

- 1965 İzmir’de doğdu.
- 1973-1977 İlköğretimini Denizli Gazi İlkokulu’nda
- 1977-1982 Orta öğretimini İzmir Özel Türk Lisesi’nde
- 1982-1986 Yüksek öğretimini Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’nde tamamladı.
- 1987-1988 Pazar/Rize’de serbest eczacı olarak çalıştı.
- 1992-1993 Trabzon SSK Hastane’inde sözleşmeli eczacı olarak çalıştı.
- 1993-1994 Trabzon K.T.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrencisi olarak başladı.
- 1995-1997 Kocaeli Araştırma ve Uygulama Hastanesi Farmakoloji Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak Yüksek Lisans Öğrenimine devam etmektedir.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**