



**DİYABETİK SIÇANLARDA SİSTEMİK ADROPİN UYGULAMASININ
KARDİYOVASKÜLER SİSTEM ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Fathia Hussien MOHAMED MOHAMED

**DOKTORA TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

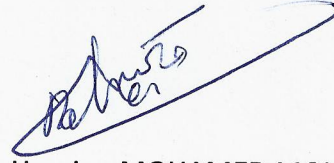
AĞUSTOS 2020

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yaralandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Fathia Hussien MOHAMED MOHAMED

05 / 08 / 2020

DİYABETİK SIÇANLARDA SİSTEMİK ADROPİN UYGULAMASININ
KARDİYOVASKÜLER SİSTEM ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ
(Doktora Tezi)

Fathia Hussien MOHAMED MOHAMED

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ağustos 2020

ÖZET

Diyabetes mellitus(DM) insülin yapımında, salınımında veya dokularda insüline yanıtta bozulmayla karakterize bir hastalıktır. Kontrolsüz diyabette akut ve kronik komplikasyonlarla karşılaşılabilir. Diyabetik kardiyomiopati patogeneğinde yer alan hiperglisemi aracılı oksidatif stresin tedavisinde, antioksidan savunmanın rolü yeni tedavi yaklaşımları açısından oldukça önemlidir. Adropin endotel hücrelerde enerji homeostazisinin ve insülin duyarlılığının sürdürülmesinde görev alan düzenleyici bir proteindir, kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilidir. Çalışmamızda streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan sıçanlarda, sistemik adropin uygulamasının; kalp ve aort dokuları üzerindeki biyokimyasal ve morfolojik etkilerini incelemeyi amaçladık. Çalışmada 180-250 gram ağırlığında 50 adet erkek Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Gruplar; Kontrol (K:n=12), Kontrol+Adropin (KA: n=12), Diyabet (D:n=13), Diyabet+Adropin (DA:n=13) şeklinde oluşturuldu. Diyabet 65mg/kg/ (i.p.) STZ enjeksiyonu ile yapıldı. Adropin, STZ yapılmasından 10 hafta sonra, günde 2 defa 450 nmol/kg/gün (i.p.) olacak şekilde 10 gün uygulandı. Çalışmanın sonunda hayvanlar Ketamin-Ksilazin anestezisi altında intrakardiyak kan alınmasıyla feda edildi. Çalışma sonunda kalp ve aort dokularında total oksidan (TOS), total antioksidan (TAS), paraoksonaz (PON), arilesteraz (ARE), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) seviyeleri tespit edildi. Kalp ve aort dokularının kollajen lif yoğunluğu ve aort tunika media (TM) kalınlığı değerlendirildi. Sonuçlar SPSS-21 programıyla, two-way ANOVA ve Posthoc Tukey ile değerlendirildi, $p<0,05$ değerleri anlamlı kabul edildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Diyabet grubunda kalp ve aort TOS, TNF- α ve kollajen yoğunluğu düzeyleri, TM kalınlığı anlamlı olarak arttı, kalp ve aort TAS, PON, ARE, VEGF düzeyleri anlamlı şekilde azaldı. Adropin uygulaması diyabete bağlı artan TNF- α ve kalp TOS düzeylerinde anlamlı şekilde azalmaya neden olurken, diyabetin neden olduğu azalmış kalp ve aort TAS, ARE, PON ve VEGF seviyeleri adropin uygulamasıyla anlamlı şekilde arttı. KA grubunda K grubuyla karşılaştırıldığında kalp ve aort TOS seviyeleri anlamlı şekilde artarken, PON ve ARE seviyeleri anlamlı olarak azaldı.

Bilim Kodu : 1023
Anahtar : Diyabetes Mellitus, Oksidatif Stres, Adropin, Kardiyovasküler Sistem,
Kelimeler Paraoksonaz, Arilesteraz
Sayfa Adedi : 123
Danışman : Prof. Dr. Çiğdem Özer

THE EFFECTS OF SYSTEMIC ADROPIN TREATMENT ON CARDIOVASCULAR SYSTEM IN DIABETIC RATS

(Ph. D. Thesis)

Fathia Hussien MOHAMED MOHAMED

GAZI UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

August 2020

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a syndrome characterized by impaired insulin production, release or response to insulin in tissues. Many acute and chronic complications occur in uncontrolled diabetes. Based on the key role of hyperglycemia mediated oxidative stress in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy, increased antioxidant defense will present a new therapeutic approach for the management of diabetic cardiomyopathy. Adropin is a protein identified as a regulator of endothelial cells, which is involved in maintaining energy homeostasis and insulin sensitivity. It is associated with various cardiovascular diseases. In our study we aimed to investigate the biochemical and morphological effects of adropin on the heart and aortic tissues in diabetic rat. In our study, 50 male Wistar-Albino rats weighing between 180-250 grams were used. Groups; Control (C:n=2), Control+Adropin (CA:n=12), Diabet (D:n=13), Diabet+Adropin (DA:n=13). Diabetes was formed by single dose 65mg/kg Streptozotocin (STZ) i.p. injection, 10 weeks after STZ administration, twice a day for 10 days, i.p. 450 nmol/kg/day adropin was applied. The day after the last adropin dose, animals were sacrificed by intracardiac blood collection under Ketamine-Xylazine anesthesia. At the end of the study, total oxidant (TOS), total antioxidant (TAS), paraoxonase (PON), arylesterase (ARE), vascular endothelial growth factor (VEGF) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) and collagen fiber density in the heart and the aortic tissues and aortic tunica media thickness (TM) were measured. SPSS 21 was used for statistical analysis. Results were evaluated by two-way ANOVA and posthoc TUKEY tests, $p < 0.05$ values were considered significant. In group D compared with group C, there is a significant increase in heart and aortic TOS, TNF- α , collagen density and aortic (TM), however heart and aortic TAS, PON, ARE, VEGF decreased significantly. Adropin caused a significant decrease in TNF- α and cardiac TOS. Cardiac and aortic TAS, PON, ARE and VEGF were found to be significantly increased with adropin. Compared with the group C there is a significant increase in levels of TOS and decrease in PON, ARE in group CA.

Science : 1023
Code

Key Words : Diabetes Mellitus, Oxidative Stress, Adropin, Cardiovascular System, Paraoxonase, Arylesterase

Page : 123
Number

Supervisor : Prof. Dr. Çiğdem Özer

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam süresince bilgi, birikim ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Çiğdem Özer'e, Her zaman desteklerini gördüğüm Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri hocalarıma,

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında Arş. Gör. Dr. Ahmet Hulusi Yeşil'e Tüm tez çalışması boyunca olan yardım ve desteğinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca her zaman koşulsuz yanımda olan Kocam Ahmed REZG'e ve benim değerli aileme teşekkür etmeyi bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Diyabetes Mellitus'un Tanımı	5
2.2. Diyabetes Mellitusun Belirtileri	5
2.3. Diyabetes Mellitus'un Patofizyolojisi	5
2.4. Diyabetes Mellitus'un Sınıflandırılması	6
2.4.1. Tip 1 diyabetes mellitus (T1DM)	7
2.4.2. Tip 2 diyabetes mellitus (T2DM)	8
2.4.3. Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM)	9
2.5. Diyabetes Mellitus Risk Faktörleri	9
2.6. Diyabetes Mellitus İçin Diyagnostik Kriterler	10
2.7. Diyabetes Mellitusun Komplikasyonu	11
2.7.1. Diyabetes mellitus'ta vasküler komplikasyonlar	11
2.7.2. Diyabetik kardiyomiyopati (DCM)	18
2.8. Oksidatif Stres	26
2.8.1. Serbest radikaller	26
2.8.2. Reaktif oksijen türleri üretimi	27

	Sayfa
2.8.3. Diyabette oksidatif stresin rolü	27
2.8.4. Oksidatif stres ve diyabetik kardiyomiyopati.....	28
2.9. Antioksidanlar	29
2.9.1. Paraoksonaz-1 (PON-1)	29
2. 10. Adropin	31
2.10.1. Karaciğer enho ekspresyonunun düzenlenmesi	31
2.10.2. Adropin ve karbonhidrat-lipit metabolizması.....	31
2.10.3. Adropin ve kardiyovasküler hastalıklar	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Kullanılan Gereçler ve Maddeler.....	35
3.1.1. Deney hayvanları.....	35
3.1.2. Laboratuvar cihazları.....	35
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler	36
3.1.4. Kullanılan kitler	36
3.2. Deneysel Diyabet Oluşturma	36
3.3. Adropin Tedavisi Adropin(34-76)(Human, Rat, Mouse) 100microgram.....	37
3.4. Deney Grupları	37
3.5. Anestezi ve Feda Edilme İşlemleri.....	38
3.6. Dokuda Total Antioksidan (TAS) , Total Oksidan (TOS,) Paraoksonaz (PON), Arilesteraz (ARE) tayini	39
3.6.1. TAS çalışma yöntemi:	40
3.6.2. TOS çalışma yöntemi:.....	40
3.6.3. Paraoksonaz(PON) çalışma yöntemi:	40
3.6.4. Arilesteraz(ARE) çalışma yöntemi:	41
3.7. Histolojik Çalışma	41
3.7.1. Hematoksilen-eosin boyama yöntemi	41

	Sayfa
3.7.2. Masson'un trikrom boyaması	41
3.7.3. İmmünohistokimyasal yöntem	42
4.BULGULAR	45
4.1. Çalışma Süresince Ölçülen Parametreler	45
4.1.1. Beden ağırlıkları düzeyleri.....	45
4.1.2. Açlık kan şeker düzeyleri (AKŞ).	47
4.1.3. Alınan sıvı miktarları.....	49
4.1.4. Çıkarılan idrar miktarları.	51
4.2. Doku Oksidan Stres Parametre Bulguları	53
4.2.1. Kalp dokusu TOS düzeyleri	53
4.2.2. Kalp dokusu TAS düzeyleri	54
4.2.3. Kalp dokusu OSI.....	55
4.2.4. Kalp dokusunda PON düzeyleri.....	56
4.2.5. Kalp dokusu ARE düzeyleri.....	57
4.2.6. Aort dokusu TOS düzeyleri.....	58
4.2.7. Aort dokusu TAS düzeyleri	59
4.2.8. Aort dokusu OSI	60
4.2.9. Aort dokusu PON düzeyleri.....	61
4.2.10. Aort dokusunda ARE düzeyleri.....	62
4.3. Işık Mikroskopik Bulgular	63
4.3.1. Kalp dokusu hematoksilin eosin (HE).....	63
4.3.2. Aort tunika media kalınlığı	73
4.4. Masson' un Trikrom Boyası Işık Mikroskobu Bulguları	76
4.4.1. Kalp kollajen lif yoğunluğu	76
4.4.2. Aort kollajen lif yoğunluğu	85

Sayfa

4.5. Doku İmmünohistokimyasal Bulguları	87
4.5.1. Kalp dokusu TNF- α düzeyleri	87
4.5.2. Kalp dokusu VEGF düzeyleri.....	89
4.5.3. Aort dokusu TNF- α düzeyleri	91
4.5.4. Aort dokusu VEGF düzeyleri.....	93
5. TARTIŞMA	95
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	103
KAYNAKLAR	105
EKLER	119
EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay	120
ÖZGEÇMİŞ	1222

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. DM Tanı Kriterleri	11
Çizelge 3.1. Çalışmanın Deney Grupları	37



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. İnsülin reseptörü ve insülin etkisinin moleküler mekanizması.	6
Şekil 2.2. Diyabetes mellitusta vasküler komplikasyonların gelişiminde rol oynayan mekanizmalar.	13
Şekil 2. 3. Diyabetes mellitusta VEGF sinyalinde azalmanın mekanizması	18
Şekil 2.4. Diyabetik kardiyomiyopatinin potansiyel mekanizmaları	21
Şekil 2.5. Serbest radikaller	27
Şekil 4.1. Hayvanların beden ağırlıkları düzeyleri	45
Şekil 4.2. AKŞ düzeyleri	47
Şekil 4.3. Alınan sıvı miktarları	49
Şekil 4.4. Çıkarılan idrar miktarları	51
Şekil 4.5. Kalp dokusu TOS düzeyleri	53
Şekil 4.6. Kalp dokusu TAS düzeyleri.....	54
Şekil 4.7. Kalp dokusu OSI	55
Şekil 4.8. Kalp dokusunda PON düzeyleri	56
Şekil 4.9. Kalp dokusu ARE düzeyleri	57
Şekil 4.10. Aort dokusu TOS düzeyleri	58
Şekil 4.11. Aort dokusu TAS düzeyleri	59
Şekil 4.12. Aort dokusu OSI	60
Şekil 4.13. Aort dokusu PON düzeyleri.	61
Şekil 4.14. Aort dokusunda ARE düzeyleri	62
Şekil 4.15. Aort Tunika Media Kalınlığı.....	73
Şekil 4.16. Kalp kollajen lif yoğunluğu	76
Şekil 4.17. Aort kollajen lif yoğunluğu.	85
Şekil 4.18. Kalp dokusu TNF- α düzeyleri	87

	Sayfa
Şekil 4.19. Kalp dokusu VEGF düzeyleri.	89
Şekil 4.20. Aort dokusu TNF- α düzeyleri	91
Şekil 4.21. Aort dokusu VEGF düzeyleri	93



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1.A. Kontrol grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü	63
Resim 4.1.B. Kontrol grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü	64
Resim 4.2.A. Kontrol+ Adropin grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü	65
Resim 4.2.B. Kontrol+ Adropin grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü	66
Resim 4.3.A. Diyabet grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü	67
Resim 4.3.B. Diyabet grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü	68
Resim 4.3.C. Diyabet grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü	69
Resim 4.4.A. Diyabet + Adropin grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü	70
Resim 4.4.B. Diyabet + Adropin grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü	71
Resim 4.4.C. Diyabet + Adropin grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü	72
Resim 4.5. Deney gruplarına ait aort tabakalarının histolojik yapıları	74
Resim 4.6. Kontrol grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı.	77
Resim 4.7. Kontrol+ Adropin grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı	78
Resim 4.8.A. Diyabet grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı.....	79
Resim 4.8.B. Diyabet grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı	80
Resim 4.8.C. Diyabet grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı	81
Resim 4.8.D. Diyabet grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı	82
Resim 4.9.A. Diyabet+Adropin grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı.....	83
Resim 4.9.B. Diyabet+Adropin grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı.....	84
Resim 4.10. Deney gruplarına ait aort dokularında kollajen lif dağılımı.....	86
Resim 4.11. Kalp dokusunda TNF- α immünreaktivitesi görüntüleri.....	88
Resim 4.12. Kalp dokusu VEGF immünreaktivitesi görüntüleri	90
Resim 4. 13. Aort TNF- α immünreaktivitesi görüntüleri	92
Resim 4.14. Aort VEGF immünreaktivitesi görüntüleri	94

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı sigmeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrat derece
Da	Dalton
dk	Dakika
dl	Desilitre
g	Gram
Kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
mmol	Milimol
mg	Miligram
ml	Mililitre
nmol	Nanomol
Rpm	Devir/Dakika
U/L	Ünite/Litre
µl	Mikrolitre
µmol	Mikromol

Kısaltmalar	Açıklamalar
ADA	Amerikan Diyabet Derneği
AKT	Serin / treonin kinaz
AKŞ	Açlık Kan Şekeri
AGE	İleri Glikasyon Son Ürünleri
ARE	Arilesteraz
ATP	Adenozin trifosfat
CAT	Katalaz
CRP	C-reaktif protein
CVD	Kardiyovasküler hastalığa
Cu	Bakır
D	Diyabet
DA	Diyabet Adropin
DCM	Diyabetik kardiyomiyopati
DM	Diabetes mellitus
ERK1/2	Mitojenle-etkinleşen protein kinaz
EPC	Endotelyal progenitör hücreler
Fe	Demir
FFA	Serbest yağ asidi
Flk-1	Fetus karaciğer kinaz-1
GDM	Gestasyonel Diabetes Mellitus
GLUT-4	Glikoz taşıyıcı tip 4
GPX-1	Glutasyon peroksidaz-1
GSH	Glutasyon
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HIF-1	Hipoksi ile indüklenbilir faktör 1
H2O2	hidrojen peroksit
ICAM-1	Hücre içi adhezyon molekülü-1

Kısaltmalar	Açıklamalar
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
IR	İnsülin reseptörü
IRS-1	İnsülin reseptörü substratı 1
IRS-2	İnsülin reseptörü substratı 2
K	Kontrol
KA	Kontrol+ Adropin
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
PI3K	Fosfatidilinositol-3-kinaz
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinazın
MI	Miyokard enfarktüsü
MVO2	Miyokard oksijen tüketimi
α-MHC	α miyozin ağır zinciri
β-MHC	β miyozin ağır zinciri
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazlar
NFκB	Nükleer faktör kappa B
NO	Nitrik oksit
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
O2	Süperoksit
OH	Hidroksil radikal
OSI	Oksidan stres indeksi
PKB	Protein kinaz B
PKC	Protein kinaz C
PON	Paraoksonaz
RAAS	Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi
RAGE	İleri Glikasyon Son Ürünlerinin reseptörü
RNS	Reaktif azot türleri

Kısaltmalar	Açıklamalar
RO2-	Peroksil
ROS	Reaktif oksijen türleri
SDH	Sorbitol dehidrojenaz
SERCA2a	Sarkoplazmik / endoplazmik retikulum Ca^{2+} ATPase 2a
SOD	Süperoksit dismutaz
STZ	Streptozotozin
SR	Sarkoplazmik retikulum
TAS	Total antioksidan status
TOS	Total oksidan status
T1DM	Tip 1 diyabetes mellitus
T2DM	Tip 2 diyabetes mellitus
TGFβ1	Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
TF	Doku faktörü
TNF- α	Tumor nekrozis faktör- α
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü-1
VEGF	Vasküler endotel büyüme faktörü
VEGFR2	Vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü 2
VWF	Von Willebrand faktörü

1. GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM) insülin sekresyonundaki, insülin etkisindeki veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize bir metabolik hastalıktır. DM son yıllarda en yaygın sorunlardan biri haline gelmiştir ve şu anda dünyada yedinci önde gelen ölüm nedenidir. Diyabete bağlı 5,2 milyon ölümlle, 100 000'de 82,4 ölüm oranı mevcuttur [1].

Hem T1DM hem de T2DM, kardiyovasküler hastalığa, nefropatiye, retinopatiye ve nöropatiye yol açan birkaç organı etkileyen makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlara sahiptir. Bu komplikasyonlar kalp yetmezliği, felç, böbrek yetmezliği, körlük ve ayak ülserlerine yol açan ciddi hasarlara neden olabilmektedirler [2].

DM'un Vasküler komplikasyonları kronik hiperglisemik durumda ortaya çıkmaktadır. Bu vasküler anormallikler, proteinlerin enzimatik olmayan glikasyonu, hücrel redoks potansiyelindeki değişiklik, oksidatif stres ve enflamatuvar durumun artması, endotel disfonksiyonu ve hiperkoagulopatiden kaynaklanır[3]. Ayrıca nitrik oksit (NO) üretimi azalırken, vazokonstriktörlerin (Endotelin ET-1, anjiyotensin II ve prostanoitler) aktivitesi ve üretimide artmaktadır [4].

Epidemiyolojik kanıtlar DM ile kalp yetmezliği arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir. Framingham'ın çalışması, diyabetik hastalarda 2,4-5 kat artmış kalp yetmezliği insidansını belgelemiştir. Kalp yetmezliğinin 1 yıllık mortalitesi, DM'li kişilerde % 30 dur ki bu oran DM'si olmayanlardan yaklaşık 1,5 kat daha fazladır [5].

Çalışmalar, diyabet hastalarının koroner arter hastalığı, hipertansiyon veya kapak hastalığı olmaksızın da diyabetik kardiyomiyopati (DCM) geliştirebileceğini düşündürmektedir [6].

DCM'de hiperglisemi, diyabetik kalpte mevcut olan metabolik, fonksiyonel ve yapısal değişikliklerden sorumlu tutulmakta, DCM'nin gelişimi ve ilerlemesinde rol oynayan mekanizmaları tetiklemektedir. Bu mekanizmalar hiperinsülinemi ve insülin direnci, serbest yağ asidi (FFA) oksidasyonundaki değişiklikler, reaktif oksijen türlerinin artmış üretimi, ileri

glikasyon son ürünlerinin (AGE)' birikimi, Ca^{2+} tutulumundaki değişiklik ve renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivasyonunu (RAAS) içermektedir [7].

Hiperglisemi, diyabetli hastalarda yüksek seviyelerde AGE'lerin varlığından sorumludur, AGE'lerin gelişmiş glikasyon son ürünleri reseptörleri (RAGE) ile etkileşimini takiben, oksidatif stres, artmış inflamasyon, diyastolik ve sistolik disfonksiyona neden olarak gelişmiş hücre dışı matris birikimini içeren vasküler ve miyokard hasarına yol açmaktadır [8].

Hiperglisemi, endotelyal hücrelerini hasarlayan tümör nekrozis factor- α (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımı için güçlü bir uyarandır. TNF- α , çeşitli biyolojik etkileri olan pro-enflamatuvar bir sitokindir. Ayrıca NF- κ B sinyalini aktive ederek, hayatta kalma ve proliferasyon, enflamatuvar yanıt ve hücre yapışması ve apoptotik faktörlerde yer alan birçok sitokin transkripsiyonuna aracılık eder, T1DM ve T2DM, TNF- α ekspresyonu, oksidatif stres ve miyokardiyal fibroz dahil olmak üzere intramiyokardiyal inflamasyon ile deneysel olarak karakterize edilmiştir [9].

VEGF, bilinen en güçlü vasküler geçirgenliği sağlayan ajanlardan biridir ve endotel kaynaklı vazodilatasyonu başlatma yeteneğine sahiptir. Literatürde makrovasküler hastalık görülen dokularda, iskemi kaynaklı artmış büyüme faktörü salınımından kaynaklanan vasküler kollateralizasyonun, klinik semptomları ve doku hasarını azaltmada önemli olabileceği öne sürülmektedir. Ayrıca koroner arter ve periferik arter hastalığında yararlı olabilecek bu anjiogenik yanıtın, diyabetli hastalarda azaldığı görülmektedir [10]. Diyabette vasküler büyümedeki değişikliklerin altında yatan mekanizmalar; vasküler endotel büyüme faktörü-A (VEGFA) sinyalinde azalma, iltihap ile ilişkili yollarda değişiklikler, ve reaktif oksijen türlerinin, AGE'lerinin birikmesidir [11].

Oksidatif stres, diyabetik komplikasyonların gelişiminde kilit bir katılımcı olarak kabul edilir. diyabette artan ROS ile birlikte, antioksidan savunma sisteminin etkinliği de azalır. Diyabetik kalpte, artmış yağ asidi metabolizması lipidlerin birikmesi, ve hücre ölümünü hızlandıran ve miyokardiyal kontraktıl disfonksiyonu artıran serbest oksijen radikallerinin üretimine neden olur. Serbest oksijen radikalleri (SOR) enzimatik süperoksid dismutaz

(SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve enzimatik olmayan E vitamini, karoten, C vitamini gibi antioksidanların oluşturduğu çeşitli hücrel savunma mekanizmaları tarafından nötralize edilir [7]. DM'da SOR'lerinin üretimi ve antioksidan savunma sistemi arasında dengesiz bir durum meydana gelir.

Sitoplazmada artan glikoz oksidasyonu, artan mitokondriyal ROS üretimine katkıda bulunan NADH gibi indirgen eşdeğerlerin seviyelerini artırır. Diyabetin yol açtığı oksidatif stresin diğer mekanizması, glikozun, fruktoz oluşturmak üzere ayrıca oksitlenen sorbitol oluşturmak üzere aldoz redüktaz enzimi tarafından indirgendiği poliol yolu boyunca yüksek hücre içi konsantrasyonlarda glikoz metabolizmasıdır. Aldo redüktaz, NADPH'yi ortak bir faktör olarak gerektirir ve bu nedenle poliyol yolu boyunca artan glikoz metabolizması, NADPH'nin hücre içi depolarında eş zamanlı bir azalmaya yol açar [4].

Paraoksonaz-1 (PON-1), karaciğerde sentezlenen yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL) ile ilişkili antioksidan enzimdir. PON-1, hem arilesteraz (ARE) hem de Paraoksonaz (PON) aktivitelerine sahip bir ester hidrolazdır. Birçok çalışmalar artmış oksidatif stresin azalmış PON-1 aktivitesine neden olabileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca, koroner arter hastalığı, hiperkolesterolemi, T2DM gibi hastalıklarla ilişkili olarak oksidatif strese maruz kalan kişilerde de PON-1 aktivitesi azalmıştır [12, 13].

Adropin, ilk olarak 2008 yılında Kumar ve ark. tarafından keşfedilmiş olan peptid yapılı bir hormondur [14]. Yalnızca plazma ve serumda değil aynı zamanda başka vücut sıvılarında da tespit edilebilir. Adropin enerji dengesinin sürdürülmesinde, enerji dengesi ile ilişkili gen (ENHO) tarafından kodlanır ve alınan besin miktarı ile regüle edilir. Dolaşımda yüksek adropin miktarı, metabolik strese tepki olarak meydana gelen glukoz intoleransını ve insülin direncini azaltmaktadır [15].

Literatürde dolaşımdaki adropin düzeyleri ile kalp yetmezliği arasında ilişki olabileceğini [16] ve adropinin entotelyal hücredeki koruyucu potansiyelini gösteren çalışmalar mevcuttur [17].

Çalışmamızın Amacı; T1DM sıçanlarda, sistemik adropin uygulamasının; kardiyovasküler sistem üzerine etkilerini belirlemek amaçlandı. Bu amaçla; kronik diyabetik sıçanlara, sistemik adropin uygulaması sonrası kalp dokusu ve aortada dokuların mikroskopik değerlendirilmesinin yanısıra, oksidan-antioksidan, paraoksonaz, arilesteraz düzeyleri, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) değerleri tespit edildi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetes Mellitus'un Tanımı

DM, düşük seviyelerde insülin ve/veya hedef dokuların insülin direncinden kaynaklanan kronik hiperglisemi ile karakterize bir metabolik hastalıktır. İskelet kasları, yağ ve karaciğer dokusundaki insülin reseptörleri, sinyal iletim sistemi, efektör enzimler ve genler bu metabolik anormalilerden sorumludur [18]. Diyabette var olan kronik hiperglisemi özellikle gözlerde, böbreklerde, sinirler, kalp ve damarlarda olmak üzere farklı organlarda uzun dönem hasar, disfonksiyon ve yetmezliğe sebep olur [2].

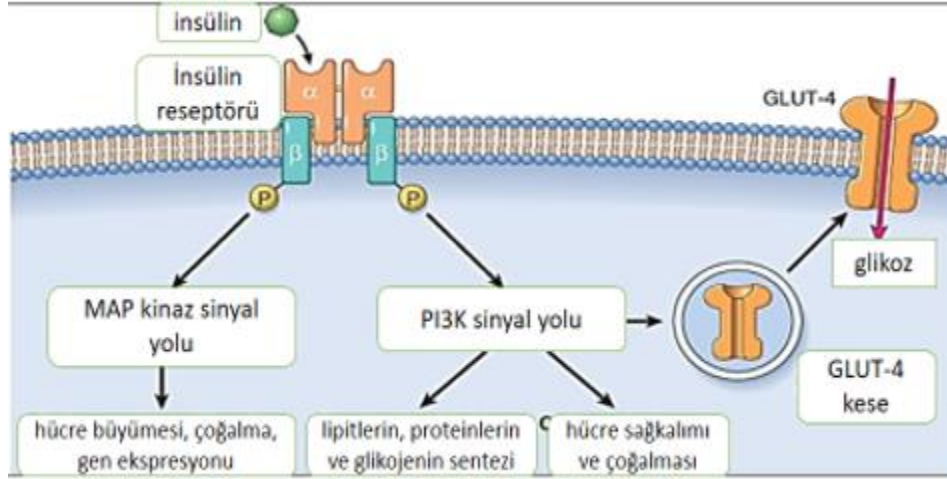
2.2. Diyabetes Mellitusun Belirtileri

DM, polidipsi, poliüri, polifaji, görme bulanıklığı ve kilo kaybı gibi karakteristik semptomlarla ortaya çıkabilir. Genellikle semptomlar şiddetli değildir ya da görülmeyebilirler. DM, kardiyovasküler hastalığa (CVD), nefropatiye, retinopatiye ve nöropatiye yol açan ve birkaç organı etkileyen hem makrovasküler hem de mikrovasküler komplikasyonları içeren bir takım komplikasyonlarla neden olabilir. Bu komplikasyonlar hayati tehlike oluşturur ve kalp yetmezliği, felç, böbrek yetmezliği, körlük ve ayak ülserlerine yol açan ciddi hasara neden olmaktadır [19].

2.3. Diyabetes Mellitus'un Patofizyolojisi

DM patofizyolojisinin anlaşılması, karbonhidrat metabolizması ve insülin etkisinin temelleri bilgisine dayanmaktadır. Yiyecek tüketimini takiben, karbonhidratlar bağırsakta glikoz moleküllerine parçalanır, glikoz kan dolaşımına geçerek, yüksek kan şekeri düzeylerine yol açmaktadır. Glisemideki bu artış, pankreasın β hücrelerinden insülin salgılanmasını uyarır. İnsülin etkisi, insülinin hücre yüzeyi reseptörü ile etkileşimi ile başlatılır, insülinin insülin reseptörüne (IR) bağlanması tirozin rezidülerinin otofosforilasyonunu başlatır, tirozin kinaz insülin reseptörü substratı (IRS) -1, IRS-2 ve kendi β alt ünitesi (otofosforilasyon) gibi çeşitli hücre içi proteinlerdeki tirozin amino asit kalıntılarını fosforile ederek [20], iki ana sinyal yolu olan fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) ve mitojenle aktive olan protein kinazın (MAPK) aktivasyonuna yol açmaktadır (Şekil 2.1) PI3K sinyal yolunun aktivasyonu, protein kinaz B'yi

(PKB) aktive ederek glikojen sentaz kinazları fosforile eder, glikozdan glikojen sentezi hızlanır. PKB ayrıca glikoz taşıyıcısı GLUT4'ü internal zar veziküllerinden plazma zarına taşıyarak glikoz alımını arttırır. MAPK kaskadı aktivasyonu, insülinin hücre proliferasyonu, farklılaşma ve hayatta kalma gibi mitojenik olayları düzenlemesinde kritik bir rol oynar [21].



Şekil 2.1. İnsülin reseptörü ve insülin etkisinin moleküler mekanizması.

Yetersiz insülin etkisi, yetersiz insülin sekresyonu ve/veya insüline verilen doku yanıtlarının karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklara yol açmasından kaynaklanmaktadır. Pankreasta insülin üretimi azalırsa ya da üretilen insülin hedef dokuda oluşan direnç nedeniyle kullanılamazsa hücrelere glikoz girişi engellenir ve hiperglisemiye, lipid katabolizmasının hızlanmasına, yağ asitlerinin ve trigliseritlerin sentezinin azalmasına neden olur, hücre içi glikoz eksikliğinden dolayı depolardaki glikozun yağ asitlerine dönüşümünde azalma başlar, protein sentezi de azalır, sonuç olarak kanda glikoz, yağ asiti ve amino asit seviyelerinin artmasına sebep olur [22].

DM gelişiminde çeşitli patojenik süreçler söz konusudur. Bunlar pankreas β hücrelerinin otoimmün yıkımında ortaya çıkan insülin yetersizliği ile insülin direnciyle sonuçlanan çeşitli anormalliklere kadar uzanır.

2.4. Diyabetes Mellitus'un Sınıflandırılması

Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından 1997 yılında tip 1, tip 2, diğer tipler ve Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) olarak önerilen diyabetin klasik sınıflandırması, halen

en çok kabul gören sınıflandırma biçimidir [23]. Pankreas β hücre hasarıyla ilişkili olarak sınıflandırmada T1DM ve T2DM terimleri kullanılmıştır.

2.4.1. Tip 1 diyabetes mellitus (T1DM)

Diyabet tanısı almış kişilerin % 5 -% 10'u tip 1 DM'tur. Pankreas β hücrelerinin yıkılmasıyla insülinin mutlak yokluğuyla sonuçlanan heterojen bir hastalıktır. Bazı hastalarda idiyopatik yıkım görülürken çoğu vakada otoimmün yıkım görülmektedir [24].

β hücrelerinin yıkılma hızları kişiler arasında değişkendir. Tip 1 diyabette β hücre tahribatının hızlı olduğu durumlarda (çocuklarda ve ergenlerde) ilk belirti ketoasidoz olabilir, diğerlerinde başlangıçta hiperglisemi gelişebilir; bu daha sonra teşhis edilmezse ve tedavi edilmezse ciddi hiperglisemi ve / veya ketoasidoza kadar ilerler. Hipergliseminin belirtileri poliüri, polidipsi, letarji ve kilo kaybı ile bazen polifaji ve bulanık görmedir [25].

Tip 1 diyabetin yönetimi multidisipliner bir sağlık ekibi tarafından yapılmalıdır ve birçok yönden sürekli olarak dikkat gerektirir. Bunlar insülin uygulaması, kan şekeri izlemi, diyet planlaması ve diyabetle ilgili komplikasyonların taranmasıdır. Bu komplikasyonlar, T1DM ile ilişkili ana morbidite ve mortaliteyi oluşturan mikrovasküler ve makrovasküler hastalıklardan oluşur [26].

İdiyopatik T1DM otoimmün tip 1 diyabete göre daha ılımlı seyreder. Bu tip hastaların çoğu değişik derecelerde insülin eksikliğinden ve epizodik ketoasidozdan şikayetçidir [27].

Fulminan T1DM: tip 1 diyabetin farklı bir türüdür. Otoimmün olmamasından dolayı idiyopatik tip 1 diyabetle bazı ortak özelliklere sahiptir. Bütün β hücrelerinin hızlı yıkılmasıyla insülin sekresyonunun durmasına sebep olur. Hiperglisemi başlangıcından hemen sonra ketoasidoz görülür [28]. Hem genetik hem de çevresel faktörler özellikle viral enfeksiyonlar hastalığın oluşmasında önemli role sahiptirler [29].

2.4.2. Tip 2 diyabetes mellitus (T2DM)

Uluslararası Diyabet Federasyonu IDF tarafından 2013 yılında yayınlanan bir rapora göre yetişkinlerde (20-79 yaş arası) diyabetin dünyadaki prevalansı % 8,3'tür (382 milyon kişi). Çoğunluğunu 40 ile 59 yaşları arasındaki hastalar oluşturmaktadır. 2035 yılına kadar dünya genelindeki diyabet prevalansının % 10,1'e (592 milyon kişi) yükselmesi beklenmektedir [18].

T2DM, periferik ve hepatik insülin direnci ile β hücresi yetmezliğinin bir arada olduğu heterojen bir hastalıktır. İnsülin direncine ek olarak, β hücre işlevindeki kusurlardan dolayı artan insülin ihtiyacı pankreas β -hücreleri tarafından karşılanamamaktadır. Hem T1DM, hem de T2DM genetik yatkınlığa sahiptir. Bununla birlikte, tip 2'deki genetik aktarım daha güçlü iken tip 1'deki genler daha iyi tanımlanmıştır [30]. T2DM diyabet tanısı genellikle geç konulur. Bu gecikme tedavi edilmeyen hiperglisemi nedeniyle kronik komplikasyonların görülme oranını artırır.

T2DM'in oluşumu hem genetik hem de çevresel bileşenlere bağlı olarak multifaktöriyeldir [31, 32]. İnsüline bağımlı substrat proteinleri olan IRS-1 ve IRS-2 aracılı sinyal yolundaki kusurlar başta diyabet olmak üzere metabolik bozuklukların gelişiminde rol oynar. İnsülin reseptör substratı (IRS) proteinlerindeki çok sayıda Ser / Thr kalıntısı, serin / treonin kinaz AKT ve protein kinaz C (PKC) gibi insülinin uyardığı protein kinazlar tarafından fosforile edilirler [33].

AKT ve PKC kinazlardaki bozulma, esas olarak diyabet gelişiminde merkezi bir öneme sahiptir [34], hiperinsülinemi, dislipidemi ve insülin direnci dahil olmak üzere hastalığın tüm bulgularıyla ilişkilidir.

Obezite, insülin direnci ve diyabete yol açan en önemli risk faktörüdür. Obezitenin indüklediği insülin direnci, hücrelerin insüline olan cevabını etkileyen besin akışının artması ve enerji birikimi ile doğrudan bağlantılıdır [35].

Diğer spesifik diyabet tipleri bütün diyabet vakalarının sadece % 1-2'sini oluşturur ve aşağıdakileri içeren geniş bir hastalık grubundan oluşur Gençlerin Olgunlukta Başlayan

Diyabeti (MODY) gibi β hücre fonksiyonundaki genetik bozukluklar, insülin yollarındaki genetik bozukluklar, ekzokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler ve enfeksiyon [36].

2.4.3. Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM)

Gestasyonel diabetes mellitus, ilk olarak gebelik sırasında tespit edilen glikoz intoleransı olarak tanımlanır. Bu dönemde maternal, fetal ve neonatal problemlerin oluşma riski artar. Doğumdan kısa bir süre sonra glikoz homoeostazı hamilelik öncesi seviyelere geri döner, fakat etkilenen kadınlarda gelecekte T2DM gelişme riski artar. Gestasyonel diyabet için risk faktörleri arasında obezite, önceki gebeliklerde geçirilmiş gestasyonel diyabet öyküsü, ailede diyabet öyküsü, anne yaşı, polikistik over sendromu, hareketsiz yaşam ve toksik faktörlere maruz kalma sayılabilir [37, 38]. Gelişmiş ülkelerdeki çoğu klinisyen, gebeliğin 24 ila 28 haftaları arasında ya da risk faktörleri varsa daha erken haftalarda oral glikoz tolerans testi (OGTT) yapılmasını önerir. Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tanı koymak için 75 g'lık glikoz ile 2 saatlik OGTT önermektedir. 2 saatlik OGTT değeri 8.5 mmol/l'den yüksekse tanı koyulur [39].

2.5. Diyabetes Mellitus Risk Faktörleri

Diyabete sebep olan obezite ve inaktif yaşam tarzı gibi kontrol edilebilir risk faktörleri olduğu gibi etnik köken ve genetik gibi kontrol edilemeyen diğer risk faktörleri de vardır [39].

T1DM için birincil risk faktörü ailede diyabet öyküsü olmasıdır. Amerikan Diyabet Derneği birinci dereceden akrabalarında tip1 diyabet öyküsü olan kişilerin diyabet taraması yaptırmasını önermektedir [40].

Pankreasın hasar görmesi, enfeksiyonu ya da başka pankreas hastalıkları insülin üretimini engelleyerek T1DM gelişmesine sebep olmaktadır [41].

T2DM ile ilişkili risk faktörleri arasında obezite, diyet ve fiziksel hareketsizlik, artan yaş, insülin direnci, ailede diyabet öyküsü, genetik faktörler ve etnik köken yer almaktadır.

Afrika kökenli Amerikalılarda T2DM gelişme riski diğer etnik gruplara göre daha yüksektir [42].

Madde kullanımı öyküsü T2DM'un erken yaşta başlaması ile ilişkili önemli bir faktör olarak bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki araştırmalara göre, yasadışı uyuşturucu kullanımı da bununla ilişkilendirilmiştir [43].

2.6. Diyabetes Mellitus İçin Diyagnostik Kriterler

DM tanısı konunun daha önce tarif edilen hastalık kavramına uygun olduğunu onaylama sürecidir. DM tanısı için kronik hipergliseminin varlığı esastır, Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından hazırlanan güncel tanı kriterleri Çizelge 2.1'de görülmektedir.

DM tanısı plazma glikozu (AKŞ veya OGTT) veya HbA1c değerleri kullanılarak konulur. Testlerin diyabeti mutlaka tespit etmediği unutulmamalıdır [44].

AKŞ ≥ 126 mg / dL (7.0 mmol / L), 2 saatlik OGTT sonrasında plazma glukozu ≥ 200 mg / dL (11.1 mmol / L), HbA1c ≥ 6.5 (48 mmol / mol) veya hiperglisemi semptomlarıyla birlikte rastgele bir zamanda ölçülen plazma glikozu ≥ 200 mg / dL (11.1 mmol / L) olması DMs tanısı koymada yeterlidir.

HbA1c hemoglobinin nonenzimatik glikozilasyonu ile oluşur, HbA1c'nin değerleri ile önceki 3 ila 4 ay boyunca ortalama plazma kan şekeri seviyeleri tahmin edilebilir . HbA1c 'nin AKŞ ve OGTT ile karşılaştırıldığında daha fazla rahatlık dahil olmak üzere birçok avantajı vardır. Bununla A1C'nin düşük hassasiyet, daha yüksek maliyet, gelişmekte olan ülkelerde testin sınırlı bulunabilirliği ile dengelenebilir [44]. HbA1c ile özellikle retinopati gibi mikrovasküler komplikasyonlar arasında güçlü bir korelasyon vardır [45]. AKŞ veya OGTT ile karşılaştırıldığında HbA1c kullanılarak daha fazla kişiye diyabet tanısı konulduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuşken [46-48], bunun tam tersini söyleyen çalışmalar da vardır [44, 49].

Çizelge 2.1. DM Tanı Kriterleri

Diyabetes Mellitus Tanı Kriterleri
AKŞ ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L)
Veya OGTT 2. Saat PG ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)
Veya A1C $\geq 6.5\%$ (48 mmol/mol)
Veya Hastada Hipergliseminin Semptomları Olması Durumunda Rastgele PG ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)
AKŞ: Açlık Kan Şekeri OGTT: Oral Glikoz Tolerans Testi

2.7. Diyabetes Mellitusun Komplikasyonu

Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları, bu hastalıkla ilişkili morbidite ve mortaliteyi oluşturur. Diyabetik ketoasidoz, hiperozmolar hiperglisemik nonketotik koma ve hipoglisemi diyabetin akut komplikasyonlarıdır. Kardiyomyopati, nefropati, retinopati ve nöropati ise kronik komplikasyonları arasındadır. Bu komplikasyonlar hayati tehlike oluştururlar ve kalp yetmezliği, felç, böbrek yetmezliği, körlük ve ayak ülserlerine yol açan ciddi hasara neden olabilmektedirler [2].

Son 20 yılda elde edilen epidemiyolojik ve klinik veriler, miyokard enfarktüsüne ve diğer ateroskleroza bağlı kardiyovasküler olaylara ek olarak, kalp yetmezliğinin, diyabetli hastalarda önemli bir kardiyovasküler morbidite ve mortalite nedeni olduğunu ortaya koymuştur [50]. Son klinik çalışmaların sonuçları, diyabetik hastalarda, sadece hipergliseminin değil aterosklerotik vasküler olayları önlemek için diğer risk faktörlerinin de kontrol edilmesi (3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A redüktaz inhibitörleri statinler ve antihipertansif tedavi gibi) gerektiğini göstermektedir [51].

2.7.1. Diyabetes mellitus'ta vasküler komplikasyonlar

Diyabette sistemik hipergliseminin varlığı ciddi komplikasyonlara yol açarak, çeşitli organlarda uzun süreli hasara neden olmaktadır. Hem T1DM, hem de T2DM da makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyon riski yüksektir. Diyabetteki inflamasyon ve metabolik anormallikler arasındaki ilişki endotel hasarına ve vasküler komplikasyonların

gelişmesine yol açmaktadır [3]. Mikrovasküler komplikasyonlar arasında retinopati, nefropati ve nöropati yer alır. Başlıca makrovasküler komplikasyonlar ise miyokard enfarktüsü ile sonuçlanan kardiyovasküler hastalıklar ve felç olarak ortaya çıkan serebrovasküler hastalıkları içerir [52] .

Diyabetes mellitusta vasküler komplikasyonların gelişiminde rol oynayan mekanizmalar

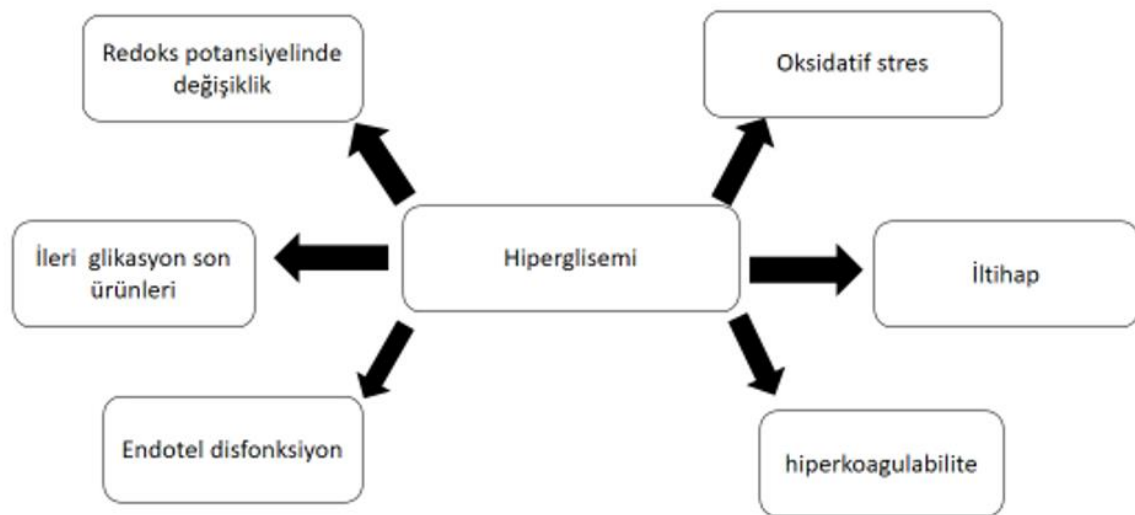
DM'un vasküler komplikasyonları kronik hiperglisemik durumda ortaya çıkarmaktadır. Bu vasküler anormallikler, proteinlerin enzimatik olmayan glikasyonu, hücresel redoks potansiyelindeki değişiklik, oksidatif stres ve enflamatuvar durumun artması, endotel disfonksiyonu ve hiperkoagulopatiden kaynaklanır (Şekil 2.2)[3]. Normal olarak insülin, PI-3K yolu ile NO sentazı aktive ederek endotel hücrelerinde NO üretimini uyarır. T2DM da görülen insülin direncinde bu yol bozulmakta ve NO üretimi azalmakta [53] , vazokonstriktörlerin aktivitesi ve üretimi artmaktadır [54].

Hücre içinde glikozun birikmesi sekonder metabolik yolun aktivasyonuna yol açmaktadır. Aldoz redüktaz glikozu sorbitol'e dönüştürür. Daha sonra sorbitol, kofaktör olarak NAD'ı kullanan sorbitol dehidrojenaz (SDH) ile fruktoza oksitlenir. Bu reaksiyonlar, NADPH'nin NADP+ 'ya oksidasyonu ve NAD+ 'nın NADH'ye indirgenmesi ile birlikte gider. NADPH redükte glutatyonun (GSH) yenilenmesi için gereken bir kofaktördür. GSH ise redoxta değişikliğe yol açan ROS'un önemli bir temizleyicisidir ve endotel disfonksiyonuna yol açan NO mevcudiyetinde azalmaya sebep olur [55]. Hasarlı endotel hücreleri, Von Willebrand faktörü (VWF) gibi pıhtılaşma moleküllerini salgılar, yüzeylerinde doku faktörü (TF) ve P-selektin gibi adhezyon moleküllerini eksprese ederler. Bu durum hem proinflamatuvar hem de prokoagülan süreçleri başlatır.

Diyabetin yol açtığı hipergliseminin en zararlı etkilerinden biri, arter duvarındaki glikoz ve proteinler arasındaki enzimatik olmayan reaksiyondur ve AGE'lerinin oluşumuna yol açar. AGE'lere bağlı moleküller oksidan olarak nükleer faktör NFκB'yi aktive ederler ve gen ekspresyonunda çoklu patolojik değişikliklere neden olurlar [56]. Bu aktivasyondan sonra NF-κB; endotelin-1, VCAM-1, ICAM-1, E-selektin, trombomodulin, TF, vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), IL-1, IL-6, TNF-a ve RAGE gibi çeşitli genlerin transkripsiyonunu

tetikler. İnflamatuar ve prokoagülan durumların tetiklenmesi endotel aktivasyonuna neden olmaktadır, makrofajlar ve köpük hücreleri tarafından salgılanan pro-enflamatuar ve büyüme faktörlerinin etkisi nedeniyle, düz kas hücreleri çoğalır ve tunika ortamından intimaya göç eder, aktive edilmiş düz kas hücreleri hücre dışı matris (kollajen, elastin, proteoglikanlar) sentezleyip salgılayarak bir fibroatheroma oluşumuna yol açmaktadır [3]. Glikasyona uğramış proteinler gibi, AGEs de serbest oksijen radikalleri oluşturabileceği gibi ROS da AGEs'nin oluşumunu hızlandırmaktadır. Bu demek oluyor ki diyabetik hastalarda vasküler komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynayan enflamasyon, endotel disfonksiyonu ve pıhtılaşmaya yatkınlık birbirleriyle ilişkilidir.

Protein kinaz C, proliferasyon, kontraktilite, hipertrofi, sinyal iletimi, büyüme faktörü transkripsiyonu ve apoptoz da dahil olmak üzere çeşitli hücresel tepkiler yelpazesinde yer alır. Diyabette PKC'nin neden olduğu aktivasyonunun, hücre dışı matris üretimini, sitokin ekspresyonunun aktivasyonunu, lökosit adezyonunu, enflamatuar yanıtı, vasküler reaktivite kaybını ve anjiyogenez kaybını uyarak kardiyovasküler disfonksiyonu indüklediği varsayılmaktadır [54].



Şekil 2.2. Diyabetes mellitusta vasküler komplikasyonların gelişiminde rol oynayan mekanizmalar.

Diyabetin mikrovasküler komplikasyonları

Nefropati

Diyabetik nefropati (DN), son dönem böbrek yetmezliğine sebep olan önemli bir komplikasyondur. Hastalarda klinik olarak, glomerüler filtrasyon hızında düşüş ve proteinüri görülmektedir. Kronik böbrek hastalığının patogeneğinde, hipergliseminin neden olduğu oksidatif strese artış ve antioksidan sistemlerin bunun karşısında yetersiz kalması rol oynamaktadır [57].

Retinopati

Diyabetik retinopati, diyabetin en sık görülen ve en spesifik mikrovasküler komplikasyonudur. Diyabetik retinopatide retinada çeşitli lezyonlar meydana gelmekte ve bu durum yetişkinlerde körlüğün önemli nedenlerinden birini oluşturmaktadır [58]. Hiperglisemi, vasküler geçirgenlik, kapiller dejenerasyon ve yeni kan damarlarının oluşumunda bir takım değişikliklere yol açabilmektedir (neovaskülarizasyon). Bu durum iskemi sırasında hipoksi nedeniyle salınan anjiyogenik faktörlerin yaptığı etkiyle benzerdir [52].

Nöropati

Nöropati, diyabetin en sık görülen uzun vadeli komplikasyonudur. Hastalarda ilerleyen evrelerde ayak ülseri ve Charcot nöroartropati görülebilir [59]. Altta yatan sebep vasküler anormalliklerin gelişimine müteakip görülen hipoksidir. Diyabetik nöropati, somatik sinir sisteminde karıncalanmaya ve duyu kaybına yol açmakta, otonom sinir sisteminde ise ortostatik hipotansiyona ve gastropareze neden olmaktadır. Aynı zamanda ilerleyici motor disfonksiyon da yaygın olarak görülmektedir [52].

Koroner mikrovasküler anormallikler

T2DM, hastalarında koroner vaskülatür seviyesindeki yapısal ve fonksiyonel değişiklikler, diyabetik kardiyomiyopatide daha da kötüleştirebilen yaygın bir ko-morbiditedir. Bu kusur, nitrik oksitin biyolojik olarak yaralanabilen seviyelerinin azalmasından kaynaklanır.

Hiperglisemi, oksidatif stresi, heksozamin ve poliol yolları , protein kinaz C ve ileri glikasyon son ürün (AGE) seviyelerinde artışa neden olur . Protein Kinaz C'yi (PKC) aktive ederek endotel disfonksiyonunu indükler, eNOs inhibisyonu ile NO seviyelerinin azalmasına neden olur, PKC aktivasyonu ICAM, VCAM ve E-selektin gibi adezyon moleküllerinin aşırı ekspresyonuna aracılık eder ve vasküler düz kas hücresi kasılmasına aracılık etmede önemli bir rol oynar [60]. Diyabetik hastalarda koroner damarlarda görülen yapısal ve fonksiyonel değişiklikler, diyabetik kardiyomiyopatiyi daha da kötüleştirebilen yaygın bir komorbiditedir. Böyle bir durumda bozulmuş mikrovasküler kan akışı ve doku iskemisi artar. Kapiller uzunluklarında azalma ve medial arteriyolar tabakalarda hiyalinle ilişkili değişiklikler gözlenmektedir. Perivasküler fibrozis, interstisyel değişiklikler, küçük damarlarda mikroanevrizmaların oluşumu ve kapiller bazal membranda kalınlaşma; DM'ta kardiyak mikrovasküler iskemiye neden olan diğer vasküler bozukluklardandır [61].

Diyabetin makrovasküler komplikasyonları

Aterosklerozis

Geleneksel kardiyovasküler risk faktörlerinin tümü (dislipidemi, arteriyel hipertansiyon, hiperglisemi ve diyabet) endotel disfonksiyonu ile ilişkilidir ve okside düşük yoğunluklu lipoproteinler, renin-anjiyotensin sistemi ve insülin direnci, bozulmuş endotel fonksiyonunun patogenezinde önemli rol oynamaktadır [62].

Aterosklerozisin, kronik inflamasyon ve periferik veya koroner arter duvarının hasar görmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu hasar sonucunda endotel duvarında okside düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) birikmektedir. Arter duvarına infiltre olan monositler makrofajlara dönüşerek oksitlenmiş lipitleri köpük hücrelerine dönüştürmektedirler [63].

Köpük hücreleri makrofaj proliferasyonunu ve T-lenfositleri tetiklemekte; bu durum damar duvarındaki düz kas proliferasyonunu ve kollajen birikmesini artırmaktadır. Bu lezyonun yırtılması da akut vasküler enfarktüse yol açmaktadır [64]. Aterom plağı oluşumuna ek olarak, artmış trombosit adhezyonu ve hiperkoagülobilite de vasküler oklüzyon ve kardiyovasküler hastalık riskini; inme ve serebrovasküler hastalık riskini artırmaktadır .

Aterosklerozis patogenezindeki bir diğer hipotez de kronik inflamasyon ve immün yetersizlik hipotezidir. Bu hipoteze göre bağışıklık sisteminin ateroskleroz oluşumunda bir rol oynarlar: T hücreleri ve makrofajlar plak oluşumuna, uzamasına ve rüptürüne katkıda bulunur, okside düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) ve diğer polipeptitler otoantijenler olarak kabul edilir. Bu nedenle bu hastalığı inflamatuvar otoimmün hastalık olarak da tanımlamak mümkündür [62].

Endotel hücreleri TNF- α ve CRP gibi pro-inflamatuvar moleküller aracılığıyla uyarılarak aterojenik fenotipe katkı sağlamaktadırlar [65] .

Diyabetik hastalarda, hastalığın sonucu ve ilerlemesi hakkında prognostik bilgi sağladığı kanıtlanmış ana inflamatuvar belirteçler CRP, TNF- α , IL-6, ICAM-1 ve VCAM-1'dir [66] . TNF- α seviyeleri akut ve kronik inflamatuvar durumlarında artarak proaterojenik lipid profiline ve bozulmuş glukoz toleransına sebep olmaktadır.

Diyabette neovaskülarizasyon ve vasküler endotel büyüme faktörü VEGF

DM zamanla birçok komplikasyona yol açmaktadır. Bu komplikasyonlar damarlarda hücresel ve hücrealtı değişikliklerle sonuçlanmaktadır. Anjiyogenez, yeni kan damarlarının oluşması ve mevcut damarların işlevlerini ve yapılarını yenilemesi olarak tanımlanmaktadır [67].

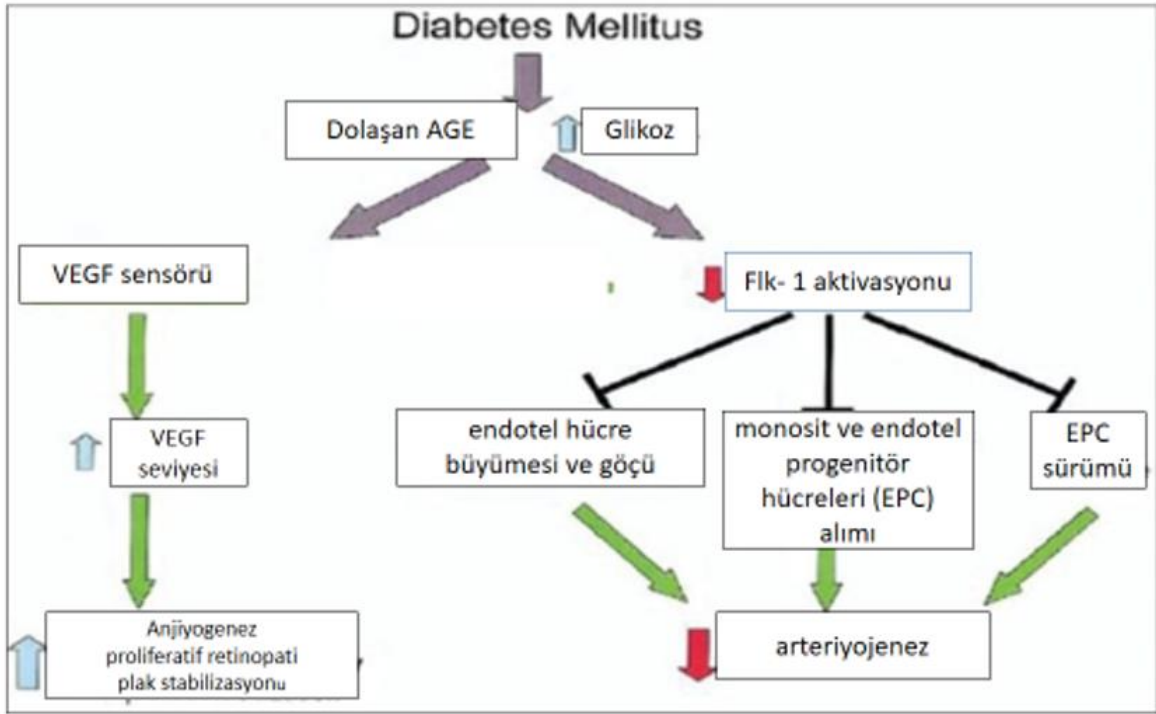
Anjiyogenez, pro ve anti-anjiyogenik mediatörler, büyüme faktörleri, sitokinler, hücreler ve ekstraselüler matriks arasındaki etkileşimi içeren karmaşık bir işlemdir, normal anjiyogenez, uyarıcı ve inhibitör faktörlerin hassas dengesine bağlıdır; bu faktörlerden herhangi birindeki kusur anormal damar oluşumuna yol açar [68]. Aşırı anjiyogenez, diyabetik retinopati ve nefropatiye yol açarken inhibe edilmiş anjiyogenez yara iyileşmesi ve koroner kollateral damar gelişiminde bozulmaya sebep olmaktadır [69].

Vasküler endotel hücre büyüme faktörü (VEGF) ailesi, VEGF (A-D) ve plasental büyüme faktörünü içerir. VEGF farklı tirozin kinaz reseptörleri (Flt-1, Flk-1, Flt-4) ile etkileşime girer. Vasküler endotel hücreleri için mitojen görevi görürler ve ayrıca kemik iliğinden endotel progenitör hücrelerinin (EPC) mobilizasyonunu uyarırlar [68].

Diyabetik hastalarda, dolaşımdaki endotel progenitör hücrelerinin endotel adezyonunu, proliferasyonunu ve tübülizasyonu azalttığı gösterilmiştir, EPC fonksiyonundaki bu tür anormallikler diyabetik hastalarda gözlenen neovaskülarizasyonu açıklayabilir [70].

Diyabette vasküler büyümedeki değişikliklerin altında yatan mekanizmalar, vasküler endotel büyüme faktörü-A (VEGFA) sinyalinde azalma, iltihap ile ilişkili yollarda değişiklikler, ve reaktif oksijen türlerinin, ileri glikasyon son ürünlerinin birikmesidir. Hipoksi, anjiyogenezin başlıca indükleyicilerinden biridir, Doku hipoksisi, hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 (HIF-1) üretimine yol açar. HIF-1, VEGF genine bağlanır ve transkripsiyon işlemini başlatır [11].

DM da VEGF sinyalinde azalmanın mekanizması: Flk-1, VEGF sinyalizasyonunda rol oynar başlıca reseptördür. Diyabette anormal olarak aktive olan Flk-1, VEGF sinyalinin eksikliğini telafi etmek için artan VEGF seviyelerinede artışa yol açar. Dolaşımdaki yüksek VEGF seviyeleri, vücuttaki vasküler yapıların geçirgenliğinin artmasına neden olur (retinopati), arteriyel duvardaki benzer bir işlem kılcal filizlenmeyi ve plak stabilitesini arttırır (aterom). Aynı zamanda, endotelial hücrelerde Flk-1 aktivasyonu eksikliği ve monositlerin anormal VEGF'ye bağlı aktivasyonu arteriyojenik yanıtta bozulmaya neden olur [68].



Şekil 2. 3. Diyabetes mellitusta VEGF sinyalinde azalmanın mekanizması

2.7.2. Diyabetik kardiyomiyopati (DCM)

Diyabetik kardiyomiyopati (DCM), koroner arter hastalığı ya da hipertansiyona bağlı olmadan, kalp yetmezliği olan dört diyabet hastasının otopsi verilerine dayanılarak tanımlanmış 40 yıldan fazla olmuştur [6]. DCM, miyokardiyumun yapısında ve fonksiyonunda diyabetle ilişkili değişiklikleri tarif etmektedir. Diyabetin hücresel düzeyde yaptığı değişiklikler nedeniyle yapısal bozukluklar oluşmaktadır.

Diyabetik kardiyomiyopatinin tanımı.

Diyabetik kardiyomiyopatinin tipik tanımı koroner arter hastalığı veya hipertansiyonu olmayan diyabetli hastalarda miyokardın yapısal ve fonksiyonel anormallikleri olarak ifade edilmektedir. Ancak bu tip kardiyomiyopati, koroner arter hastalığı ve/veya hipertansiyonu olan diyabetli hastalarda da görülebilmektedir [71].

İnsülin direnci ya da diyabet varlığında kalp, enerji metabolizmasını hızla değiştirmektedir. Yağ asidi kullanımı artırırken glikoz kullanımı azaltmaktadır. Bu durum kardiyomiyopati gelişiminde önemli rol oynamaktadır [72].

Diyabetik kardiyomiyopatide kalpte meydana gelen yapısal değişiklikler

Kalp hipertrofisi diyabetik miyokardın belirgin bir özelliğidir. Miyokardiyal fibrozis ve miyosit hipertrofisi diyabetik kardiyomiyopatideki kardiyak yapısal değişiklikleri açıklamakta sıkça kullanılan mekanizmalardır. T2DM'lu hastalarda sıklıkla gözlenen konsantrik sol ventrikül yeniden şekillenmesi, kardiyovasküler olaylarla ilişkilidir ve miyokard enfarktüsü (MI), felç ve kalp yetmezliğinden kaynaklanan ölümün güçlü bir belirleyicisi olduğu için klinik öneme sahiptir. Kalp kasında hipertrofi gelişimine sebep olan birçok yol vardır [73].

DM'ta kalp dokusunda meydana gelen bir diğer yapısal değişiklik, interstisyel ve / veya perivasküler fibrozisin gelişmesidir. Bu değişiklikler diyabetik hastalarda görülen azalmış diyastolik kompliyans ve sol ventrikül gevşemesinde bozulmaya neden olur.

Kalp dokusunda interstisyel fibrozis, diyabetik miyokardaki Transforming Growth Factor β 1 (TGF β 1) reseptör II yoğunluğunun artmasından kaynaklanmaktadır [74].

Hiperglisemi, diyabetli hastalarda yüksek seviyelerde enzimatik olmayan üretilmiş AGE'lerin varlığından sorumludur. AGE'lerin birikmesi, diyabette mikrovasküler hasar için itici bir güç oluşturmakta bu da kardiyomiyosit sertliği ve miyokardiyal kollajen birikimi ile sonuçlanmaktadır. Bu güç inflamatuvar sinyallerin ve apoptozun başlamasına, fibrotik yeniden şekillenme ve immün hücre infiltrasyonuna sebep olmaktadır [75].

İnsülin direncine bağlı hiperinsülineminin de T2DM'unda miyokard hipertrofisini doğrudan tetiklediği düşünülmektedir [76]. Kardiyomiyositler üzerinde hipertrofik etkileri olan leptin gibi sitokinler, artan bir adiposit salınımı ile ilişkili olabilir, bu durum T2DM'nin tipik bir özelliğidir [77]. Ancak miyokard fibrozunun T1DM'nin tipik bir özelliği olan erken hiperglisemi ile ilişkili olması muhtemeldir [78].

Ayrıca diyabetli hastalarda miyokardiyal doku perfüzyonu, oksijen temini, enerji substratı mevcudiyeti ve miyokard fonksiyonunun bozulması sonucunda DCM'ye götüren mikro dolaşımsal hasarlarda görülmektedir [79].

Diyabetik kardiyomiyopatide kalbin fonksiyonel değişiklikleri

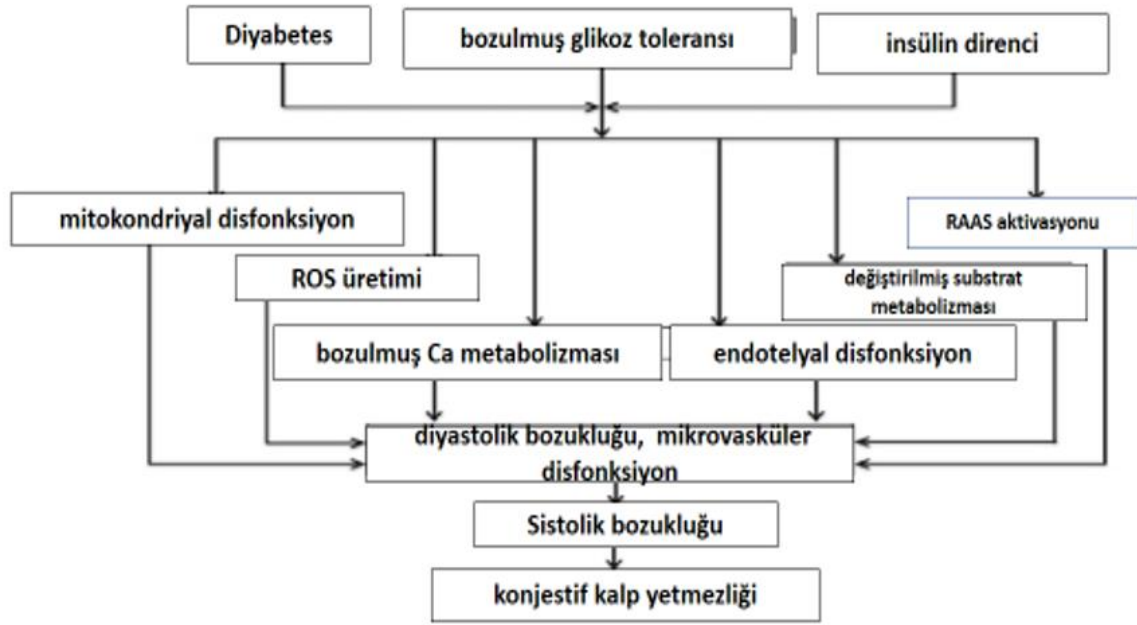
Diyabetik miyokartta, diyastolik fonksiyon bozukluğu, sistolik fonksiyon bozukluğuna göre daha erken görülebilmektedir. Akış (flow) ve doku Doppler tekniklerinin kullanılması, koroner arter hastalığı olmayan T1DM ve T2DM'lu bireylerde diyastolik disfonksiyon prevalansının % 40-75 kadar yükseldiğini göstermektedir [80, 81] . T1DM ve T2DM'lu ilişkili diyastolik disfonksiyonun kardiyak lipid birikimi ve değişmiş kalsiyum homeostazı gibi çeşitli mekanizmalardan kaynaklandığı öne sürülmektedir [82].

Sistolik disfonksiyon çoğunlukla hastalığın ileri aşamasında ortaya çıkmaktadır. Konvansiyonel ekokardiyografi bunu göstermede yetersiz kalmaktadır. Strain analizatör ve tepe sistolik hızı kullanılarak koroner arter hastalığı ve sol ventrikül hipertrofisi olmayan diyabetli hastaların % 24'ünde sistolik disfonksiyon zor da olsa ortaya konulmuştur [83].

Sistolik disfonksiyon ve miyosit hasarı miyokardın kasılabilme özelliğini etkiler. Bu durum azalmış kontraktilite, azalmış pompa fonksiyonu ve azalmış sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ile kendini göstermektedir. Sistolik disfonksiyon, diyastolik fonksiyonu normal olan diyabetli hastalarda da saptanabilir ki bu durum diyastolik disfonksiyonun, diyabetik kardiyomiyopatide ilk fonksiyonel değişiklik olması gerekmediğini düşündürmektedir [84].

Diyabetik kardiyomiyopatinin moleküler mekanizmaları

Diyabetik kardiyomiyopatinin gelişimine zemin oluşturan moleküler mekanizmalar Şekil 2.4'de özetlenmiştir.



Şekil 2.4. Diyabetik kardiyomiyopatinin potansiyel mekanizmaları.

Hiperglisemi

Glikoz ve serbest yağ asitleri, kalbin başlıca metabolik enerji kaynaklarıdır. Sağlıklı kalp gerektiğinde bu kaynaklar arasında hızla geçiş yapabilmektedir. Kalp, açlıkta serbest yağ asitlerini kullanırken, toklukta veya stres ve iskemi altında, glikozu enerji üretimi için kullanır. Diyabetik kalpte, insülin direnci ve hiperlipidemi varlığı nedeniyle metabolizma için serbest yağ asitleri daha fazla kullanılırken glikoz kullanılamamaktadır [7].

Hiperglisemi, diyabetik kalpte mevcut olan metabolik, fonksiyonel ve yapısal değişikliklerden sorumlu tutulmakta; DCM'inin gelişimi ve ilerlemesinde rol oynayan mekanizmaları tetiklemektedir. Bu mekanizmalar hiperinsülinemi ve insülin direnci , serbest yağ asidi (FFA) oksidasyonundaki değişiklikler, reaktif oksijen türlerinin artmış üretimi, ileri glikasyon son ürünlerinin birikimi, Ca^{+2} tutulumundaki değişiklik ve renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivasyonunu (RAAS) içermektedir.

İnsülin direnci

Hiperinsülinemi, koroner arter hastalığı gelişme riski ile pozitif ilişkilidir. Diyabetik kalpte GLUT-4 aktivitesinde ve glikoz kullanımında azalmaya ve insülin sinyallerinde bozulmaya

neden olur. Artmış trigliserit ve azalmış yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeyleri ile ilişkili koroner arter hastalığı insidansı, diyabet olmasa bile insülin direnci eşlik ettiği zaman anlamlı derecede artmaktadır [85].

Hiperinsülinemi, çeşitli mekanizmalarla kardiyomiyosit hipertrofisine yol açmaktadır. Hiperinsülinemi genetik ve epigenetik değişikliklerinin, diyabette fokal kardiyak fibrozisinin hücre içi ve hücre dışı protein ekspresyonunu artmasında rol oynar

Artan yağ asidi kullanımı

Diyabetik kalp, enerji üretimi için glikozu verimli olarak kullanamamaktadır. Tip 1 ve tip 2 diyabette FFA alımı ve oksidasyonu artmaktadır. Artmış serum FFA ve triağılglicerol seviyeleri, artmış miyokard oksijen tüketimi (MVo₂) ile ilişkilidir. ATP sentezi ve kardiyak verimlilik azalmaktadır (kardiyak iş / MVo₂). Bu durum reaktif oksijen radikalleri tarafından aktive edilen mitokondriyal uncoupling proteinleri aracılığıyla gerçekleşmektedir, GLUT-4 ekspresyonu ve aktivitesinin azalması neticesinde de kardiyak glikoz kullanımı azalmaktadır [87].

Lipotoksisite

Diyabette miyokardiyal lipid birikimi görülmektedir. Bu durum seramidler, diağılglicerol veya okside edilmiş fosfolipidler gibi lipid ara maddelerinin mevcudiyetinin artmasından kaynaklanmaktadır. Artmış seramid biyosentezi, ROS üretimi ve apoptotik hücre ölümü lipotoksik hasar için önemli bir mekanizmadır. Artmış seramid seviyeleri ayrıca inflamatuvar sinyal yollarını aktive etmesine ve reaktif azot türlerinin artmasına yol açmaktadır [87, 88].

Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS)

Diyabetik kardiyomiyopatinin gelişiminde RAAS'ın aktivasyonunun rolü iyi bilinmektedir. DM'ta RAAS aktivitesi, kalpte oksidatif hasarın, kardiyomiyosit ve endotel hücre apoptozu ve nekrozunun ve interstisyel fibrozisin artmasıyla ilişkilidir [89].

Miyokartta aldosteron etkisinin antagonize edilmesi kardiyomiyosit hipertrofisi ve miyokardiyal fibrozis açısından yararlı etkiler sağlamaktadır [90]. STZ ile diyabet yapılmış hayvanların kalplerinde kardiyak anjiyotensin II reseptör yoğunluğu ve sentezi artmaktadır [91].

Bozulmuş Ca^{+2} taşınması

Uyarılma-kasılma eşleşmesi, kalp kasılması için çok önemlidir. Kardiyomiyositin uyarılması, L tipi Ca^{+2} kanalları aracılığıyla Ca^{+2} 'un hücre içine girmesine neden olur. Sarkoplazmik retikulumdan (SR) Ca^{+2} salınması tetiklenir ve aktin-miyozin köprücükleri kurularak kasılma gerçekleşir. Gevşeme için ise Ca^{+2} 'un SERCA-2a ile SR'a aktif olarak geri alınması gerekmektedir.

Hem tip1 hem de tip2 diyabetik sıçanlarda, ryanodin reseptörlerinin aktivitesinde azalma ve sitozolde Ca^{+2} birikimi görülmektedir, SERCA-2a aktivitesi azalmakta ve SR'a Ca^{+2} geri alımı bozulmaktadır. Gevşeme sürecindeki bozukluk ve artmış aksiyon potansiyeli süresi, diyastolik fonksiyon bozukluğunun klinik bulgularıyla ilişkili görünmektedir [7].

İnsülin tedavisi alanlarda SERCA-2a aktivitesi normalleşmektedir [92]. Bu yüzden, bu bozuklukların hiperglisemi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir.

Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu

Mitokondri, yağ asidi ve glikozun enerji üretmek için kullanıldığı merkezdir ve bu nedenle diyabetle bozulan yağ asidi-glikoz dengesinden etkilenme olasılığı yüksektir. Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu kardiyomiyopati gelişimine katkıda bulunmaktadır. Yüksek FA oksidasyonunu takiben arttırılmış ROS üretimi, oksidatif stres ve hücre hasarının tetiklenmesi buna sebep olan durumlardan birisidir [72]. Yağ asidi kaynaklı mitokondriyal ATP sentezinin oksijensiz solunum ile olması, enerji üretiminde azalmaya yol açmaktadır [93].

Bir sfingolipid olan seramid yağ asitlerinin aşırı artması sonucu ortamda birikmektedir ve mitokondriyal solunum zincirini inhibe eder, mitokondriden sitokrom-C salınımını arttırır ve apoptoza neden olur [94].

İleri glikasyon son ürünleri (AGE)

Hiperglisemi kardiyomiyositlerde ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) oluşumuna neden olmaktadır. AGE'ler kronik hipergliseminin bir sonucu olarak hücre içinde ve hücre dışında üretilir. AGE'ler AGE reseptörleri (RAGE) ile etkileşimi takiben, vasküler ve miyokard hasarına yol açan bir dizi olay ortaya çıkar artmış oksidatif stres, inflamasyon , diyastolik ve sistolik disfonksiyon ile sonuçlanan gelişmiş hücre dışı matris birikimini içerir [8].

Fibrozis

İnterstisyel ve / veya perivasküler fibroz gelişimi, diyabetik miyokardın diğer bir yapısal özelliğidir. Miyokard sertliğini artıran miyokard fibrozisi, artmış hücre dışı matriksin özellikle de kollajen birikiminin bir sonucudur. Bu durum öncelikle sol ventrikül gevşemesinde bozulmaya ve ardından sol ventrikül kasılmasının azalmasına yol açar [4]. Bu da sol ventrikül diyastolik dolumundaki bozukluklarla yakından ilişkilidir. Diyabetin neden olduğu kardiyak fibroze, AGE'ler, TGF- β 1 upregülasyonu da eşlik etmektedir [95]. Hiperglisemi kardiyak fibroblast ve vasküler düz kasda hücre proliferasyonunun artmasına neden olur [96].

İnflamasyon

Diyabet proinflamatuvar bir durumdur. inflamasyonun kardiyovasküler bozukluğun gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. DCM ile ilgili yapılan çalışmalar intramyokardiyal inflamasyonun varlığını ispatlamaktadır. Makrofaj ve lökosit infiltrasyonda , inflamatuvar sitokinler (IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α ve TGF- β 1) ve hücre adhezyon molekülleri (ICAM-1, VCAM-1) üretilmesinde artmış gözlenmiştir [3]. ROS upregülasyonunun ardından, hipertansiyon, ateroskleroz, miyokardiyal iskemi ve kronik kalp yetmezliği'ye önemli bir katkıda bulunmuştur [4].

Diyabetes mellitusta kardiyovasküler hastalık ve TNF- α

T1DM ve T2DM, TNF- α ekspresyonu, oksidatif stres ve miyokardiyal fibroz dahil olmak üzere intramiyokardiyal inflamasyon ile deneysel olarak karakterize edilmiştir. TNF- α , çeşitli biyolojik etkileri olan pro-enflamatuar bir sitokindir. Ayrıca NF- κ B sinyalini aktive ederek, hayatta kalma ve proliferasyon, enflamatuar yanıt ve hücre yapışması ve apoptotik süreçlerde yer alan birçok sitokin transkripsiyonuna aracılık eder. T1DM hastalarında inflammatuar biyobelirteçle olan IL-6 ve TNF- α 'nın vasküler komplikasyonlarla ilişkisi incelemiş ve bu biyobelirteçlerin plazma seviyelerinin albüminüri, retinopati ve kardiyovasküler hastalık ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca TNF- α seviyeleri sol ventrikül disfonksiyonu ve kardiyomiyopatiyi indükleyebilir ve kalp kasılmasını olumsuz yönde etkiler [97, 98]. Klinik ve deneysel çalışmalar ateroskleroz patogeneğinde TNF- α 'nın önemini göstermektedir. Anti-TNF- α antikor tedavisinin diyabetik kardiyomiyopatiyle ilişkili intramiyokardiyal inflamasyonu ve miyokardiyal fibrozu önemli ölçüde iyileştirdiğini gösteren veriler vardır [9].

Apoptotik ve nekrotik hücre ölümü

Diyabetik miyokartta apoptozla ya da nekrozla ölüm normal myosite göre daha fazla görülmektedir. Artmış hücre ölümü, tip 1 ve tip 2 diyabetli insanların kalplerinde sıklıkla gözlenir ve hem apoptotik hem de nekrotik hücre ölümünü içerir. Artmış miyosit apoptozisi kan şekeri düzeyleri ile ilişkilidir ve diyabetik kalpte kompanse edilmiş dekompanse hipertrofik duruma geçiş sürecinde yer alır [4]. Apoptozisin moleküler mekanizması; ROS üretimi, dolaşımdaki enflamatuar sitokinler, TGF- β sinyal yolunun aktivasyonunu ve renin-angiotensin-aldosteron sisteminin lokal aktivasyonunun artmasına bağlıdır [87]. Hipergliseminin bazı proapoptotik etkileri, p53'ün glikosilasyonu ve fosforilasyonu ile tetiklenir [99].

Diyabetin neden olduğu kardiyomiyosit apoptozu sıklıkla artmış interstisyel fibrozis gibi diğer yapısal bozukluklarla birlikte ortaya çıkmaktadır.

Otofaji, normal fizyolojik şartlarda istenmeyen hücreleri, hasar görmüş proteinleri veya kusurlu organelleri ortadan kaldırmak için devreye giren alternatif bir programlanmış hücre

ölüm formudur [100]. Diyabet, ROS'un çeşitli doku tiplerinde otofajiyi indüklediği gösterilmiştir. Bununla birlikte kontrolsüz otofaji; kanser, nörodejeneratif bozukluklar ve diyabet gibi çeşitli hastalıklarda aşırı hücre ölümüne neden olabilmektedir [101].

2.8. Oksidatif Stres

Hücrede normal metabolizma sırasında enzimatik reaksiyonların ara ürünler devamlı olarak serbest radikalleri oluştururlar. Hücrede oluşan ROS, "antioksidan savunma sistemleri" mekanizmasıyla ortadan kaldırılır. Ancak ROS üretimi hücresel savunma mekanizması aracılığıyla ortadan kaldırılardan daha fazla ise vücutta oksidatif stres olarak tanımlanan durum meydana gelir.

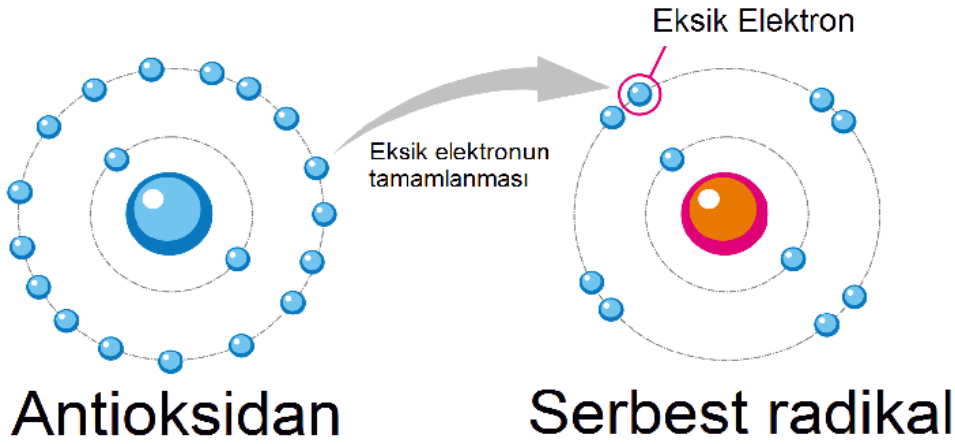
2.8.1. Serbest radikaller

Dış yörüngesinde bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektrona sahip bileşik veya elementlere 'serbest radikaller' adı verilir. Serbest radikaller, çiftleşmemiş elektrondan geçerek hücrelere zarar verirler ve hücre bileşenlerinin ve moleküllerinin oksidasyonuna neden olurlar (Şekil 2.5). ROS olan süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest radikal ve serbest radikal olmayan oksijen içeren molekülleri ile reaktif azot (RNS), demir, bakır ve kükürt türleri serbest radikaller arasında sayılabilir [102].

Üretilen bu radikallerin membran lipitlerine, hücre içi proteinlere ve nükleik asitlere etki ederek bu makromoleküllerin yapı ve fonksiyonları üzerinde değişikliklere yol açtığı ve hücresel hasar meydana getirdiği iyi bilinmektedir.

İşlenmiş besinler, radyasyon, elektronik cihazlar, ilaçlar, sigara, alkol, güneş ve stres serbest radikallerin oluşmasında rol oynar [103].

ROS normal metabolik süreçler için gereklidir, özellikle sinyal yollarında düşük seviyelerde fizyolojik öneme sahiptir, nöronlar ve makrofajlar tarafından üretilen RNS, nörotransmitterler olarak ve immünite araçları olarak görev yapar [104].



Şekil 2.5. Serbest radikaller

2.8.2. Reaktif oksijen türleri üretimi

Mitokondriyal solunum sürecinde, ATP üretimi sırasında glikoz ve diğer substratların tam metabolizması için moleküler oksijen esastır. Bununla birlikte, normal oksidatif fosforilasyon sırasında, tüketilen tüm oksijenin %0,4 ila 4'ü serbest oksijen radikali (O^{2-}) dönüştürülür. O^{2-} daha sonra diğer ROS ve RNS dönüştürülebilir, Bu O^{2-} normalde antioksidan savunma tarafından elimine edilir. Mitokondri içindeki O^{2-} mitokondriyal enzim süperoksit dismutaz SOD ile hızlı bir şekilde H_2O_2 'ye dönüştürülür, H_2O_2 daha sonra glutatyon peroksidaz (mitokondri içinde) ile H_2O ve O_2 'ye detoksifiye edilir veya sitozole dağılır ve peroksisomlarda katalaz ile detoksifiye edilir. Cu veya Fe gibi indirgenmiş geçiş metallerinin varlığında, H_2O yüksek oranda reaktif OH radikali dönüştürülebilir [105].

2.8.3. Diyabette oksidatif stresin rolü

Oksidatif stres, yaşam tarzıyla ilişkili hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynar. Obezite, metabolik sendrom, diyabet ve kardiyovasküler hastalık dahil olmak üzere çok çeşitli enflamatuvar ve metabolik hastalık durumları ile koreledir. Oksidatif stres, diyabetik komplikasyonların gelişiminde kilit bir katılımcı olarak kabul edilir. Diyabette sadece yükselen ROS oluşumunda artış değil, antioksidan savunma sisteminde etkinliği azalır.

Diyabette ROS seviyesinin yükselmesi, O^{2-} etkisizleştirilmesinden sorumlu olan enzimin azalması, E vitamini, α -lipoik asit ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) seviyelerinin azalması ve H_2O_2 'nin uzaklaştırılmasından sorumlu bir enzim olan eritrosit katalazındaki eksiklik,

dokuları diyabetik komplikasyonların gelişmesine yol açan oksidatif strese duyarlı hale getirir [106].

Hiperglisemi durumunda dört farklı yoldan serbest radikal üretimi görülür: 1) Artan glikoliz, artan NADH / NAD⁺ oranını (redoks dengesizliği) takiben, gliserol-3-fosfat G3P'nin 3-DPG'ye oksidasyon oranının artmasıyla sonuçlanır. 2) Aktive sorbitol (veya polyol) yolu, hiperglisemiyle hem sorbitol hem de fruktoz birikimine neden olur, glutatyon redüktaz aktivitesinin azalması, ve NADH / NAD⁺ oranının arttırılmasına neden olur. 3) Glikozun otooksidasyonu, H₂O₂, OH ve ketoaldehit gibi farklı serbest radikallerin oluşmasına sebep olur, bu moleküller DNA, protein ve lipid moleküllerin yapısında hasar oluşturur ve ayrıca glikozun otooksidasyonu AGE'nin oluşumu ile de yakından ilişkilidir. 4) Enzimatik olmayan protein glikasyonları, AGE'lerin oluşumuyla sonuçlanır, AGE, RAGE'lerle etkileşime girdikten sonra oksidatif stres'nin oluşumunu hızlandırmaktadır [107].

2.8.4. Oksidatif stres ve diyabetik kardiyomiyopati

Diyabetik kalp kası mitokondrilerinde var olan hiperglisemi ve aşırı yağ asidi oksidasyonu, kardiyomiyositlerde ROS birikmesine neden olmaktadır. ROS, proteinler, nükleik asitler ve lipitleri okside ederek hücrede yapısal bozukluklara ve hasara neden olmaktadır. Aşırı ROS üretimi kalp yetmezliği gelişimi sırasında kardiyak hipertrofi den fibrozise, kontraktıl işlev bozukluğundan yetmezliğe kadar tüm aşamalarda yer almaktadır [7].

Mitokondriyal ROS üretimi NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, eşleşmemiş NO sentaz, mikrozomal P-450 enzimleri ve araşidonik asit metabolizma yolları ile etkileşmektedir [108].

Sitoplazmada artan glikoz oksidasyonu, artan mitokondriyal ROS üretimine katkıda bulunan NADH gibi indirgen eşdeğerlerin seviyelerini arttırır. Diyabetin yol açtığı oksidatif stresin diğer mekanizması, glikozun, fruktoz oluşturmak üzere ayrıca oksitlenen sorbitol oluşturmak üzere aldoz redüktaz enzimi tarafından indirgendiği polioli yolu boyunca yüksek hücre içi konsantrasyonlarda glikozun metabolizmasıdır. Aldo redüktaz, NADPH'yi ortak bir faktör olarak gerektirir ve bu nedenle polioli yolu boyunca artan glikoz metabolizması, NADPH'nin hücre içi depolarında eş zamanlı bir azalmaya yol açar [4].

2.9. Antioksidanlar

Antioksidanlar, oksijen, peroksitlerin teşvik ettiği oksidasyonu veya reaksiyonları inhibe ederek nükleik asitlerin, proteinlerin ve lipitlerin oksidasyonunu önleyebilir ve ROS'u etkisiz hale getirebilir.

Antioksidan savunma, endojen veya eksojen olarak meydana gelebilir. Üç genel endojen antioksidan savunma tipi görülür; İlk tip, tümü çoğunlukla plazmada bulunan albümin, haptoglobin, ferritin ve seruloplazmin dahil antioksidan proteinlerdir [109].

İkinci tip, endojen antioksidanlar β -karoten E ve C vitaminide ve de dahil olmak üzere küçük molekülü antioksidanlardır. Flavonoidler dahil diğer antioksidan bitki fenolleri, ve önemli antioksidan enzimleri oluşturan temel mineraller.

Üçüncü tip, SOD, GPX-1 ve katalaz (CAT) dahil olmak üzere enzimatik antioksidanlardır. Bu enzimler çoğu memeli hücrelerinde üretilir ve hücrel oksidatif stres seviyelerinin iyi göstergeleridir. Aşırı miktarda üretilen ROS, özellikle süperoksit, birçok kardiyovasküler hastalığın patogeneğinde rol oynar. Süperoksitin vasküler seviyeleri SOD tarafından düzenlendiğinden, SOD'un Kardiyovasküler hastalıklarda rolü son derece önemlidir [110].

2.9.1. Paraoksonaz-1 (PON-1)

Paraoksonaz-1(PON-1), kalsiyum bağımlı glikoprotein yapıda olan bir ester hidrolazdır. PON-1, hem arilesteraz (ARE) hem de paroksonaz (PON) aktivitelerine sahiptir. Serumdaki PON-1 aktivitesi, klasik olarak enzimatik fonksiyonu izlemek için kullanılan substrattan, yani paraoksonaz aktivitesinden (substrat olarak paraokson kullanılarak) ve arilesteraz aktivitesinden (substrat olarak fenil asetat kullanılarak) adlandırılır [111].

Paraoksonaz-1 (PON-1) çeşitli dokularda eksprese edilir, ancak esas olarak yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkili olarak karaciğerde sentezlenir ve kana buradan salgılanır. Paraoksonaz-2 (PON-2) tüm insan dokularında eksprese edilir, ancak dolaşımda bulunmaz. Paraoksonaz- 3 (PON-3) PON1 gibi, karaciğerde sentezlenir ve HDL ile ilişkili olduğu serumda, ancak PON-1 ile karşılaştırıldığında daha düşük konsantrasyonlarda

bulunur. PON-2 ve PON-3'ün her ikisi de antioksidan özelliklere sahiptir ancak paraoksonaz veya arilesteraz aktivitelerinden yoksundur [112].

Esterazlar vücutta ilaçların temizlenmesinde önemli bir rol oynayabilir, diğer tüm serin hidrolazlar gibi, organofosfatları, kolinesterazı inhibe eden bileşikler ve karboksilesterazları parçalama yeteneğine sahiptir [113].

PON-1 aktivitesi hem genetik polimorfizmlerden hem de yaş, cinsiyet, yaşam tarzı ve farmasötik müdahaleler dahil çevresel faktörlerden etkilenir [114].

Plazmada yüksek yoğunluklu lipoproteine bağlı, antioksidan bir enzim olan paraoksonazın, düşük yoğunluklu lipoprotein ve HDL'yi serbest radikallerle oluşan oksidasyona karşı koruduğu ve oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir [115].

PON1'in LDL oksidasyonunun, kolesterol akışının, monosit bağlanma ve göçünün, plak inflamasyonunun ve ayrıca okside fosfolipitlerin yıkılmasının yanı sıra ateroskleroz ve plak oluşumunun azaltılmasında rol oynadığı gösterilmiştir [116, 117].

İlgili literatür koroner kalp hastalığı olaylarının bağımsız bir belirleyicisi olarak düşük serum PON1 aktivitesini desteklemektedir [118].

kardiyovasküler hastalık, miyokard enfarktüsü , hiperkolesterolemi, metabolik sendrom ve tip 2 diyabet hastaları gibi riski yüksek olan hastalarda serum PON-1 aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir [119, 120].

Tip 1 ve Tip 2 diyabette PON1 aktivitesinin azaldığı pek çok çalışmada gösterilmiştir. Bu azalmanın diyabetik hastalarda oksidatif stresin artması sonucu antioksidan kapasitenin azalmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir [121]. Diyabetiklerde PON1'in azalma mekanizması tam bilinmemektedir. Fakat aşırı artmışAGE ile ilişkili olabileceği düşünülebilir. Glikasyon hem PON'ı inaktive eder hem de HDL üzerindeki lipid peroksidasyonun arttırır [122]

2. 10. Adropin

Adropin etimolojik kökeni Latince “aduro” [ateş etmek] ve “pinquis” [yağlar] kelimelerinden gelen ve 76 aminoasit içeren bir proteindir. Merkezi sinir sisteminde adropini kodlayan Enerji Homeostazı ilişkili (Enho) geninin yüksek düzeyde ekspresyonu gözlenmiştir. Ayrıca bu genin ekspresyonu karaciğer böbrekler, kalp ve pankreas gibi çeşitli dokularda ve vücut sıvılarında da gösterilmiştir [14].

Adropinin metabolik regülasyon, insülin duyarlılığı ve endotel fonksiyonlarında önemli bir endokrin faktör olduğu ileri sürülmektedir [14, 123, 124]. Yine bir çok laboratuvar tarafından adropin immünoreaktivitesinin fare, insan olmayan primat ve insanın plazma ve serumlarında da bulunduğu rapor edilmiştir [125].

Adropin, ticari ELISA kitleri kullanılarak plazma, serum ve diğer vücut sıvılarında; immünohistokimyasal olarak da dokularda tespit edilebilmektedir [126]. Ayrıca peynir ve sütte de varlığı gösterilmiştir. Adropin kandan süte ya difüzyon yada aktif taşıma ile geçmekte veya meme bezi tarafından sentezlenmektedir [127].

2.10.1. Karaciğer enho ekspresyonunun düzenlenmesi

Karaciğer Enho ekspresyonu açlıktan ve diyetin makro besin içeriğinden etkilenmektedir. Yağ içeriği yüksek diyetin kısa süreli alımında ekspresyon artarken, kronik alımda azalmaktadır. Bu sonuçlar, adropinin beslenme ve açlık sırasında metabolik homeostazın düzenlenmesinde rol aldığını göstermektedir [14].

Orphan G proteine bağlı reseptör (GPR19), potansiyel bir adropin reseptörüdür. GPR19 daha çok serebellum , kaudat nükleus, putamen, talamus, hipotalamus, hipokampus, frontal korteks ve olfaktory ampulünde ekspre edilir. GPR19 üzerinden sinyal iletimi serebral nöronlarda ERK ve Akt fosforilasyonunu artırır [128].

2.10.2. Adropin ve karbonhidrat-lipit metabolizması

Enho geninin karaciğerde ekspresyonu diyetle ilgili olarak değişmektedir. Adropinin aşırı ekspresyonuna bağlı azalmış adipozite, vücut ağırlığından, gıda alımından ve enerji

harcamasından bağımsız olarak glikoz homeostazındaki iyileşme ile ilişkili bulunmuştur [14].

Adropin özellikle glikoz ve yağ asitleri başta olmak üzere metabolik homeostazın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Plazma adropin düzeyleri beslenme ile artarken, açlıkta azalmaktadır.

Peptit hormonu olan adropinin beslenme ve açlık döngüsü sırasında kasta substratı oksidasyonunun düzenlenmesinde yeni bir rolünü belirlenmiştir. Adropin ile farmakolojik tedavi, glikoz kullanımını artırma potansiyeline sahiptir. Bu nedenle adropin, insülin direnci ve tip 2 diyabetle mücadele için tedaviler geliştirmek için umut verici bir aday olabilir [129].

Adropinin sistemik uygulamasının obez ve prediyabet farelerde piruvat dehidrojenaz aktivitesini geliştirerek kardiyak yağ asidi oksidasyonunu azaltıp glikoz oksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle adropin diyabetik kardiyomiyopatinin tedavisi için gelecekteki potansiyel bir terapötik yolu temsil eder [130].

Adropinin iskelet kaslarında insülinin hücre iç sinyal yolak aktivasyonunu, insülin reseptör eksepresyonunu , glikoz toleransı artırdığı ve insülin direncini azalttığı gösterilmiştir [125].

Obeziteyle ya da basit karbonhidrat tüketimi ile ilişkili adropin eksikliği, insülin direnci ve metabolik sendrom gelişme riskini artırabilmektedir [123].

ELISA kullanılarak yapılan ölçümlerde, STZ ile diyabet yapılan sıçanlarda beyin, serebellum, böbrekler, kalp, karaciğer ve pankreasta adropin seviyelerinin kontrol farelerine kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir [131].

Çelik ve ark. GDM'deki maternal ve fetal adropin düzeylerinin kontrol grubundaki normal bireylere göre daha düşük olduğunu bulmuşlardır [132]. GDM'li kadınlarda anne sütünde bulunan adropin miktarları, normal gruplara kıyasla önemli ölçüde azalmıştır [127].

Tip 2 diyabet modeli oluşturulmuş sıçanlarda adropinin glikoz ve lipid metabolizması üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada serum glikoz ve HbA1c değerlerini düşürdüğünü,

insülin seviyeleri arttığını gösterilmiştir. Yine adropinin, artan TNF- α ve indüklenabilir iNOS mRNA ekspresyonu azalttığı belirlenmiştir [133].

2.10.3. Adropin ve kardiyovasküler hastalıklar

Kalp hastalıkları dünyada bulunan en yaygın kronik hastalıklardan biri olup morbidite ve mortalitenin önde gelen nedeni olmaya devam etmektedir. Adropinin kardiyovasküler sistem ile olan ilişkisini ortaya koyan kanıtlar oldukça fazladır. Daha önce belirtildiği gibi adropin immünoreaktivitesi, kalp dahil birçok dokuda tespit edilmiştir [131].

Kalp hastalığı olanlar ile sağlıklı katılımcılar arasında plazma adropin düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı derecede fark ortaya çıkmaktadır. Kalp yetmezliği şiddeti arttıkça plazma adropin seviyeleri de artmaktadır [134].

Adropinin miyokard infarktüsü (MI) ile ilişkili süreçlere katılımını inceleyen çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya konulmuştur. Adropin, MI'nin neden olduğu miyokardiyal kas yaralanması sırasında kan dolaşımına salınmakta, enfarktüstan 1 saat'e sonrasına kadar yüksek düzeyde kalmaktadır [135]. Akut MI geçirmiş hastalarda ise serum adropin düzeylerinde azalma görülmektedir. Koroner arter hastalığı olanlarda adropin düzeyi ile akut MI varlığı arasında negatif bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, adropinin hastalarında Koroner arter hastalığı AMI'yi öngörmeye yeni bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır [136].

Kardiyak Sendrom X hastalığı; koroner arter tıkanıklığındakine benzer göğüs ağrısı tarifleyen hastalarda, elektrokardiyografik egzersiz testi pozitif olmasına rağmen anjiyografide koroner arterlerde herhangi bir problem tespit edilemeyen durumlarda kullanılan bir tanımlamadır[137]. Kardiyak Sendrom X'li hastalarda serum adropin düzeyleri düşük bulunduğu için adropinin Kardiyak Sendrom X patofizyolojisinde rol alabileceği düşünülmektedir [138].

Endotelium vasküler homeostazın korunmasında önemli bir rol oynamakta, endotel disfonksiyonu ise kardiyovasküler hastalıkların gelişimine ve ilerlemesine sebep olmaktadır [138].

Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi aracılığıyla L-Arjinin amino asidinden sentezlenen NO, vasküler tonüsün düzenlenmesinde anahtar rol oynar. Düşük seviyelerde NO endotel disfonksiyonu ile ilişkilidir, adropin, endotel fonksiyonun korunmasında ve düzenlenmesinde rol almakta [135] ve endotelde eNOS ekspresyonunu artırmaktadır. Bu yüzden adropin eksikliği, endoteldeki düşük NO biyoyararlanımıyla ilişkilidir [136].

Adropin eNOS ekspresyonunu, VEGFR2-fosfatidilinositol 3-kinaz-Akt ve VEGFR2-hücre dışı sinyali düzenlenmiş kinaz 1/2 yollarını kullanarak artırmaktadır. Femoral ligasyondan 28 gün sonra adropin ile tedavi edilen farelerden izole edilen gastrocnemius kaslarında, önemli ölçüde yüksek VEGFR2 protein seviyeleri ve daha yüksek eNOS düzeyleri gösterilmiştir [17].

Hipoksi ve düşük glikoz, beyin endotel hücrelerinde, Enho ekspresyonunu ve adropin düzeylerini önemli ölçüde azaltır. Adropin ile tedavi, hipoksi / düşük glikoz'un neden olduğu beyin endotel bariyer hasarını azaltır. Rho ile ilişkili kinaz (ROCK) aktivitesinin ve miyozin hafif zincir 2 fosforilasyonunun inhibisyonu ile endotelial hücre geçirgenliğini azalttığı bulunmuştur. Bu bulgular adropinin, beyin iskemik koşullar sırasında endotelial bariyer disfonksiyonuna karşı koruduğunu düşündürmektedir [139].

Literatürdeki Bu Bilgilerin Işığında

Çalışmada; T1DM sıçanlarda, sistemik adropin uygulamasının; kardiyovasküler sistem üzerine etkilerini belirlemek amaçlandı. Bu amaçla; kronik diyabetik sıçanlara, sistemik adropin uygulaması sonrası kalp dokusu ve aortada dokuların mikroskopik değerlendirilmesinin yanısıra, oksidan-antioksidan, paraoksonaz, arilesteraz düzeyleri, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) değerleri tespit edildi.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Etik -18.064 kod numaralı etik iznine istinaden, bu çalışma Gazi Üniversitesi Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM)'da ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1. Kullanılan Gereçler ve Maddeler

3.1.1. Deney hayvanları

Çalışmamızda yetişkin, ağırlıkları 180-250 gram arasında değişen 50 adet erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlarda yapılan deneyler GÜDAM'da gerçekleştirildi. Sıçanlar beşerli gruplar olacak şekilde ayrı kafeslerde tutuldu. 12 Saat aydınlık-karanlık siklusunda, 24 ± 2 °C'lik ortamda, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile ad libitum olarak beslendi.

3.1.2. Laboratuvar cihazları

- Elektronik hassas tartı (Sartorius Basic, Almanya)
- Sonikatör (Sonics model:vibra cell)
- Soğutmalı masaüstü santrifüj (MPW-350R)
- Bioelisa Reader (Biokit model)
- pH metre (EUTECH INSTRUMENT model cyberscan)
- LifeChek compact TD-4283 Glukometre
- Keto-Diastix glukoz ölçüm stripleri
- Metabolik Kafes
- Buzdolabı +4°C (Electrolux) , -20°C (ARISTON)
- -40 °C derin dondurucu (SANYO) ULTRA LOW
- -80 °C derin dondurucu WİSECRYO , WUF-400
- Azot tankı
- Cerrahi aletler (makas,pens,bistüri sapı)
- Steril Enjektör (5ml) (Beybi)
- Steril Enjektör(10ml) P_MED
- insülin Enjektör (Beybi)

- 0,2-0,5-1,5-2 µl Lik ependorf tüpler
- Otomatik pipetler, ISOLAB (100-1000 MI), NICHIRYO(10-100), SOCOREX (2-20)
- Isıtıcıli manyetik karıştırıcı ASSISTENT
- Nokta vuruşlu yazıcı (EPSON)
- Vorteks (NÜVE)
- Mor kapaklı EDTA'lı kan tüpü 4 ml (BD VACTAINER)
- Distile su cihazı (MES)

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

- Streptozotosin (STZ) (Sigma, ABD)
- Tri-natriumcitrat-2-hydrat
- Adropin(34-76) (PHOENIX PHARMACEUTICALS)
- Fosfat tamponlu salin

3.1.4. Kullanılan kitler

TAS ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay,Turkey).

TOS ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay,Turkey).

Paraoksonaz ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay,Turkey).

Arilesteraz ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay,Turkey).

Deneye başlamadan önce bütün hayvanlar 8 saatlik açlığı takiben tartıldı ve kuyruk veninden kan alınarak açlık kan şekeri (AKŞ) ölçüldü.

3.2. Deneysel Diyabet Oluşturma

Streptozotosin STZ : T1DM modelinin oluşturulması için 0,1 Molar (pH: 4.5) soğuk sitrat tamponunun (Tri-natriumcitrat-2-hydrat 2,941g) 1 ml'sinde çözünen 65mg/kg Streptozotosin (STZ) tek doz, i.p. olarak sıçanlara uygulandı [140]. STZ uygulamasından 72 saat sonra, 8 saat önceden aç bırakılan hayvanların AKŞ'leri tespit edildi ve AKŞ'leri 250mg/dl üzeri olanlar diyabet kabul edilip diyabet grubuna alındı. T1DM oluşumundan sonra, diyabetin stabilizasyonu için uygun bir süre (yaklaşık 2 hafta) beklendi. Bu arada

haftalık olarak AKŞ bakılarak kontrol yapıldı. (Kullanılan STZ, çalışma zamanına kadar -20°C'de buzdolabında saklanmıştır.)

Sitrat tamponunun hazırlanması :

Tri-natriumcitrat-2-hydrat (294,1 gr/mol), 2,94 gr elektronik tartı (hassas terazi) ile tartıldı, distile su ile 100 ml'e tamamlandı, pH 4.5'e HCl ile ayarlandı .

3.3. Adropin Tedavisi Adropin (34-76) (Human, Rat, Mouse) 100 microgram

Adropinin moleküler formülü 76 aminoasit içermektedir, molekül ağırlığı ise 4499.9 Dalton (Da)'dur. STZ uygulamasından 8 hafta sonra [141] adropin uygulamasına başlandı. Uygulama %0.9 SF ile çözünen 450 nmol/ kg (0.5 µg/kg) adropin 10 gün süreyle, günde 2 defa (saat 09:00 ve 16:00) i.p. enjeksiyon ile yapıldı [14, 132]. (Çalışmada kullanılan adropin hormonu PHOENIX PHARMACEUTICALS, INC firmasından temin edilmiştir. Çalışma zamanına kadar -20°C de buzdolabında saklanmıştır).

3.4. Deney Grupları

Çalışmadaki sıçanlar rastgele olarak 4 gruba ayrıldı. Kontrol Grubu (n =12), Kontrol + Adropin Grubu (n=12), Diyabet Grubu (n=13), Diyabet +Adropin Grubu (n= 13).

Çizelge 3.1.Çalışmanın Deney Grupları

	Hayvan sayısı (n)	STZ çözücüsü	STZ	Adropin çözücüsü	Adropin
Kontrol Grubu	12	+		+	
Kontrol Adropin Grubu	12	+		+	+
Diyabet Grubu	13	+	+	+	
Diyabet +Adropin Grubu	13	+	+	+	+

Kontrol grubu (K) (n= 12) : Hayvanlar 8 saatlik açlığı takiben tartıldı ve kuyruk veninden kan alınarak AKŞ bakıldı. Hayvanlara intraperitoneal (ip) 1 ml STZ çözücüsü [0,1 Molar (pH: 4.5)

soğuk sitrat tamponu] tek doz olarak enjekte edildi. 72 saat sonra AKŞ bakıldı. Hayvanlara 8 haftadan sonra 10 gün süreyle, günde 2 defa % 0,9 SF ile (adropin çözücüsü) ip enjeksiyonu yapıldı. Son uygulamadan 1 gün sonra hayvanlar AKŞ' leri ve beden ağırlıkları tespit edilip derin anestezi altında intrakardiyak kan alınarak feda edildi.

Kontrol + Adropin grubu (KA) (n=12) : Hayvanlar 8 saatlik açlığı takiben tartıldı ve kuyruk veninden kan alınarak AKŞ bakıldı. Hayvanlara intraperitoneal (ip) 1 ml STZ çözücüsü [0,1 Molar (pH: 4.5) soğuk sitrat tamponu] tek doz olarak enjekte edildi. 72 saat sonra AKŞ bakıldı. Hayvanlara 8 haftadan sonra 10 gün boyunca günde 2 defa, ip % 0.9 salinde çözünen 450 nmol/ kg Adropin uygulaması yapıldı. Son uygulamadan 1 gün sonra hayvanlar AKŞ'leri ve beden ağırlıkları tespit edilip derin anestezi altında intrakardiyak kan alınarak feda edildi.

Diyabet grubu (D)(n=13): Hayvanlar 8 saatlik açlığı takiben tartıldı ve kuyruk veninden kan alınarak AKŞ bakıldı. Daha sonra tek doz 0.1 Molar (pH: 4.5) soğuk sitrat tamponunda çözünen 65 mg/kg STZ ip olarak uygulandı. STZ uygulamasından 72 saat sonra hayvanların AKŞ leri bakıldı 250 mg/dl ve üzeri olanlar diyabetik olarak ayrıldı. Diyabet yapılan hayvanlar diyabetin stabilizasyonu için 2 hafta beklendikten sonra kan glikoz düzeyi 250 mg / dL ve daha yüksek olan hayvanlar gruba alındı. STZ uygulamasından 8 hafta sonra (sıçanlara 10 gün boyunca, günde 2 defa), adropinin çözücüsü (%0,9 salin) ip enjeksiyon ile uygulandı. Son uygulamadan 1 gün sonra hayvanlar AKŞ' leri ve beden ağırlıkları tespit edilip derin anestezi altında intrakardiyak kan alınması ile feda edildi.

Diyabet + Adropin grubu (DA)(n= 13) : STZ ile diyabet yapılan hayvanlarda diyabetin stabilizasyonu için 2 hafta beklendi. Kan glukoz düzeyi 250 mg / dL ve daha yüksek olanlar gruba alındı. STZ uygulamasından 8 hafta sonra sıçanlara 10 gün boyunca günde 2 defa, ip olarak % 0,9 salinde çözünen 450nmol/kg/gün Adropin uygulaması yapıldı.

3.5. Anestezi ve Feda Edilme İşlemleri

Son Adropinin uygulamasından 1 gün sonra hayvanlar AKŞ'leri ve beden ağırlıkları tespit edilip Ketamin-Ksilazin (45-5mg/kg) anestezisi altında intrakardiyak kan alınması ile feda edildi.

Feda edilen sıçanların kalpleri ve aortları alındı. Her grupta 6 hayvana ait kalp ve aort histolojik incelemeler için ayrıldı ve formalinle fikse edildi. Diğer 7 hayvana ait dokular kalp (sol ventrikül ve sol atrium) ve aort sonraki biyokimyasal çalışmalar için -80°C de saklandı.

Çalışma süresince ölçülen parametreler:

Beden Ağırlıkları: Beden ağırlığının tespiti, çalışma süresince 3 kere yapıldı. 1.ölçüm: çalışmanın başında, 2. ölçüm: adropin verilmeden önce, 3. ölçüm : feda edilmeden önce

Kan glukoz düzeyleri: Kan glukoz düzeyleri (AKŞ) çalışma süresince glukometre (LifeChek compact TD-4283 Glukometre) ile haftalık olarak hayvanların 8 saatlik açlığını takiben kuyruk veninden kan alınarak bakıldı.

Alınan Sıvı - Çıkarılan İdrar miktarları: Bütün gruptaki hayvanlar metabolik kafese yerleştirildi. Metabolik kafeste kaldıkları 16 saat boyunca aldıkları su ve çıkardıkları idrar miktarı gözlemlendi, ölçümleri alınıp kaydedildi. Bu ölçümler çalışma süresince 3 defa tekrarlandı.

1.ölçüm: STZ uygulamasından 3 hafta sonra, 2.ölçüm: adropin uygulamasından önce, 3. ölçüm: hayvanlar feda edilmeden önce.

İdrarda Glikoz, keton düzeyleri Keto-Diastix glukoz ölçüm stripleriyle ölçüldü.

3.6. Dokuda Total Antioksidan (TAS) , Total Oksidan (TOS,) Paraoksonaz (PON) ,Arilesteraz (ARE) tayini

Kalp (sol ventrikül ve sol atrium) ve aort dokuları gram doku başına 9 ml soğuk fosfat tamponlu salin(PBS) ile buzlu ortamda homojenize edildi, homojenat 5 dk süre ile 3000 rpm'de, $+4^{\circ}\text{C}$ de santrifüj edilip elde edilen süpernatantlar, çalışma yapılana kadar -80°C de saklandı.

Fosfat tamponlu salin hazırlanışı (PBS): 8g NaCl, 0,2g KCl, 1,44g Na₂HPO₄, 0,24g KH₂PO₄, 800 ml distile su içinde çözülür, 0.1 M HCl ile pH 7.4'e ayarlandıktan sonra distile su ile 1 litreye tamamlanır.

3.6.1. TAS çalışma yöntemi:

TAS ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay, Turkey).

Test çalışma prensibi: Numunedeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikal solüsyonunu, renksiz ABTS formuna çevirir. 660nm absorbansdaki değişim total antioksidan miktarıyla alakalıdır. Kitin kalibrasyonu E vitamini benzeri Trolox Equivalent adı verilen stabil antioksidan standardı ile yapılır (mmol Trolox equiv. /L).

3.6.2. TOS çalışma yöntemi:

TOS ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay, Turkey).

Çalışma prensibi: Numunedeki oksidanlar ferrik iyonla birleşik ferröz iyon-kıskacını oksitler. Oksidasyon reaksiyonu reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan moleküller ile çoğaltılır. Ferrik iyon asidik ortamda kromojen ile renkli bir bileşik oluşturur. Spektrofotometrede ölçülen rengin koyuluğu numunedeki oksidan moleküllerin toplam miktarını verir. Kitin kalibrasyonu hidrojen peroksit ile yapılır. Sonuçlar litre başına düşen mikromol hidrojen peroksit olarak verilir. ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L).

3.6.3. Paraoksonaz(PON) çalışma yöntemi:

Paraoksonaz ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay, Turkey).

Çalışma prensibi: Örnekteki paraoksonaz enzimi reaksiyon ortamındaki paraokson substratını hidroliz eder ve açığa çıkan ürünün absorbans artışı, absorbans spektrumuna uygun dalga boyunda kinetik olarak izlenir. Nonenzimatik hidroliz değeri, örnek değerinden çıkarılarak enzimatik aktiviteye ait net değerler hesaplanır. Sonuçlar dakikada bir mikromolar substratın hidrolizine eşit olan Ünite/Litre cinsinden ifade edilir.

3.6.4. Arilesteraz(ARE) çalışma yöntemi:

Arilesteraz ölçümü Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay, Turkey).

Çalışma prensibi: Arilesteraz enzim aktivitesi ile fenilasetatı hidrolize ederek fenol ve asetata ayırır. ve açığa çıkan ürünün absorbans artışı, absorbans spektrumuna uygun dalga boyunda kinetik olarak izlenir, Absorbans, 270 nm'de 3 dakika izlendi, enzimatik aktiviteye ait net değerler hesaplanır. Sonuçlar dakikada bir mikromolar substratın hidrolizine eşit olan K Ünite/Litre cinsinden ifade edilir.

3.7. Histolojik Çalışma

3.7.1. Hematoksilen-eosin boyama yöntemi

Deney gruplarına ait kalp ve aort dokuları %10'luk nötral formaldehitte tespit edilerek ardından rutin histolojik takip yöntemlerinden geçirildi. Elde edilen parafin bloklardan mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. Sırasıyla azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %80, %70, %50) geçirilen lamlar havada kurutulduktan sonra 10 dakika akar suda yıkandı. Harris Hematoksilen boya solüsyonunda 10 dakika boyanan kesitler boyanma sonrası 10 dakika akar suda yıkandı. Yıkama sonrası asit-alkol karışımına batırılıp çıkarılan kesitler 10 dakika daha akar suda yıkandı ve ardından, 10 dakika Eosin boya solüsyonunda bekletildi. Kesitler 10 dakika daha akar suda yıkanarak artan dereceli alkol serilerinden (%50, %70, %80, %96, %100) geçirildi. Ksilole alınan kesitler daha sonra kapama mediumu olan entellan ile kapatıldı. Leica DM 4000B (Germany) görüntülü analiz sisteminde incelenerek elde edilen görüntüler Leica LAS 4.9 v programında değerlendirildi.

Aort dokularına ait T. İntima kalınlığı ImageJ programı (Java-based software program, National Institutes of Health) kullanılarak ölçüldü.

3.7.2. Masson'un trikrom boyaması

Tüm deney gruplarına ait 4 µm kalınlığındaki kalp ve aort kesitleri deparafinizasyon işleminin ardından, 2 kez 3 dakika %100'lük etil alkolden ve ardından sırasıyla %90, %80,

%70 ve %50 azalan etil alkol serilerinden geçirildi. Boyamaya hazır hale getirilen kesitlere Masson Trichrome Stain Kit (Light Green) Masson 1929 (Kod: RRSK20-100, Atom Scientific Ltd, Cheshire, UK) kiti uygulandı. Haematoxylin Weigert's A ve Haematoxylin Weigert 's B solüsyonları eşit oranda karıştırıldı ve sonuç olarak Weigert Hematoksilen karışımı hazırlandı. Kesitler suda yıkamanın ardından, Weigert'in Demirli Hematoksilen solüsyonu ile 20 dakika boyandı. Tekrar hızlıca yıkanan kesitler %1'lik asit alkol solüsyonunda farklandırılarak 5 dakika Ponceau Fuchsin solüsyonunda boyandı. Boyama sonrası distile su ile yıkanan kesitler %1'lik fosfotungustik asit solüsyonunda 15 dakika mordantlaştırıldı. Light green solüsyonu ile 5 dk boyanan kesitler yıkamaya alındı ve artan alkol serilerinden geçirilerek ksilol sonrasında entellan ile kapatıldı.

Deney gruplarına ait kalp ve aort dokularındaki kollajen lif yoğunluğunu belirlemek için yapılan bu boyama sonucunda nukleuslar mavi-siyah; sitoplazma kırmızı ve kollagen lifler yeşil olarak izlendi. Dokulardaki kollajen lif yoğunluğunu belirlemek amacıyla ImageJ programı (Java-based software program, National Institutes of Health) kullanılarak tüm alandaki kollajen lif alan yüzdesi ölçüldü.

3.7.3. İmmünohistokimyasal yöntem

Deneklere ait kalp ve aort dokuları, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) (bs-2081R, Bioss) ve VEGF (bs-1957R, Bioss) antikorlarıyla yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda, immüreaktivite açısından değerlendirildi.

Kesitler polilizinli lamlara alınarak deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemleri gerçekleştirildi. Tüm dokulara, sitrat buffer (Ph 6.0) (Lot: 9003LT13610, Lab vision, Fremont, USA) ile retrival işlemi uygulanarak, 20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Daha sonra, PBS (Phosphate Buffer Saline) (ph:7.4) ile kesitler 4 kez 3 dakika boyunca yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için 15 dakika boyunca 3%’lük hidrojen peroksit ile inkübe edilen kesitler işlem sonrasında tekrar PBS ile yıkandı. Serum blok solüsyonuna 5 dakika maruz bırakılan dokular, yıkanmadan TNF- α ve VEGF primer antikorları (dilüsyon ; 1/100) ile, +4 derecede bir gece inkübe edildi. Tekrar 4 kez 3’er dakika PBS’de yıkanan kesitlere 10 dakika boyunca biotinli sekonder antikor uygulandı ve primer antikora bağlanması sağlandı. PBS ile tekrar yıkanan kesitler, sonrasında 10 dakika

streptavidin peroksidaz enzim kompleksi ile konjuge edildi. PBS ile tekrar yıkamanın ardından immünreaktiviteyi ortaya çıkarmak için kesitler diaminobenzidine (DAB) substratı içeren kromojen ile inkübe edildi. Mayer' in Hematoksileni zemin boyası olarak kullanılarak zıt boyama yapıldı. Azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler daha sonra ksilolde bekletilerek entellan ile kapatıldı. Leica DM 4000B (Germany) görüntülü analiz sistemi ve Leica LAS 4.9v programı kullanılarak incelenen kesitler değerlendirildi.

Tüm deney gruplarına ait dokuların, TNF- α ve VEGF antikorlarına ait immunohistokimyasal değerlendirmeleri ImageJ programı (Java-based software program, National Institutes of Health) ile TNF- α ve VEGF pozitif alan yüzdesi ölçülerek yapıldı.



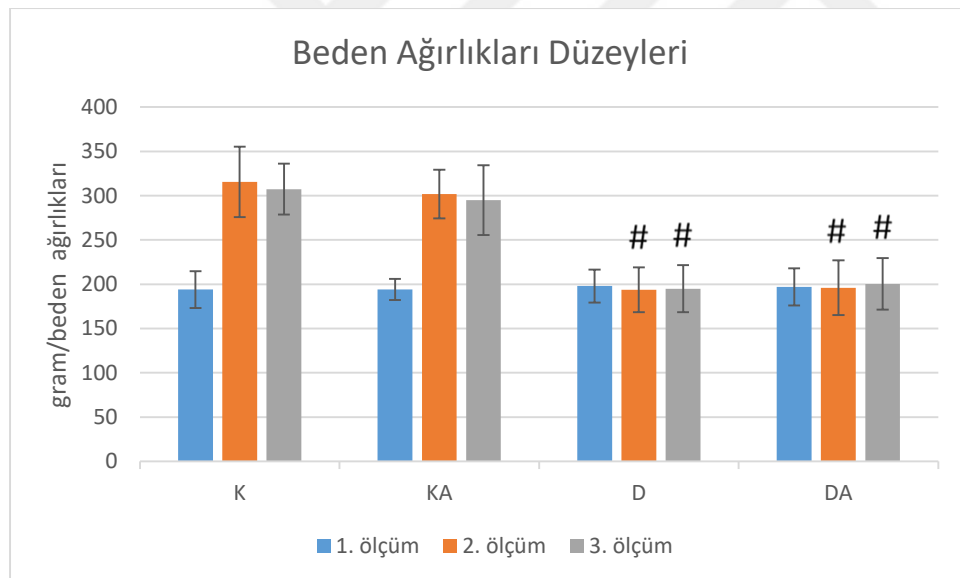


4.BULGULAR

Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS 21 programı kullanıldı. Deney hayvanlarının çalışmanın başında, adropin uygulanmasından önce ve sonra, beden ağırlıkları, AKŞ, alınan sıvı ve çıkarılan idrar miktarları ölçümlerinin değerlendirilmesinde Paired Samples t- Test (Bağımlı Örneklem t-Testi) kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme ise two-way ANOVA ve Posthoc Tukey testi ile yapıldı. Değişkenler arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde ise Pearson r'si kullanıldı. $P < 0,05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.1. Çalışma Süresince Ölçülen Parametreler

4.1.1. Beden ağırlıkları düzeyleri



Şekil 4.1. Hayvanların beden ağırlıkları düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K: Kontrol, KA: Kontrol +Adropin, D: Diyabet, DA: Diyabet +Adropin

K ve KA grupları ile,* D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

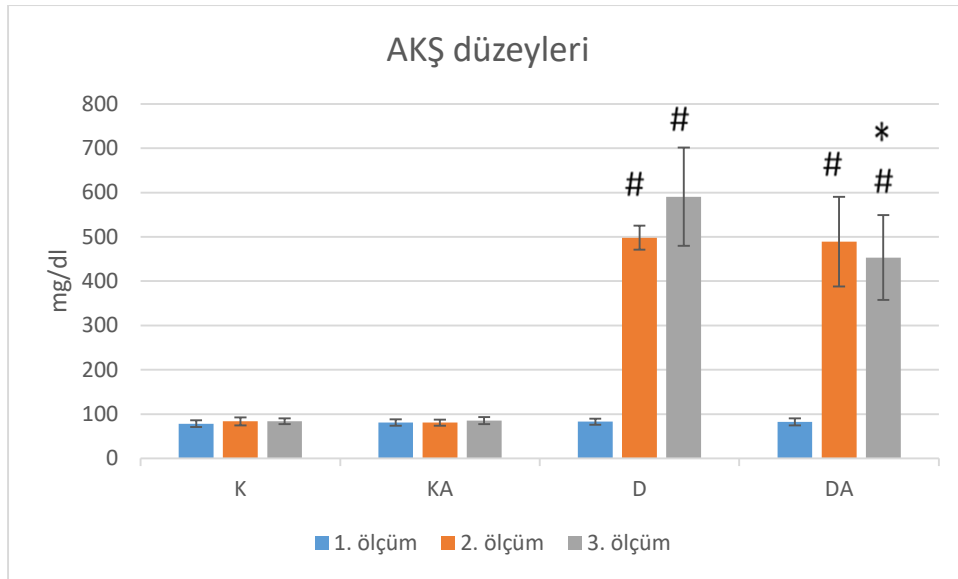
1.ölçüm: çalışmanın başında, 2. ölçüm: adropin verilmeden önce, 3. ölçüm: ötenazi yapılmadan önce

- Gruplar arası karşılaştırma: $p<0,01$: 2. ölç K/D, K/DA, KA/D, KA/DA
 $p<0,01$: 3.ölç K/D, K/DA, KA/D, KA/DA
- Grup içi karşılaştırma: $p<0,01$: K grubu: 1.ölç/2.ölç, 1.ölç/3.ölç,
 $p<0,01$: KA grubu: 1.ölç/2.ölç, 1.ölç/3 ölç.

K ve KA gruplarındaki sıçanların beden ağırlıkları 2. ölçüm ve 3.ölçüm değerleri D ve DA gruplarının 2. ölçüm ve 3. ölçümüne göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış gözlemlendi ($p<0,01$).

Grup içi karşılaştırmada K ve KA gruplarındaki hayvanların 2. ve 3. ölçümlerinin deneyin başında yapılan 1. ölçüme göre anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Diyabet geruplarında ise ölçümler arasında herhangi anlamlı bir fark tespit edilemedi.

4.1.2. Açlık kan şeker düzeyleri (AKŞ).



Şekil 4.2. AKŞ düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K: Kontrol, KA: Kontrol+ Adropin, D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

K ve KA grupları ile, * D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

1.ölçüm: çalışmanın başında, 2. ölçüm: adropin verilmeden önce, 3. ölçüm: ötenazi yapılmadan önce

- Gruplar arası karşılaştırma: $p < 0,01$: 2.ölç K/D, K/DA, KA/D, KA/DA.
 $p < 0,01$: 3.ölç K/D, K/DA, KA/D, KA/DA, DA/D
- Grup içi karşılaştırma: $p < 0,01$: D grubu: 1.ölç/2.ölç, 1.ölç/3.ölç, 2.ölç/3.ölç
 $p < 0,01$: DA grubu: 1.ölç/2.ölç, 1.ölç/3.ölç.

Diyabet gruplarında 2. ve 3. ölçümler (2. ölçüm STZ verilmesinden sonraki 7. haftaya denk gelmektedir) beklenildiği şekilde, hem grupların başlangıç değerlerine göre, hem de K ve KA gruplarındaki AKŞ değerlerine göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi.

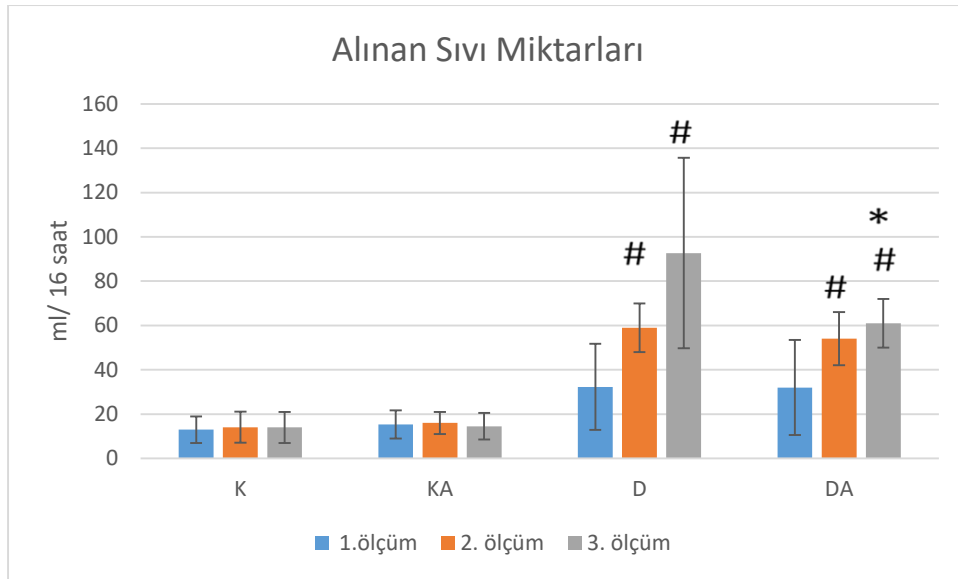
Diyabet grupları arasında değerlendirme yapıldığında, DA grubunda D gruba göre, AKŞ düzeylerinin 3.ölçümünün istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı izlendi($p < 0,05$) .

Grup içinde ise; D grubunda 2. ve 3. ölçüm, 1.ölçüme göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldi ($p<0,01$); yine 3. ölçüm 2. ölçüme göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu.

Elde edilen sonuçlar, AKŞ düzeylerinin diyabetle birlikte yükseldiğini, Adropin uygulamasının ise bu yükselen değerleri anlamlı ölçüde düşürdüğünü göstermektedir.



4.1.3. Alınan sıvı miktarları



Şekil 4.3. Alınan sıvı miktarları

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir

K: Kontrol KA: Kontrol + Adropin D: Diyabet DA: Diyabet Adropin

K ve KA grupları ile, * D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

1.ölçüm STZ uygulamasından 3 hafta sonra, 2.ölçüm adropin uygulamasından önce, 3. ölçüm ötenazi yapılmadan önce.

- Gruplar arası karşılaştırma: $p < 0,05$: 1.ölç K/D, K/DA, KA/D, KA/DA.
 $p < 0,01$: 2.ölç K/D, K/DA, KA/D, KA/DA
 $p < 0,01$: 3.ölç K/D, K/DA, KA/D, KA/DA.
- Grup içi karşılaştırma: $p < 0,01$: D grubu: 1.ölç/2.ölç, 1.ölç/3.ölç, 2.ölç/3.ölç.
 $p < 0,01$: DA grubu: 1.ölç/2.ölç, 1.ölç/3.ölç.

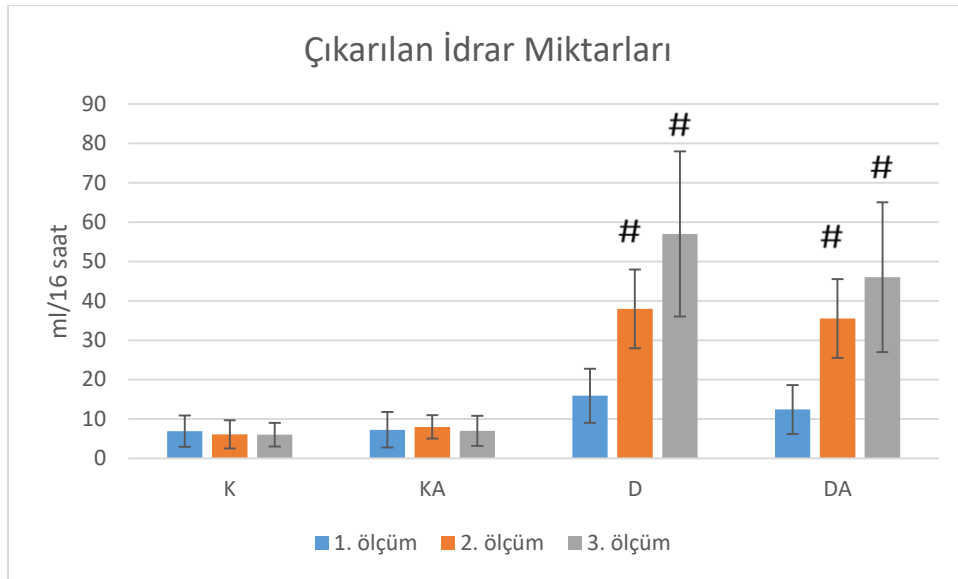
D ve DA gruplarının alınan sıvı miktarları her 3 ölçümde de Diyabet olmayan gruplara göre (K+KA) anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,01$).

Diyabet grubundaki sıçanların alınan sıvı miktarları 2.ölçüm ve 3. ölçümde 1.ölçüme göre; 3. ölçüm de 2.ölçüme göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak izlendi ($p < 0,01$).

DA grubundaki sıçanların alınan sıvı miktarları 2.ölçüm ve 3. ölçümleri 1.ölçüme göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak izlendi ($p<0,01$). Ancak 3. ölçümde 2.ölçüme göre anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.



4.1.4. Çıkarılan idrar miktarları.



Şekil 4.4. Çıkarılan idrar miktarları

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K :Kontrol KA:Kontrol+ Adropin D: Diyabet DA: Diyabet Adropin

K ve KA grupları ile,* D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

1.ölçüm STZ uygulamasından 3 hafta sonra, 2.ölçüm adropin uygulamasından önce, 3. ölçüm ötenazi yapılmadan önce.

- Gruplar arası karşılaştırma: $p < 0,05$: 1.ölç K/D, K/DA, KA/D, KA/DA.
 $p < 0,01$: 2.ölç K/D, K/DA, KA/D, KA/DA
 $p < 0,01$: 3.ölç K/D, K/DA, KA/D, KA/DA.
- Grup içi karşılaştırma: $p < 0,01$: D grubu: 1.ölç/2.ölç, 1.ölç/3.ölç. 2. ölç/3.ölç .
 $p < 0,01$: DA grubu: 1.ölç/2.ölç, 1.ölç/3 ölç.

D ve DA gruplarının her 3 ölçümde de çıkarılan idrar miktarı K ve KA gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,01$) .

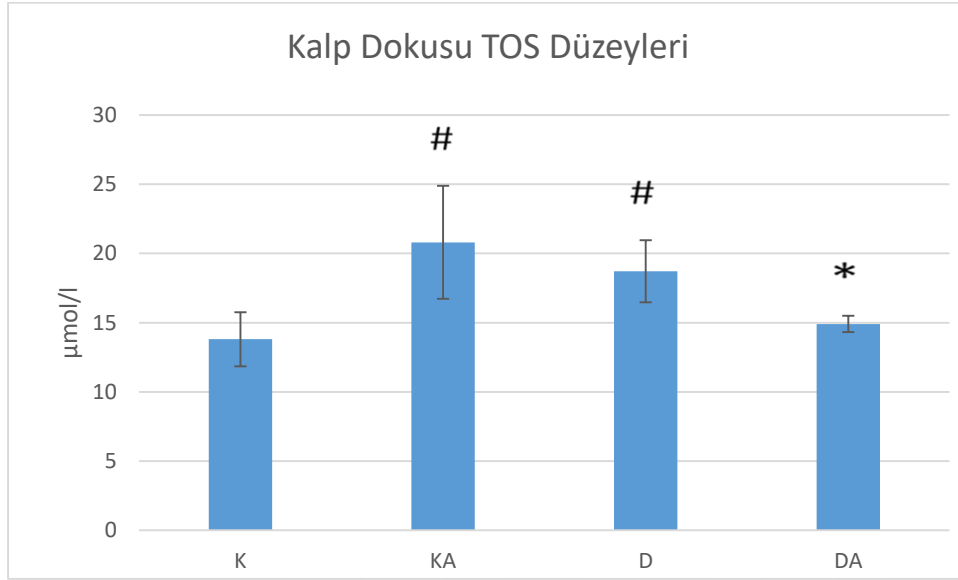
Diyabet grubu kendi içinde değerlendirildiğinde, çıkarılan idrar miktarlarının gittikçe arttığı ve bu artışta anlamlı olduğu görüldü ($p < 0,01$). DA grubundaki sıçanların çıkarılan idrar miktarlarına bakıldığında 1. ve 2. ölçümlerle 3. ölçüm arasında anlamlı fark varken ($p < 0,01$), Adropin verildikten sonraki ölçüm (3. ölçüm) ile Adropin verilmeden önce yapılan ölçüm (2. Ölçüm) arasında değerlendirme yapıldığında, çıkarılan idrar miktarı artmakla birlikte

anlamalı bir fark bulunmadı. Bu sonuç bize diyabete bağlı olarak artan idrar miktarında, Adropin uygulamasının anlamalı olmamakla birlikte bir miktar kontrol sağladığını göstermektedir.



4.2. Doku Oksidan Stres Parametre Bulguları

4.2.1. Kalp dokusu TOS düzeyleri



Şekil 4.5. Kalp dokusu TOS düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K :Kontrol KA:Kontrol+ Adropin D: Diyabet DA: Diyabet Adropin

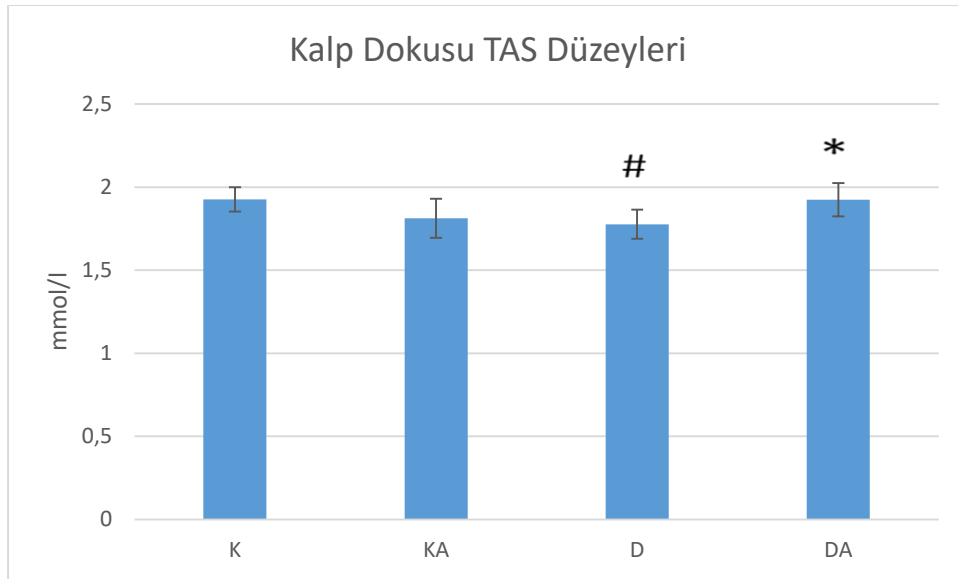
K grubu ile,* D, KA grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, K/KA, KA/DA, DA/ D.

	K	KA	D	DA
Ortalama $\pm$ standart sapma	13,8 $\pm$ 3	20,80 $\pm$ 4	18,71 $\pm$ 2	14,8 $\pm$ 0,5

D grubunda kalp dokusu TOS düzeyleri K ve DA gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p < 0,05$). KA grubunda kalp dokusu TOS düzeylerinin K ve DA gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edildi ($p < 0,05$).

4.2.2. Kalp dokusu TAS düzeyleri



Şekil 4.6. Kalp dokusu TAS düzeyleri.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir

K : Kontrol KA:Kontrol+ Adropin D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

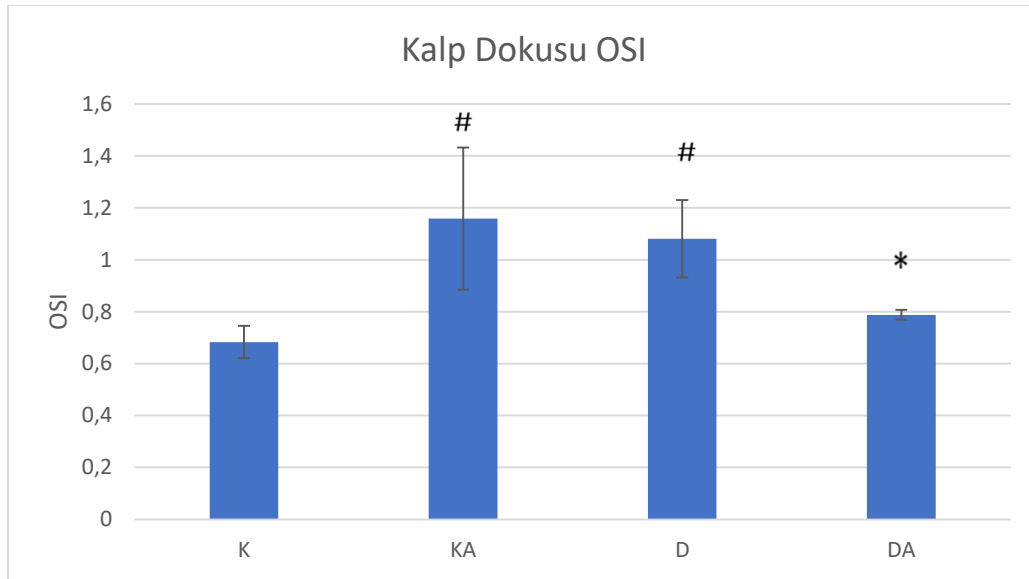
K grubu ile,* D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, DA/D

	K	KA	D	DA
Ortalama $\pm$ standart sapma	1,92 $\pm$ 0,06	1,81 $\pm$ 0,10	1,77 $\pm$ 0,07	1,91 $\pm$ 0,06

D grubunda kalp dokusu TAS düzeyleri K ve DA gruplarına göre istatistiksel olarak olarak düşük bulundu ($p < 0,05$). Diğer gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı bir farklılık tespit edilemedi. Kalp dokusu TOS ve TAS sonuçları arasında negatif korelasyon olduğu tespit edildi $p = 0,011$.

4.2.3. Kalp dokusu OSI



Şekil 4.7. Kalp dokusu OSI

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K: Kontrol KA: Kontrol+ Adropin D: Diyabet DA: Diyabet +Adropin

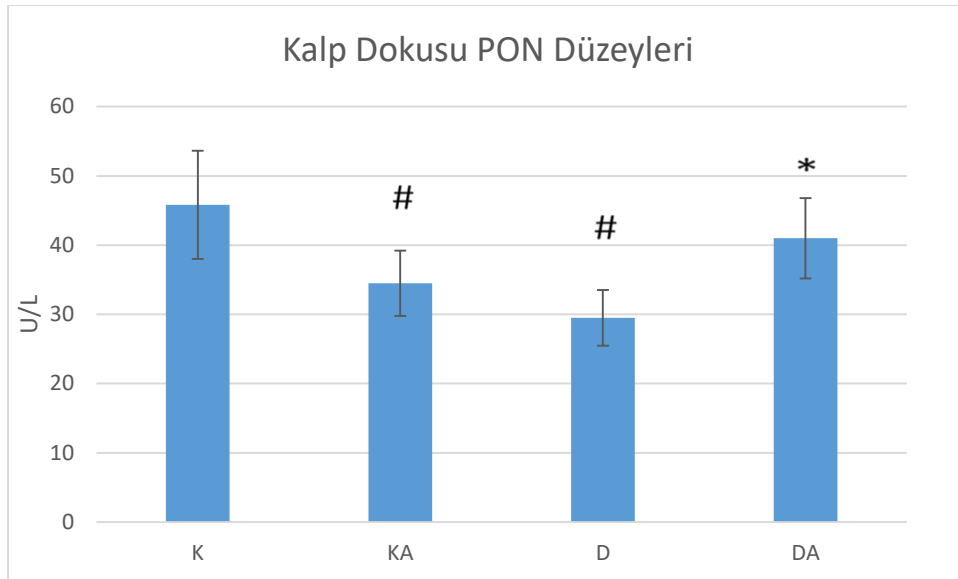
K grubu ile, * D, KA grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, K/KA, KA/DA, DA/ D.

	K	KA	D	DA
Ortalama $\pm$ standart sapma	0,68 $\pm$ 0,06	1,15 $\pm$ 0,27	1,08 $\pm$ 0,14	0,78 $\pm$ 0,01

Kalp dokusu TOS düzeyinin, TAS düzeyine oranlanması ile elde edilen OSI, D grubunda K ve DA gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p < 0,05$). KA grubunda K ve DA gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edildi ($p < 0,05$).

4.2.4. Kalp dokusunda PON düzeyleri



Şekil 4.8. Kalp dokusunda PON düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K : Kontrol KA:Kontrol+ Adropin D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

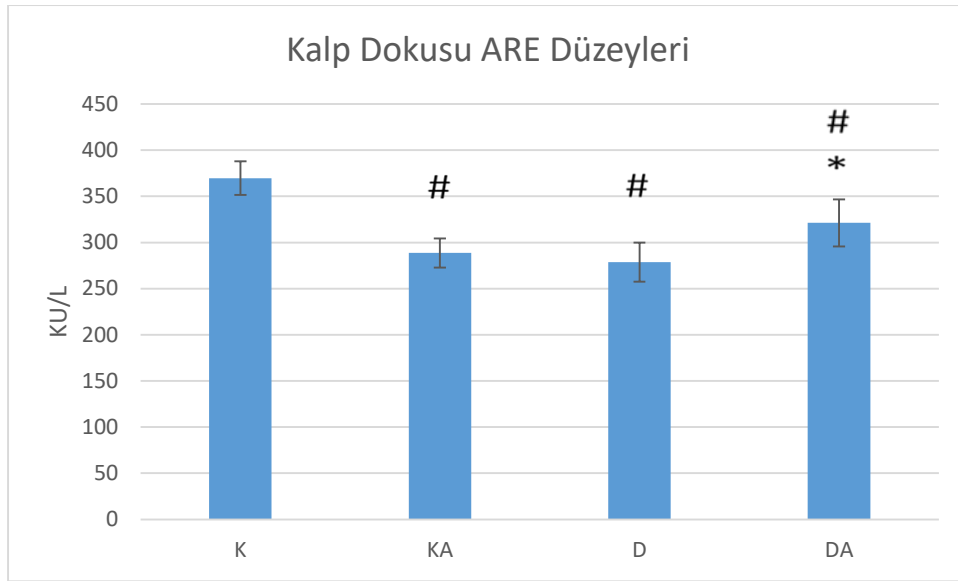
K grubu ile, * D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, K/KA, D/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	45,8 $\pm$ 7,8	34,6 $\pm$ 4,7	29,4 $\pm$ 4	41 $\pm$ 5,7

Kalp dokusu PON düzeylerinin, K grubu ile karşılaştırıldığında KA ve D gruplarında anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi ($p < 0,05$). DA grubunda PON düzeylerinin D grubuna göre anlamlı şekilde yükseltti ($p < 0,05$). Kalp dokusu PON ve TAS sonuçları arasında pozitif korelasyon görülürken $p = 0,020$, kalp dokusu PON ve TOS sonuçları arasında negatif korelasyon bulundu $p = 0,020$.

4.2.5. Kalp dokusu ARE düzeyleri.



Şekil 4.9. Kalp dokusu ARE düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K : Kontrol KA:Kontrol +Adropin D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

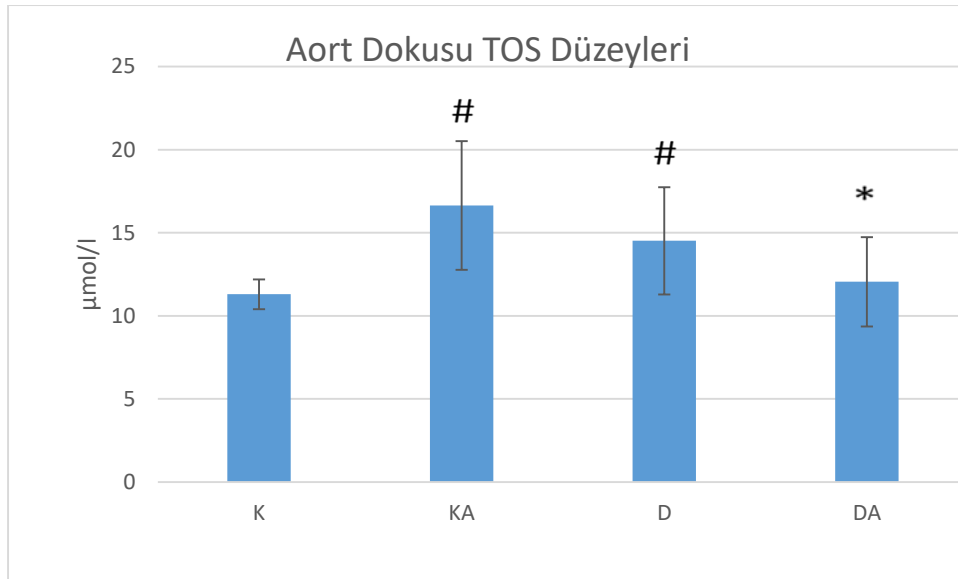
K grubu ile, * D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, K/KA, K/DA, D/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	369,6 $\pm$ 18	288,6 $\pm$ 15	278,6 $\pm$ 20	312,4 $\pm$ 21

D grubunda kalp dokusu ARE düzeyleri K ve DA gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,05$). K grubunda kalp dokusu ARE düzeyleri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek değerler tespit edildi ($p < 0,05$). Kalp dokusu ARE ve TAS sonuçları arasında pozitif korelasyon gözlenirken $p = 0,011$, kalp dokusu ARE ve TOS sonuçları arasında negatif korelasyon olduğu tespit edildi $p = 0,015$.

4.2.6. Aort dokusu TOS düzeyleri



Şekil 4.10. Aort dokusu TOS düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K: Kontrol KA: Kontrol+ Adropin D: Diyabet DA: Diyabet +Adropin

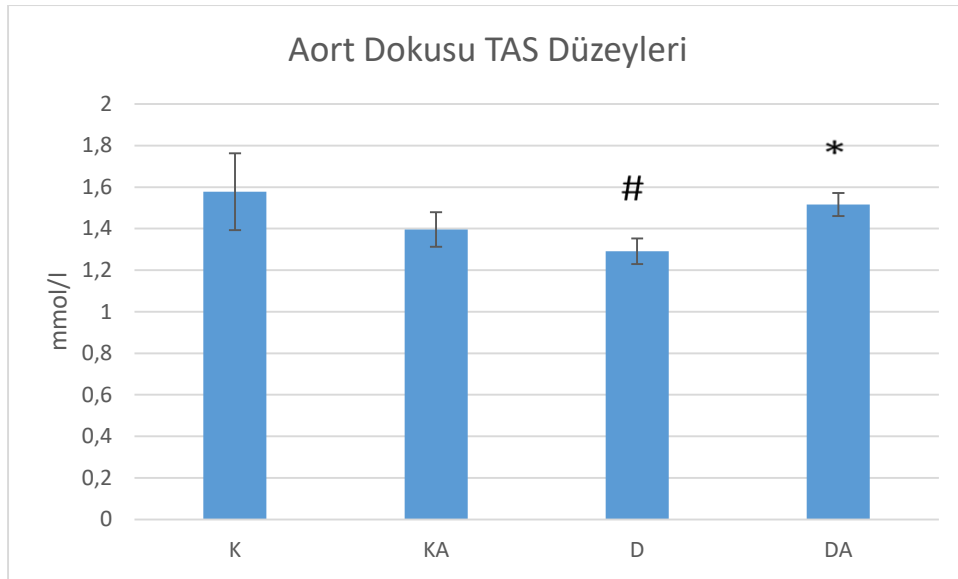
K grubu ile, * KA grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/KA, K/D, KA/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	11,30 $\pm$ 0,8	16,6 $\pm$ 3,8	14,51 $\pm$ 3,2	12,05 $\pm$ 2,6

K grubuyla kıyaslandığında D grubunda aort dokusu TOS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış bulundu ($p < 0,05$). KA grubu ile kıyaslandığında ise K ve DA gruplarında aort TOS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış tespit edildi ($p < 0,05$). D grubunda aort TOS düzeyleri DA grubuyla kıyaslandığında yüksek olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

4.2.7. Aort dokusu TAS düzeyleri



Şekil 4.11. Aort dokusu TAS düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K: Kontrol KA: Kontrol +Adropin D: Diyabet DA: Diyabet +Adropin

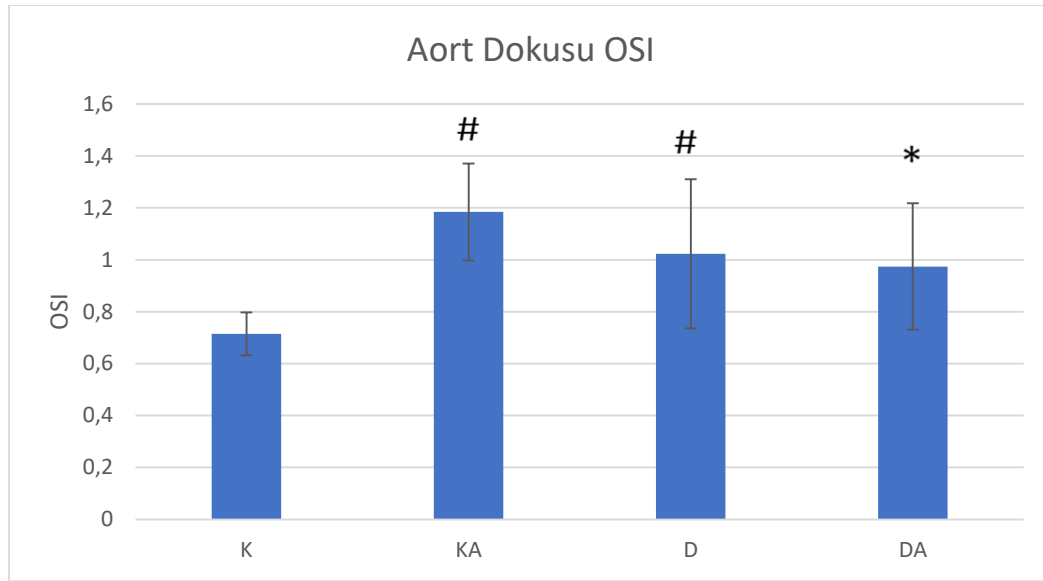
K grubu ile, * D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, DA/D

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	1,57 $\pm$ 0,18	1,39 $\pm$ 0,08	1,30 $\pm$ 0,06	1,51 $\pm$ 0,05

DA grubundaki aort TAS düzeylerinin D grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$). D grubunda ise K grubuna göre aort TAS düzeyleri anlamlı olarak düşük değerler tespit edildi ($p < 0,05$). Diğer gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı bir farklılık tespit edilemedi. Aort dokusu TAS ve TOS sonuçları arasında negatif korelasyon olduğu tespit edildi $p = 0,052$.

4.2.8. Aort dokusu OSI



Şekil 4.12. Aort dokusu OSI

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K: Kontrol KA: Kontrol +Adropin D: Diyabet DA: Diyabet +Adropin

K grubu ile, * KA grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

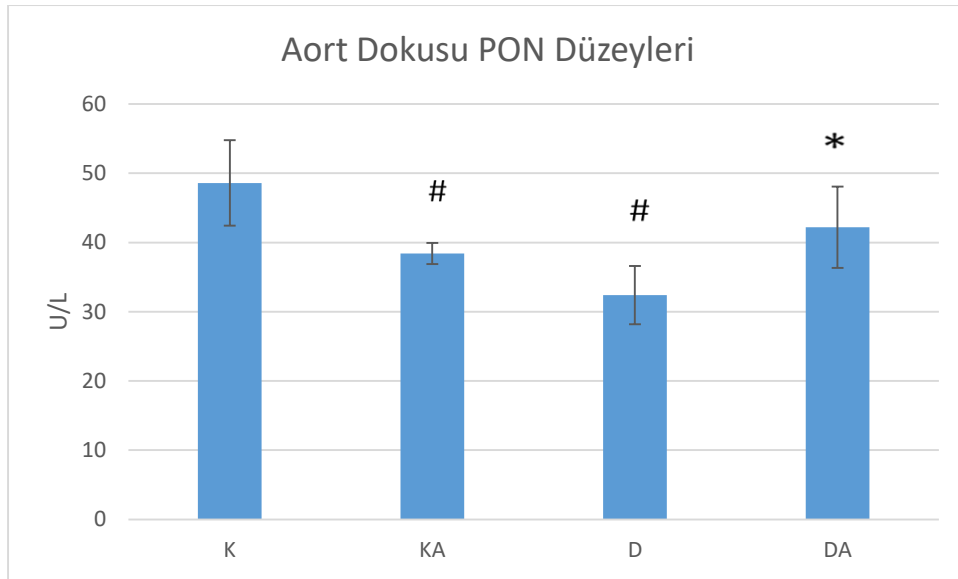
$p < 0,05$: K/KA, K/D, KA/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	0,71 $\pm$ 0,08	1,18 $\pm$ 0,18	1,02 $\pm$ 0,28	0,92 $\pm$ 0,24

Kalp dokusu TOS düzeyinin, TAS düzeyine oranlanması ile elde edilen OSI, K grubuyla kıyaslandığında D grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış bulundu ($p < 0,05$).

KA grubu ile kıyaslandığında ise K ve DA gruplarında aort OSI istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış tespit edildi ($p < 0,05$). D grubunda aort OSI DA grubuyla kıyaslandığında yüksek olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

4.2.9. Aort dokusu PON düzeyleri



Şekil 4.13. Aort dokusu PON düzeyleri.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K :Kontrol KA:Kontrol +Adropin D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

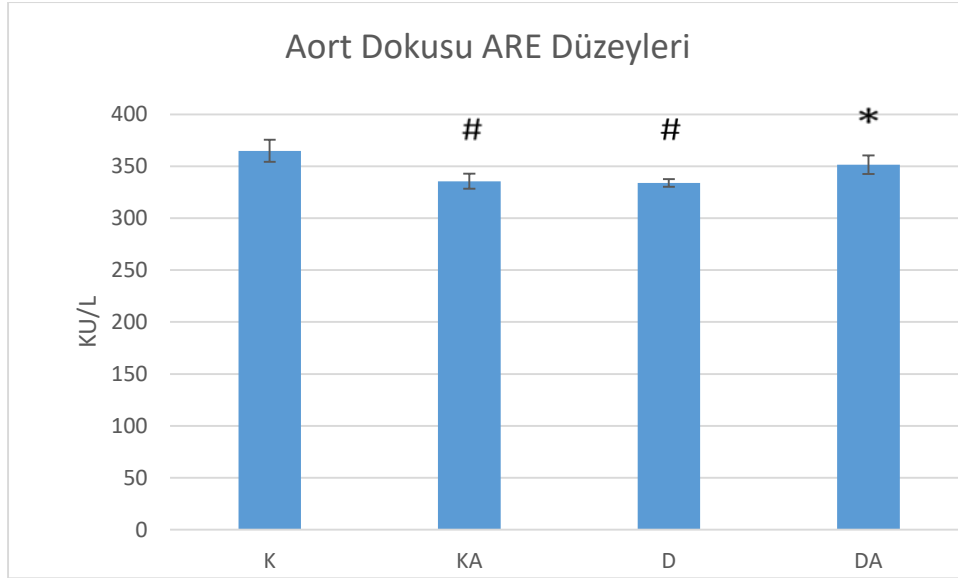
K grubu ile, * D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, K/KA, D/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	48,2 $\pm$ 6	38,4 $\pm$ 1,5	33 $\pm$ 4	42,2 $\pm$ 5

K grubuna ait aort dokusu PON düzeyleri D ve KA gruplara göre anlamlı olarak bir yüksek değerler bulundu ($p < 0,05$). DA grubunda aort PON düzeylerinin D grubuna göre anlamlı artış gösterdiği tespit edildi ($p < 0,05$). Aort dokusu TAS ve PON sonuçları arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edildi $p = 0,011$. Aort dokusu TOS ve PON sonuçları arasında negatif korelasyon bulundu $p = 0,053$.

4.2.10. Aort dokusunda ARE düzeyleri.



Şekil 4.14. Aort dokusunda ARE düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K : Kontrol KA: Kontrol + Adropin D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

K grubu ile, * D, KA grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, K/KA, KA/DA, D/DA.

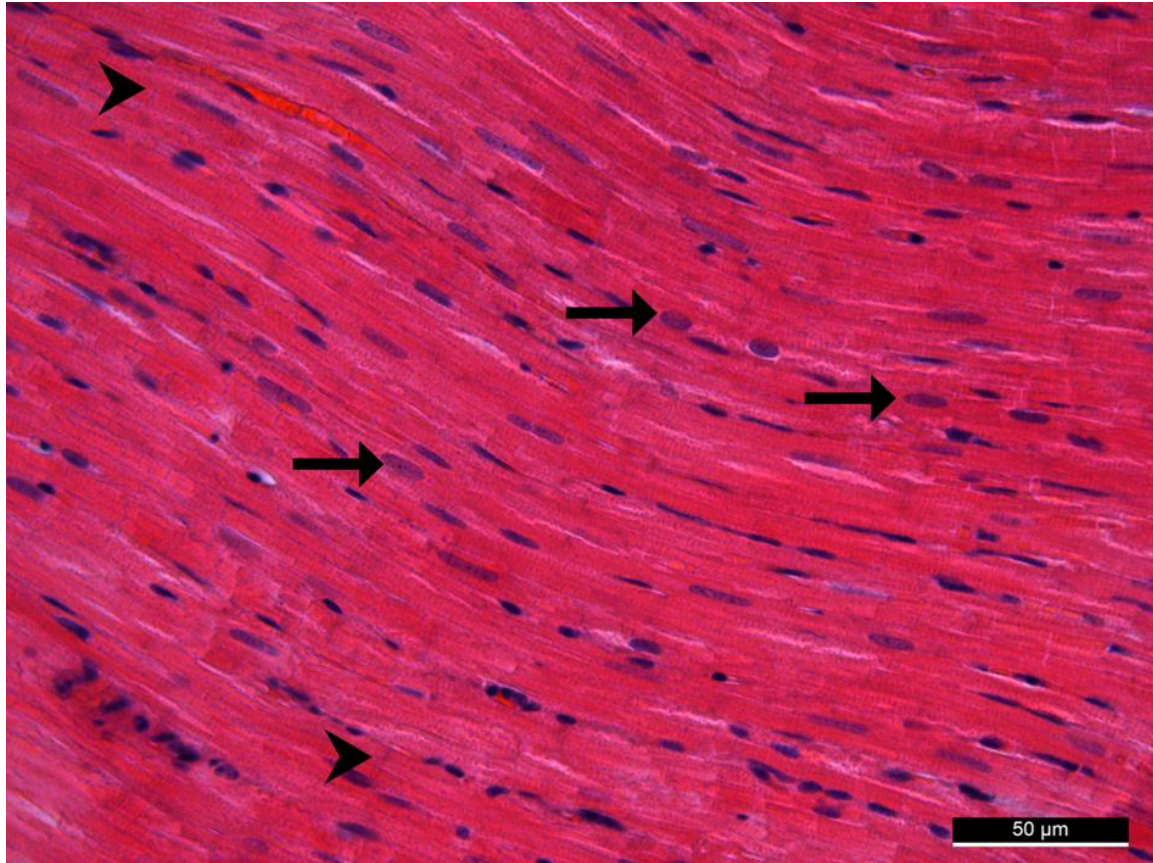
	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	364,6 $\pm$ 10,6	335,6 $\pm$ 7,3	333,8 $\pm$ 3,7	351 $\pm$ 8,9

K grubuyla karşılaştırıldığında, D ve KA gruplarında doku ARE düzeylerinin anlamlı düzeyde düşmüş olduğu görüldü ($p < 0,05$). DA grupta ARE düzeylerinde, D grubuna göre belirgin şekilde artma kaydedildi ($p < 0,05$). Diğer gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı bir farklılık tespit edilemedi. Aort dokusu TAS ve ARE sonuçları arasında pozitif korelasyon bulunurken $p = 0,001$, TOS ve ARE sonuçları arasında negatif korelasyon görüldü $p = 0,019$. Aort dokusu PON ve ARE sonuçları arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edildi $p = 0,004$.

4.3. Işık Mikroskopik Bulgular

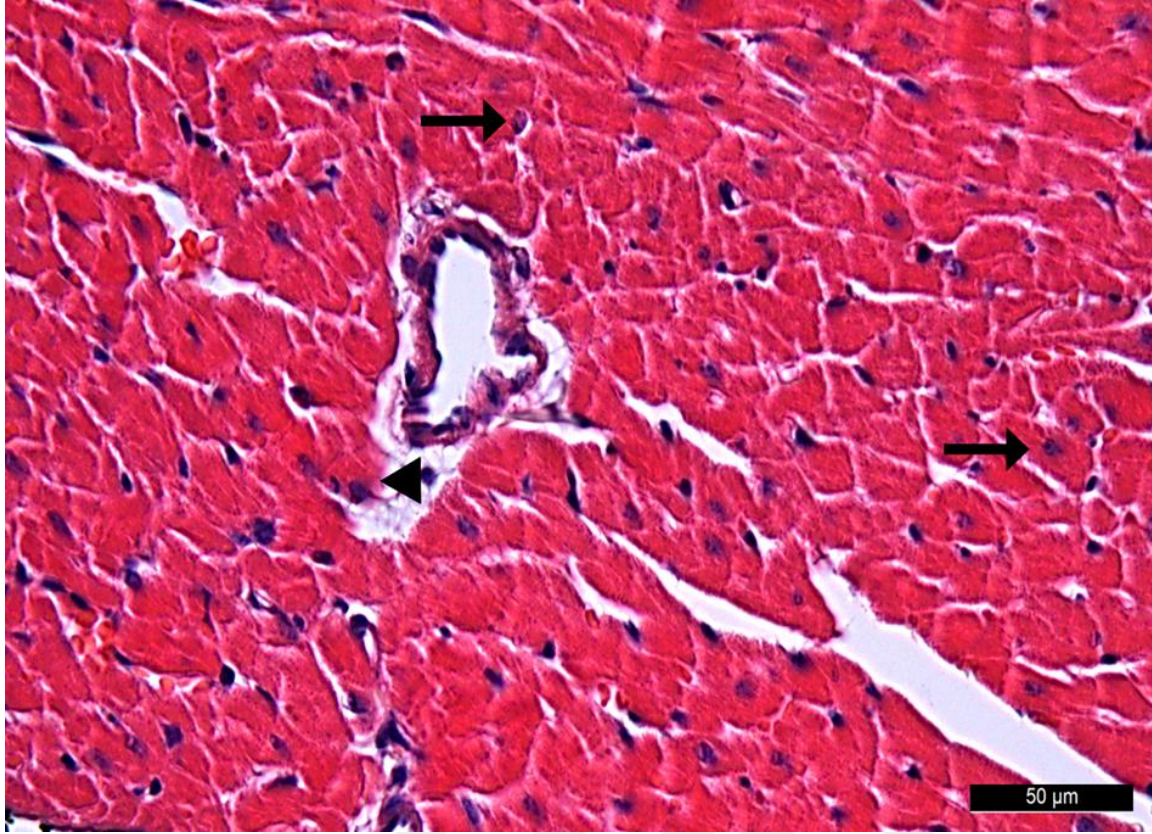
4.3.1. Kalp dokusu hematoksilin eosin (HE)

Kontrol grubuna ait kalp dokusunun Hematoksilin- Eosin (HE) ile boyanmış enine kesitlerinde, kalp kası hücreleri tek, oval ve merkezi yerleşimli nukleusları ve soluk boyanan sitoplazmaları ile normal histolojik görünüme sahipti. Diskus interkalarisler normal yapıda ve daha koyu boyanmış izlendi . Perivasküler ve interstisyel alanda herhangi bir patolojik değişim dikkati çekmedi (Resim 4.1.A ve B).



Resim 4.1.A Kontrol grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü

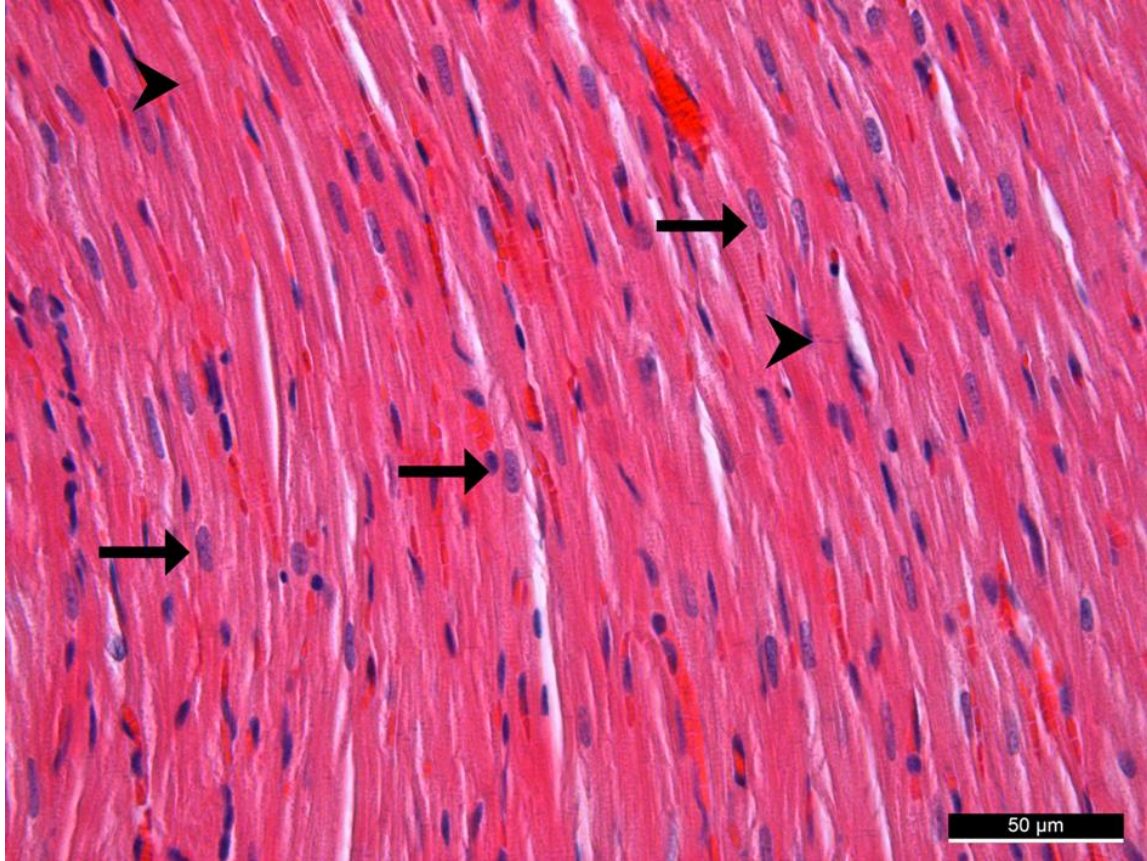
Normal histolojik görünüme sahip tek, oval ve merkezi yerleşimli nukleus içeren kalp kası hücreleri (→) ve diskus interkalarisler (➤) izlenmekte (HE , x400) .



Resim 4.1.B Kontrol grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü

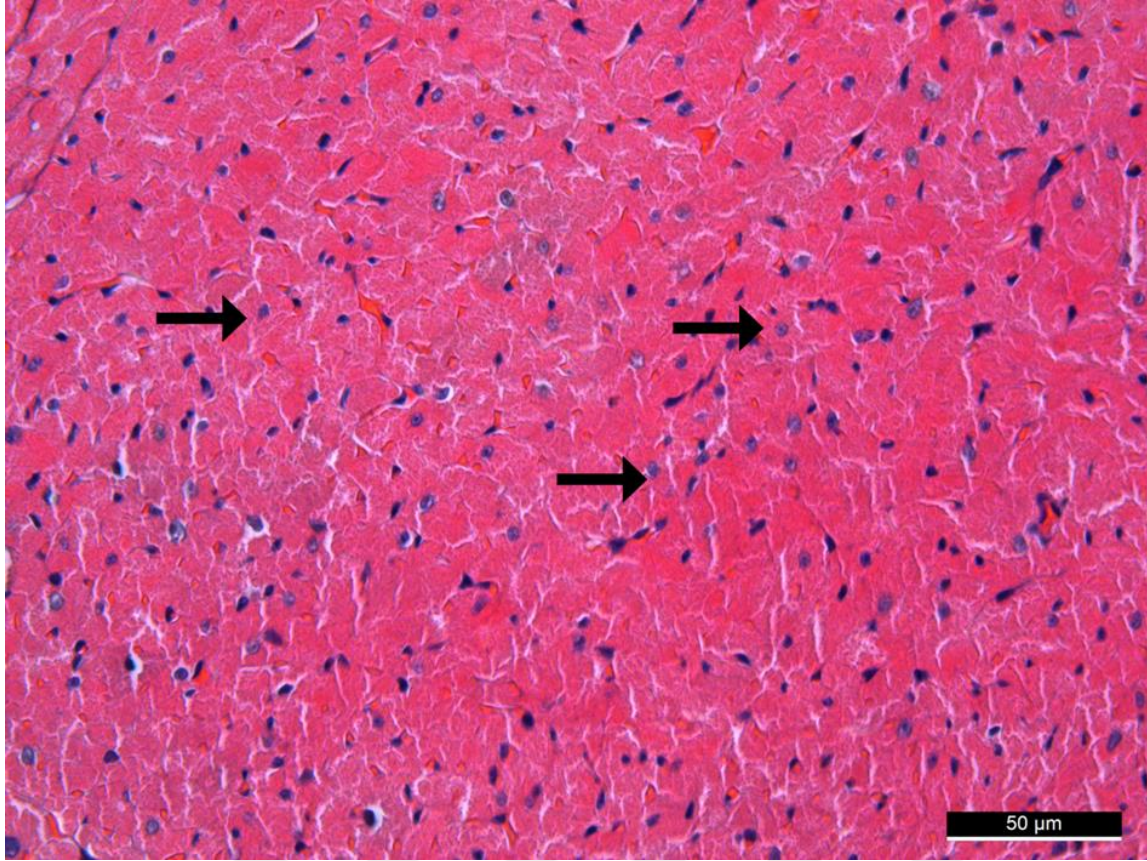
Normal histolojik görünüme sahip kalp kası hücreleri (→) ve vasküler oluşumlar (►)görölmekte (HE, x400).

Kontrol+ Adropin grubuna ait kalp kası hücreleri kontrol grubuna benzer şekilde normal histolojik yapıya sahipti. Perivasküler ve interstisyel alanda herhangi bir dejeneratif değişiklik izlenmedi (Resim 4.2. A ve B).



Resim 4.2.A. Kontrol+ Adropin grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü

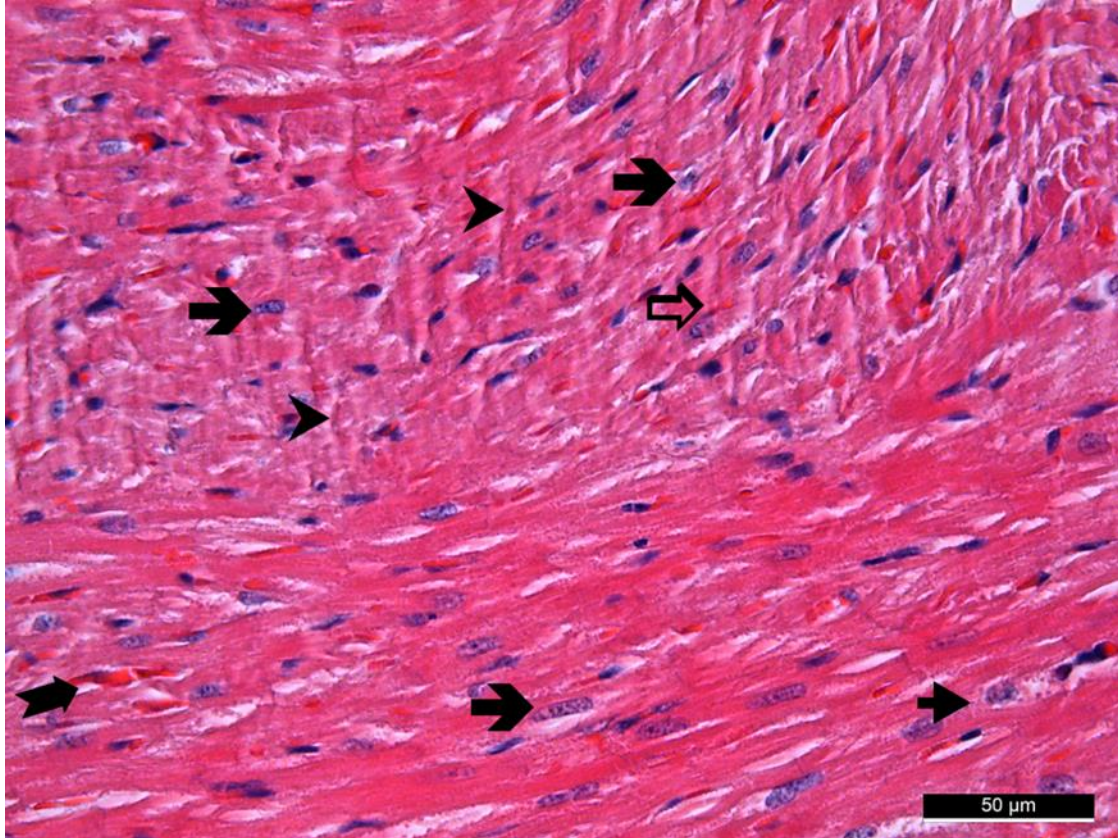
Normal histolojik görünümüne sahip kalp tek, oval ve merkezi yerleşimli nukleus içeren kalp kası hücreleri (→) ve diskus interkalarisler (➤) dikkati çekmekte (HE, x400).



Resim 4.2.B. Kontrol+ Adropin grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü

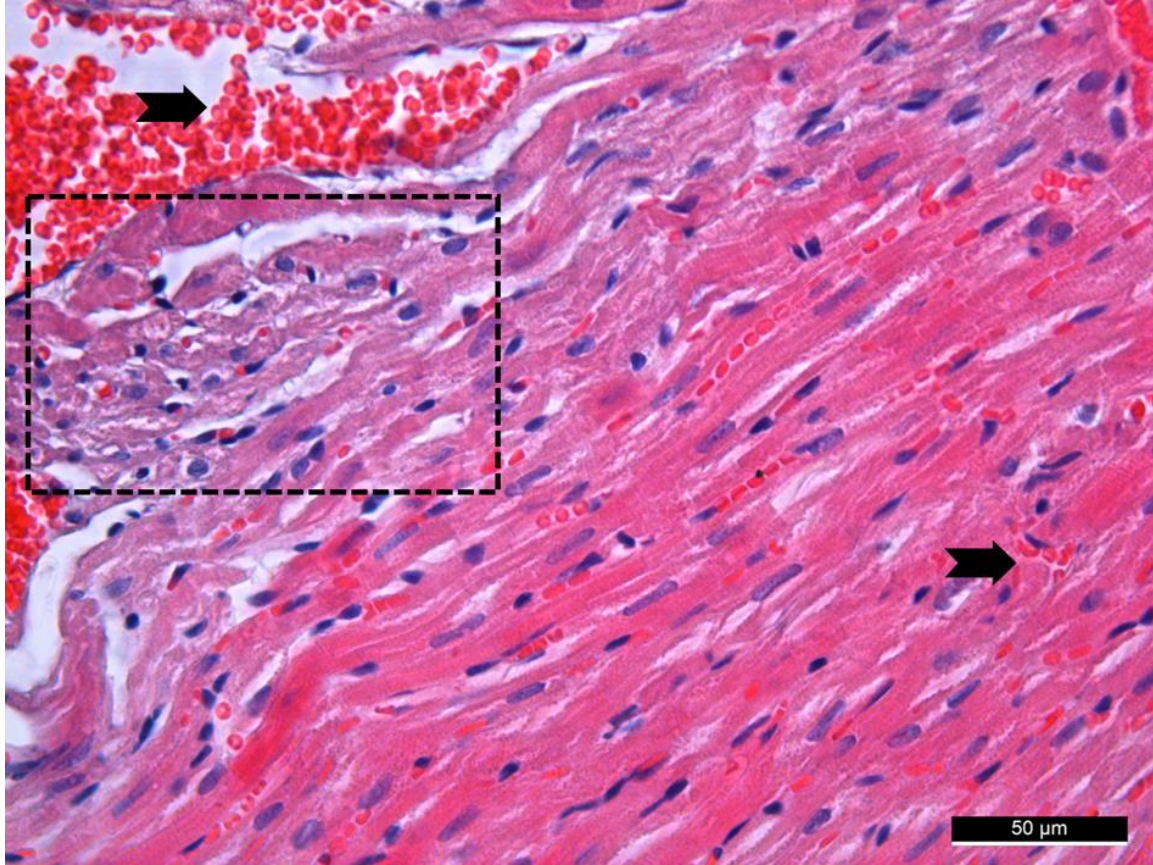
KA grubuna ait normal histolojik görünümüne sahip kalp kası hücreleri (→) izlenmekte (HE, x400).

Diyabet grubuna ait kalp dokusunun HE ile boyanmış enine kesitlerinde, kalp kası hücrelerine ait nukleusların şekil ve boyutlarında değişimler izlenirken, bazı hücrelerde boyanma özelliğini de yansıyan hidropik değişiklikler dikkati çekti. Bazı alanlarda miyofibril yapısında düzensizlikler izlendi. İnterstisyel alanda konjesyon ve interkalat disk yapısında bozulma dikkati çeken diğer bulgular arasındaydı (Resim 4.3.A, B ve C).



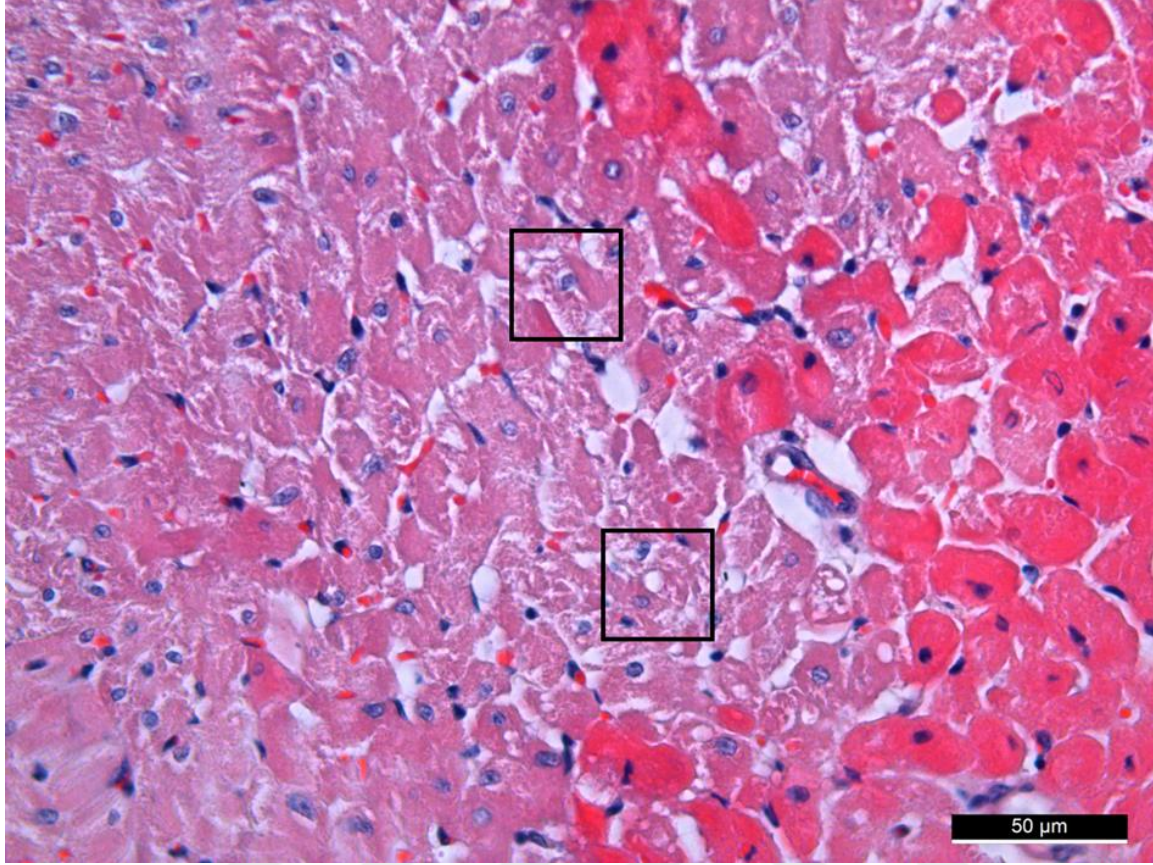
Resim 4.3.A. Diyabet grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü

Diyabet grubuna ait kalp kası hücre nukleuslarının şekil ve boyutlarında değişimler (➔), miyofibril (⇨) ve diskus interkalaris (➤) yapısında bozulma, bazı hücrelerde hidropik değişiklikler (➤) ve interstisyel alanda konjesyon (➤) dikkati çekmekte (HE, x400).



Resim 4.3.B. Diyabet grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü

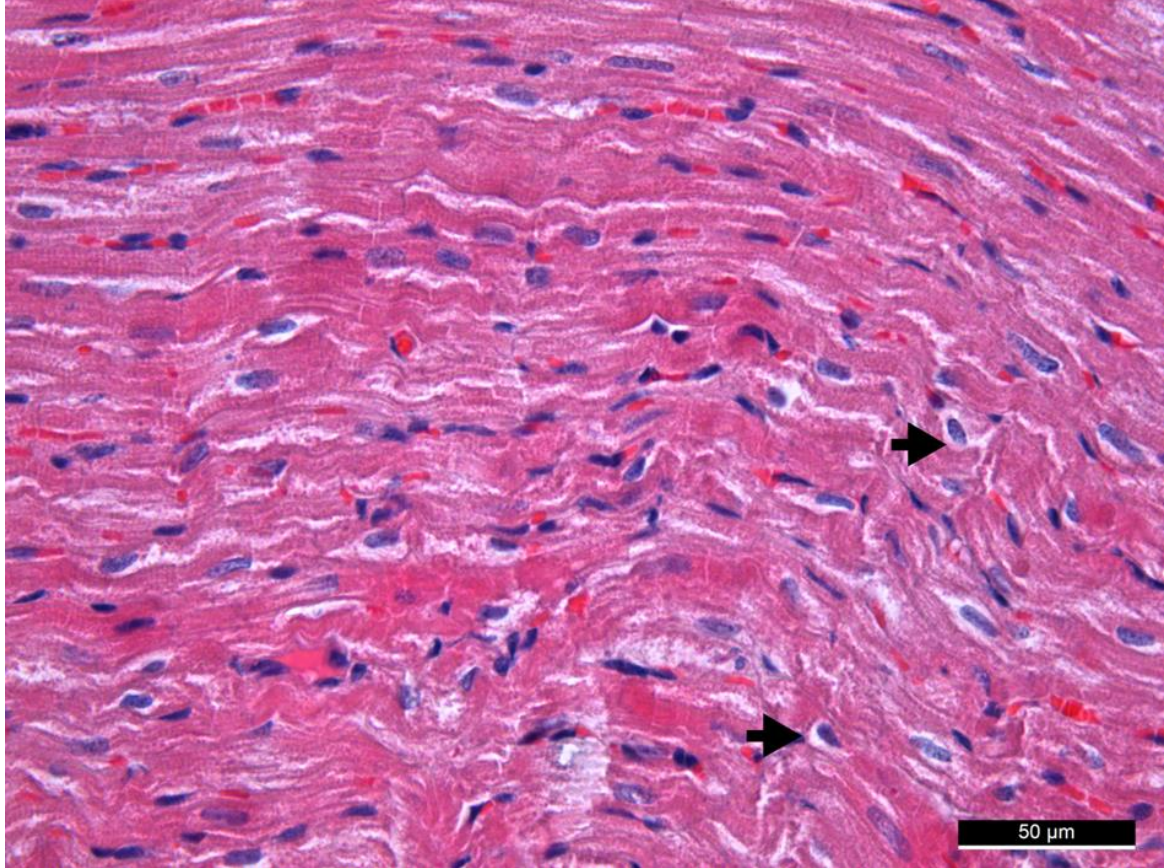
Diyabet grubuna ait kalp kası hücrelerinde hidropik değişikliklerin görüldüğü alanlar (dikdörtgen) ve interstisyel alanda konjesyon (➔) izlenmekte (HE, x400).



Resim 4.3.C. Diyabet grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü.

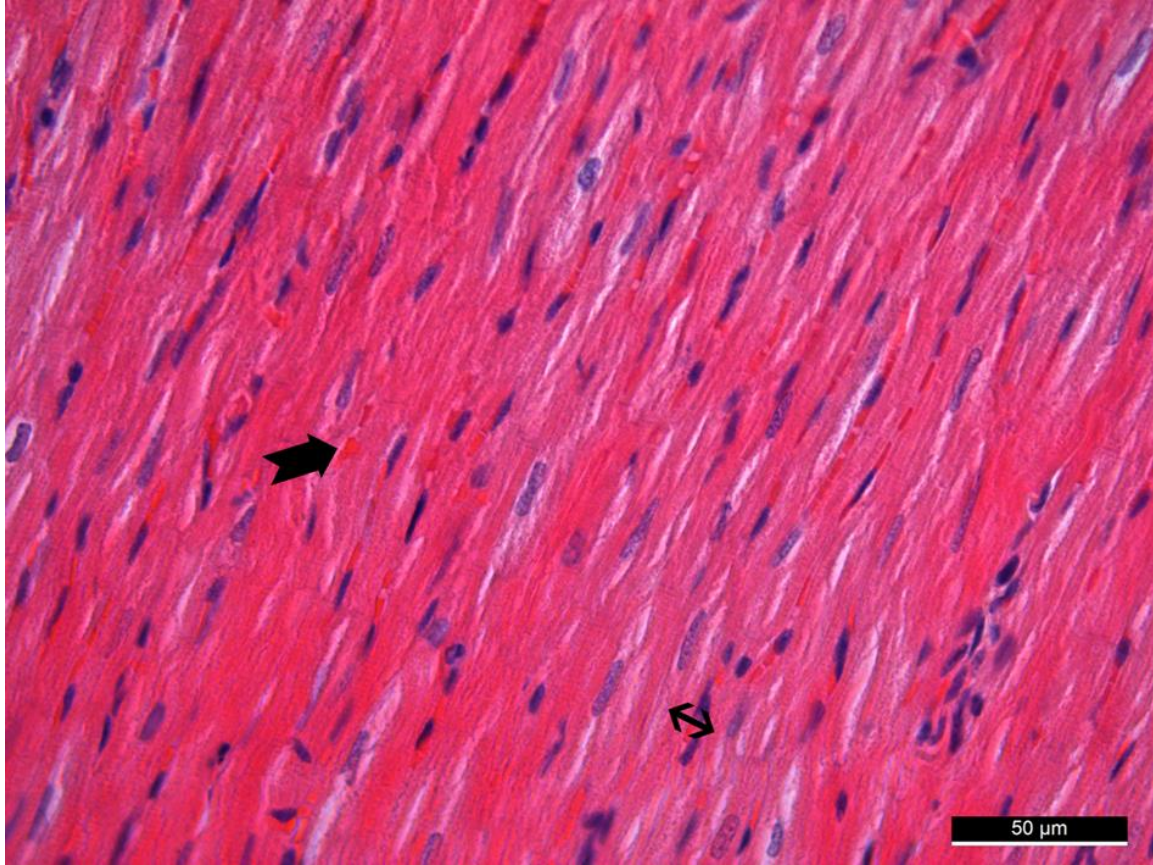
Diyabet grubuna ait bazı kalp kası hücrelerindeki, boyanma özelliğine yansıyan hidropik değişimler (kare) görülmekte (HE, x400).

Adropin uygulanan diyabet grubuna (DA) ait kalp dokusunun HE ile boyanmış kesitlerinde, bazı kalp kası hücrelerinde hidropik değişimlerin devam ettiği, çizgilenme ve Diskus interkalaris yapılarının ise diyabet grubuna göre daha düzenli olduğu dikkati çekti. Konjesyonun, Diyabet grubuna göre azaldığı fakat yer yer devam ettiği görüldü (Resim 4.4.A,B ve C).



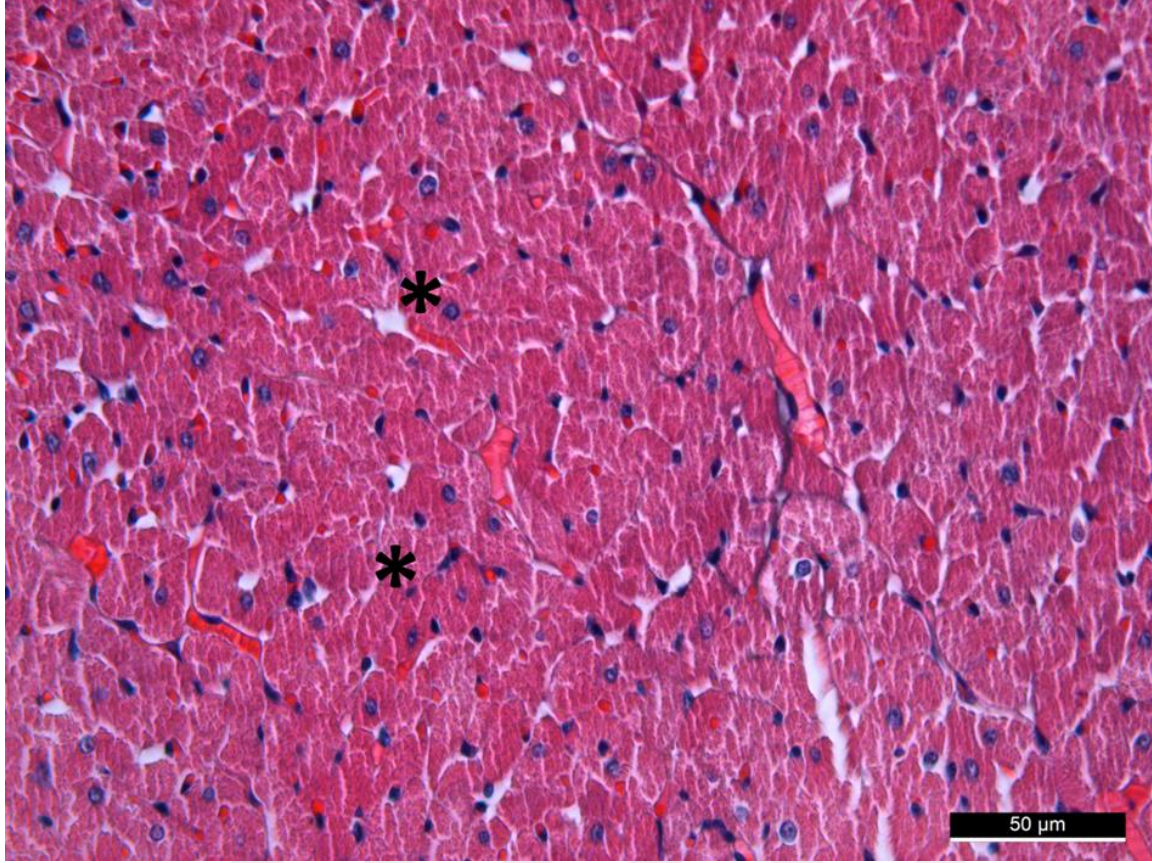
Resim 4.4.A. Diyabet + Adropin grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü

DA grubuna ait bazı kalp kası hücrelerinde devam eden hidropik değişimler (➔) görülmekte (HE, x400).



Resim 4.4.B. Diyabet + Adropin grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü

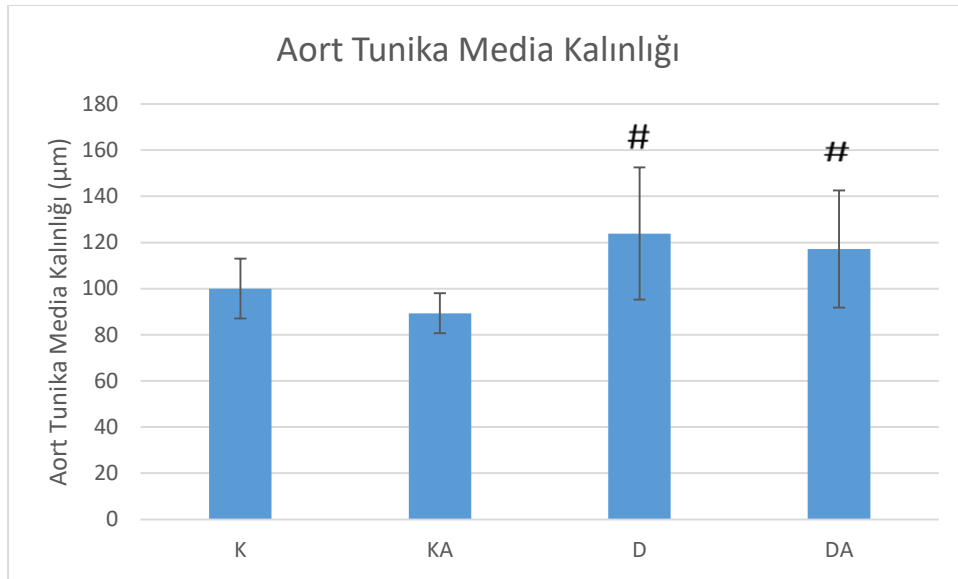
DA grubuna ait bazı kalp kası hücrelerinde, Diyabet grubuna göre daha düzenli çizgilenme ($\Updownarrow$), korunmuş, Diskus interkalaris yapısı ve azalmış konjesyon ($\rightarrow$) izlenmekte (HE, x400).



Resim 4.4.C. Diyabet + Adropin grubu kalp dokusu hücreleri histolojik görünümü

DA grubuna ait kalp dokusunda bazı alanlarda (*) histolojik yapının, Diyabet grubuna göre daha düzenli olduğu dikkati çekmekte (HE, x400).

4.3.2. Aort tunika media kalınlığı



Şekil 4.15. Aort Tunika Media Kalınlığı.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

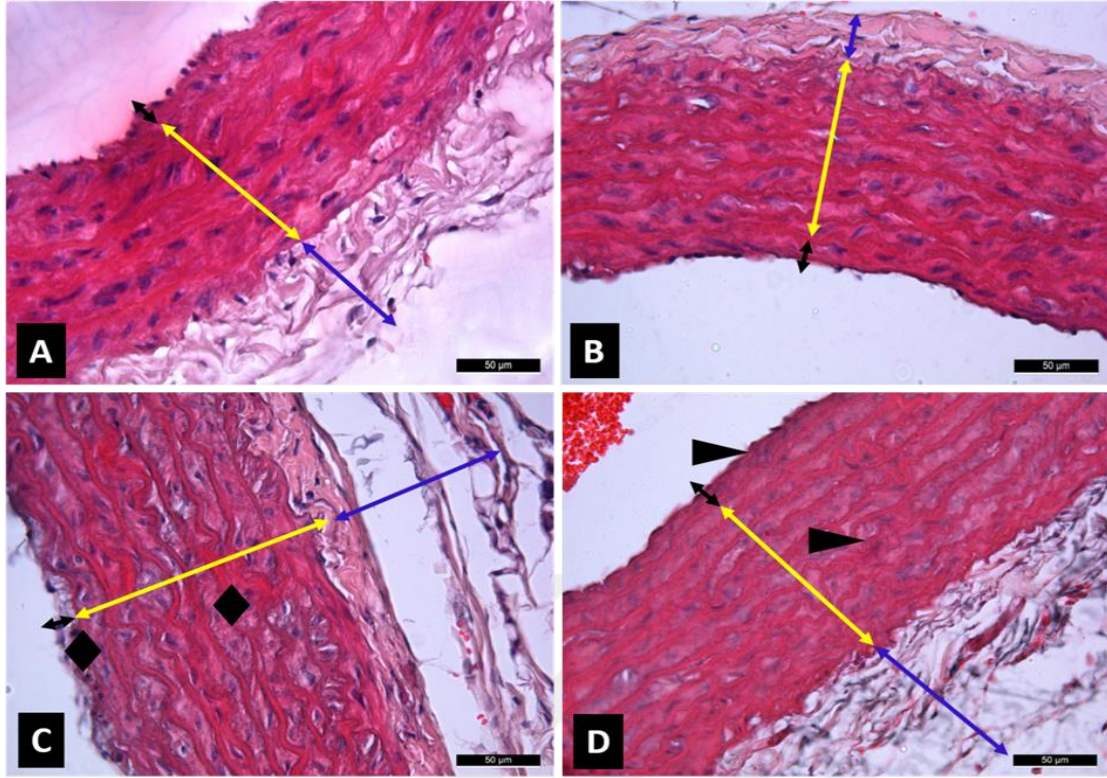
K :Kontrol KA:Kontrol+ Adropin D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

K ve KA grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, K/DA, KA/D, KA/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	100 $\pm$ 13	89,4 $\pm$ 8	123,8 $\pm$ 28	117 $\pm$ 25

Gruplar arası Tunika media kalınlığı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde: aort dokularına ait T. media kalınlığının, D ve DA adropin gruplarında, K ve KA gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttığı tespit edildi ($p < 0,05$). DA grubundaki T.Media kalınlığı, D grubuna göre bir miktar azalmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.



Resim 4.5. Deney gruplarına ait aort tabakalarının histolojik yapıları

A: Kontrol grubu, B: Kontrol+Adropin grubu, C: Diyabet grubu, D: Diyabet+Adropin grubu
Deney gruplarına ait aortun histolojik yapısı izlenmekte T. intima (siyah ok), T. media (sarı ok), T. adventisya (mavi ok). Diyabet grubunda T. intimada ve T. mediada düzensizlikler (◆), Adropin uygulanan diyabet grubunda tunika intima ve media tabakalarında, Diyabet grubuna göre yer yer daha düzenli yapı (►) dikkati çekti. (HE, A-D, X400).

Kontrol grubuna ait aort dokusunun Hematoksilen- Eosin (HE) ile boyanmış enine kesitlerinde, içten dışa doğru tunika intima, tunika media ve tunika adventisya tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu izlendi. Tek katlı yassı epitel özelliindeki endotel ve subendotel tabakalarından oluşan t. intima normal yapıdaydı. T. mediada yer alan konsantrik elastik lameller ve aralarındaki düz kas hücreleri normal görünüme sahipti (Resim 4.5.A).

KA grubuna ait aort dokusunun enine kesitlerinde, damar duvarını oluşturan üç tabaka da kontrol grubuna benzer şekilde normal histolojik görünümdeydi (Resim 4.5.B).

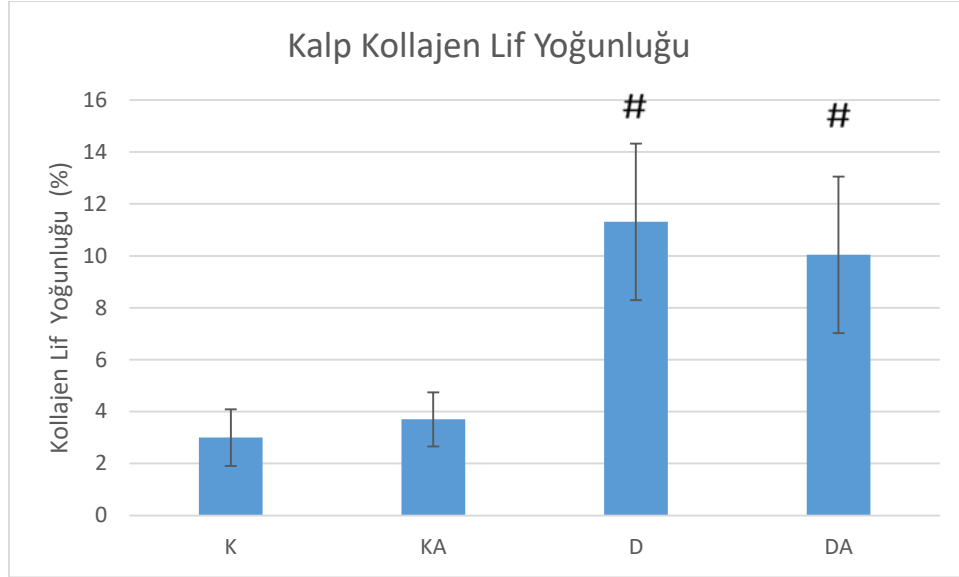
Diyabet grubuna ait aort dokusunun HE ile boyanmış enine kesitlerinde ise, t. intimada ve t. mediada düzensizlikler izlendi. Elastik lamellerin düzenleniminde ve düz kas hücre yapısında bozulmalar dikkat çeken bulgular arasındaydı (Resim 4.5.C).

DA grubuna ait aort dokusunun HE ile boyanmış kesitlerinde, tunika intima ve media tabakalarının diyabet grubuna göre yer yer daha düzenli olduğu dikkati çekti(Resim 4.5.D). Gruplar arası tunika adventisya tabakasında herhangi bir histolojik farklılık izlenmedi.



4.4. Masson' un Trikrom Boyası Işık Mikroskobu Bulguları

4.4.1. Kalp kollajen lif yoğunluğu



Şekil 4.16. Kalp kollajen lif yoğunluğu

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

K : Kontrol KA:Kontrol+ Adropin D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

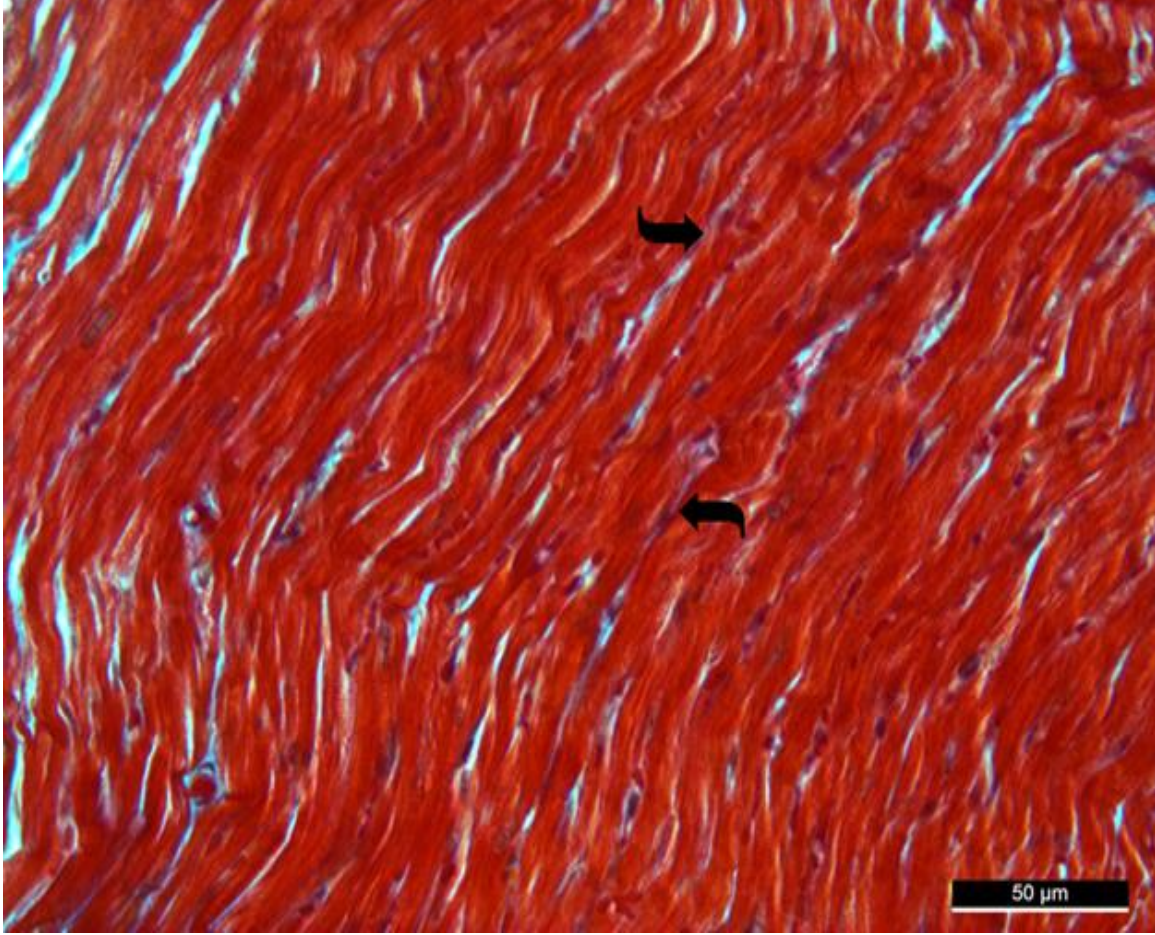
K ve KA grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, K/DA, KA/D, KA/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	3 $\pm$ 1,09	3,7 $\pm$ 2	11,31 $\pm$ 4,2	10,04 $\pm$ 3,7

Elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, kollajen lif yoğunluk yüzdesi D ve DA gruplarında diyabet olmayan (K ve KA) gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$). D grubu DA grubuyla karşılaştırıldığında kalp kollajen lif yoğunluğu yüzdesi artış gösterirken bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. Yine K ve KA grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlılık izlenmedi.

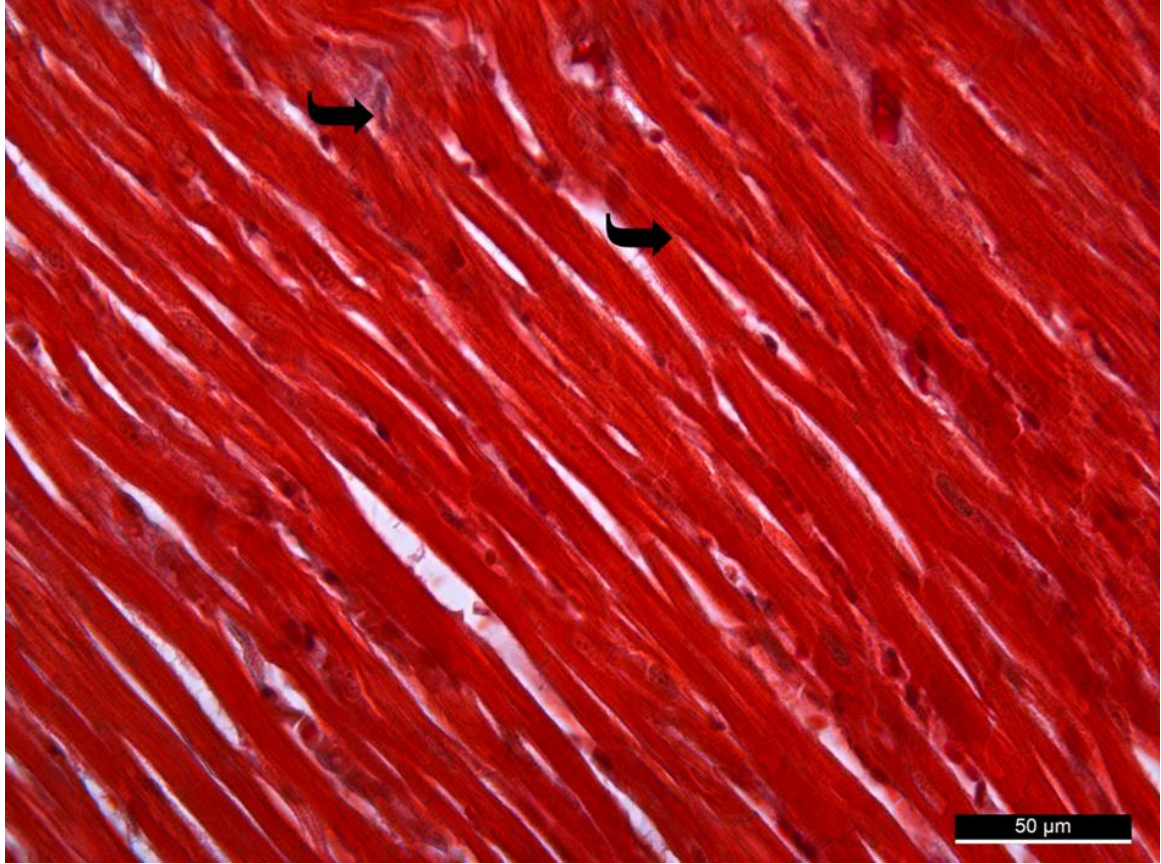
Kontrol grubuna ait kalp doku kesitlerinde boyama sonucunda kollajen lif yoğunluğu normal dağılımda izlenirken, fibrotik değişimler gözlenmedi(Resim 4.6).



Resim 4.6. Kontrol grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı.

Kalp dokusunda normal yoğunlukta kollajen lif dağılımı (↔) izlendi. (Masson'un Trikrom boyası, x400).

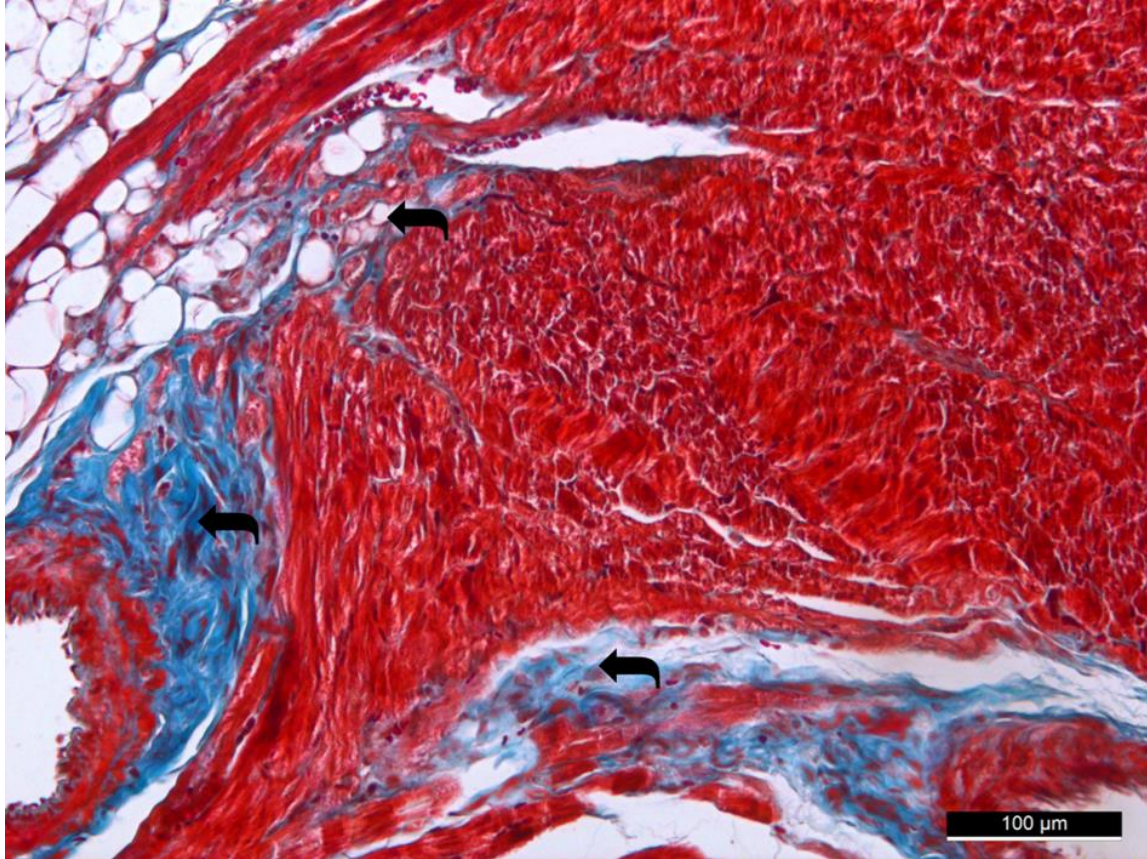
KA grubuna ait kalp doku kesitlerinde boyama sonucunda kollajen lif yoğunluğu normal dağılımda izlenirken, fibrotik değişimler gözlenmedi(Resim 4.7).



Resim 4.7. Kontrol+ Adropin grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı.

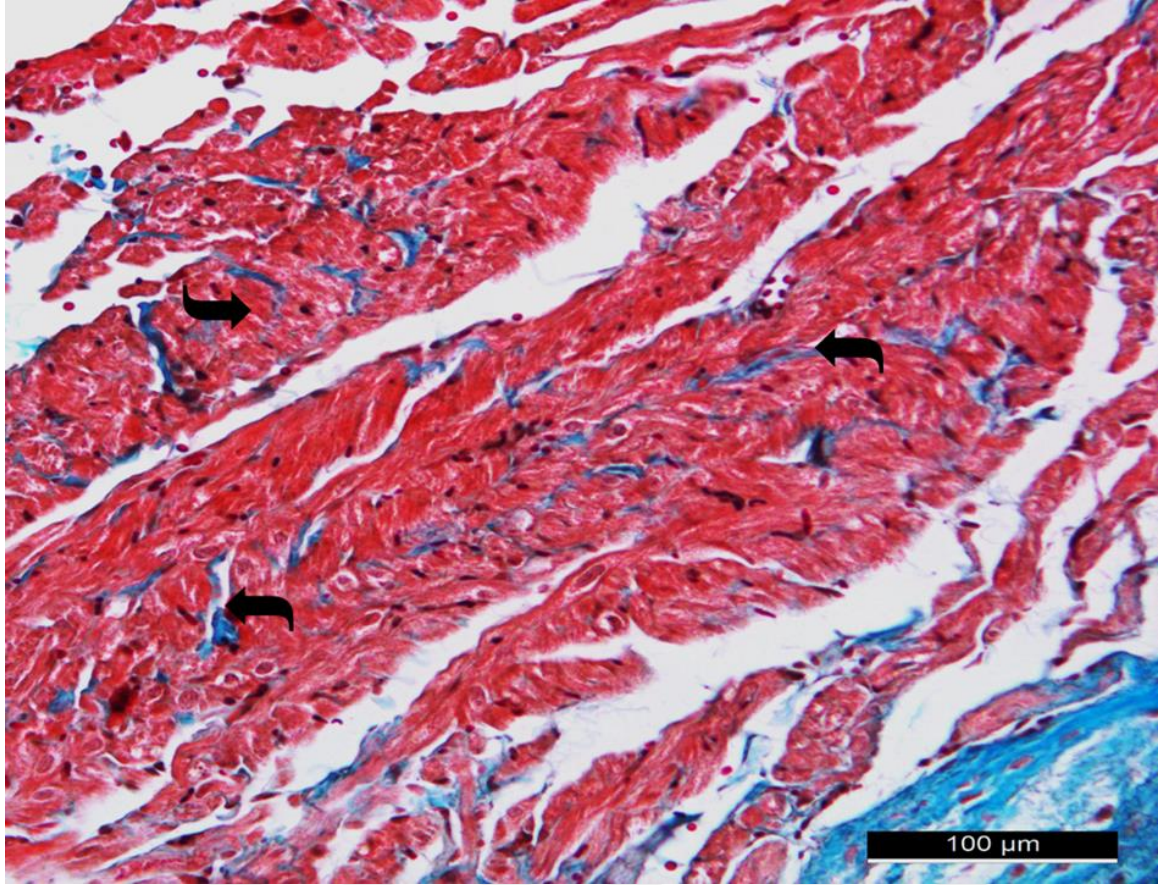
Kalp dokusunda normal yoğunlukta kollajen lif dağılımı (↪) görüldü (Masson'un Trikróm boyası, x400).

Diyabet grubuna ait Masson'un Trikrom boyası ile boyanan kalp kesitlerinde kollajen lif yoğunluğu Kontrol ve kontrol+Adropin gruplarına göre belirgin artış gösterdi (Resim 4.8. A,B,C,D).



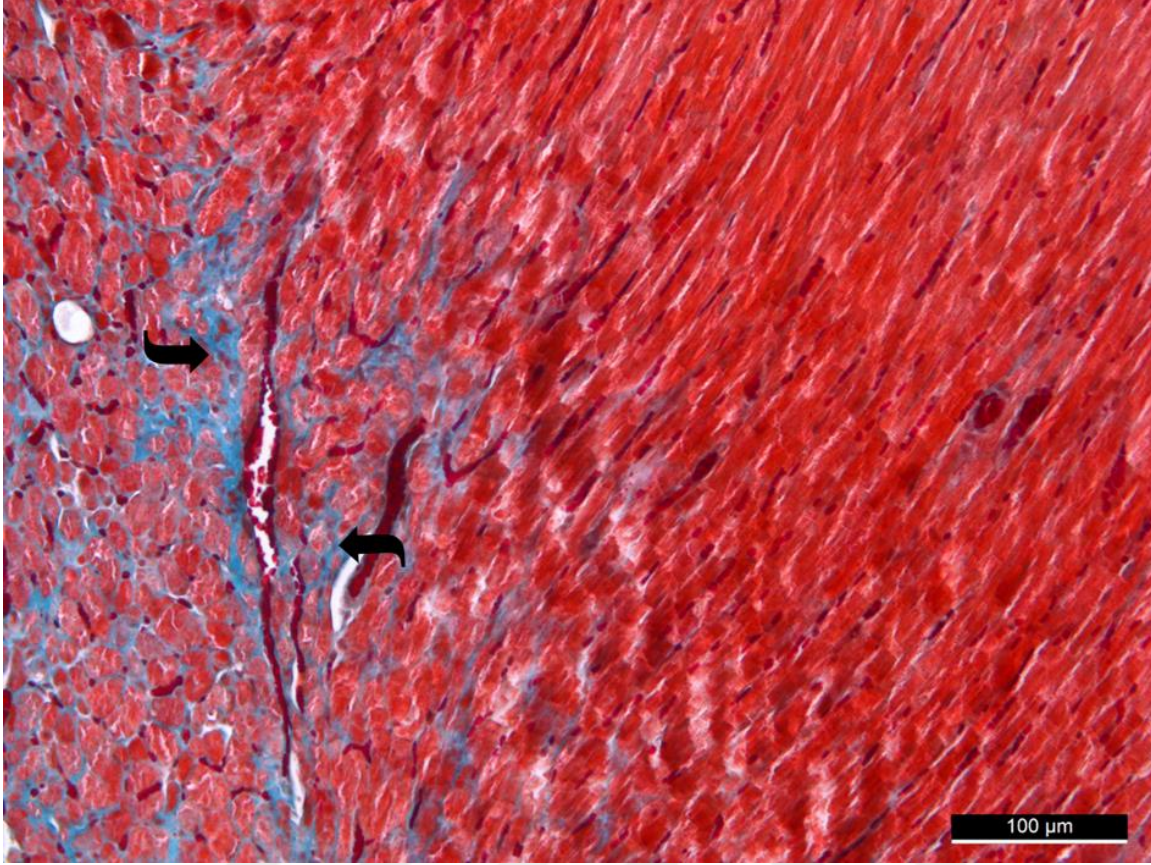
Resim 4.8.A. Diyabet grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı.

Kalp dokusu kollajen lif dağılımında artış dikkati çekti (Masson'un Trikrom boyası, x200).



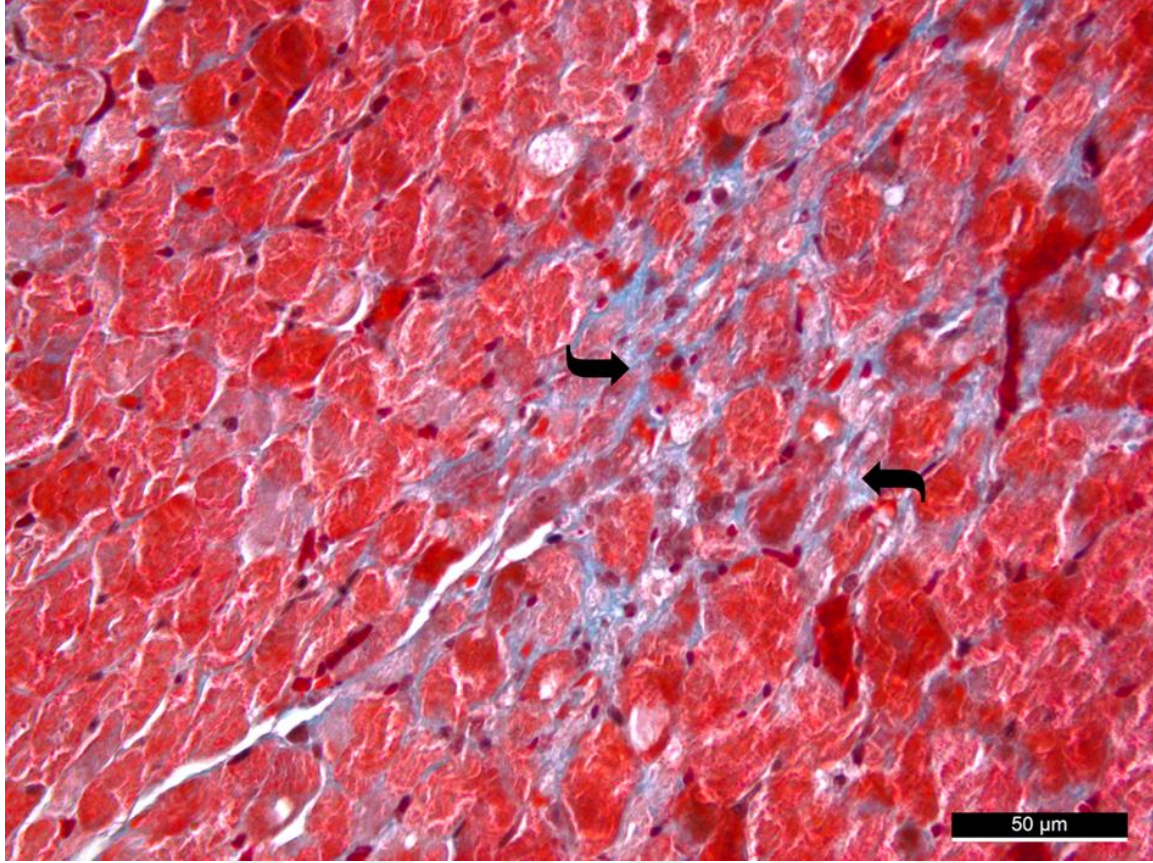
Resim 4.8.B. Diyabet grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı

Diyabet grubuna ait kalp dokusunda, interstisyel alanda kontrol grubuna göre kollajen lif dağılımında artış dikkati çekmekte (Masson'un Trikrom boyası, x200).



Resim 4.8.C. Diyabet grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı

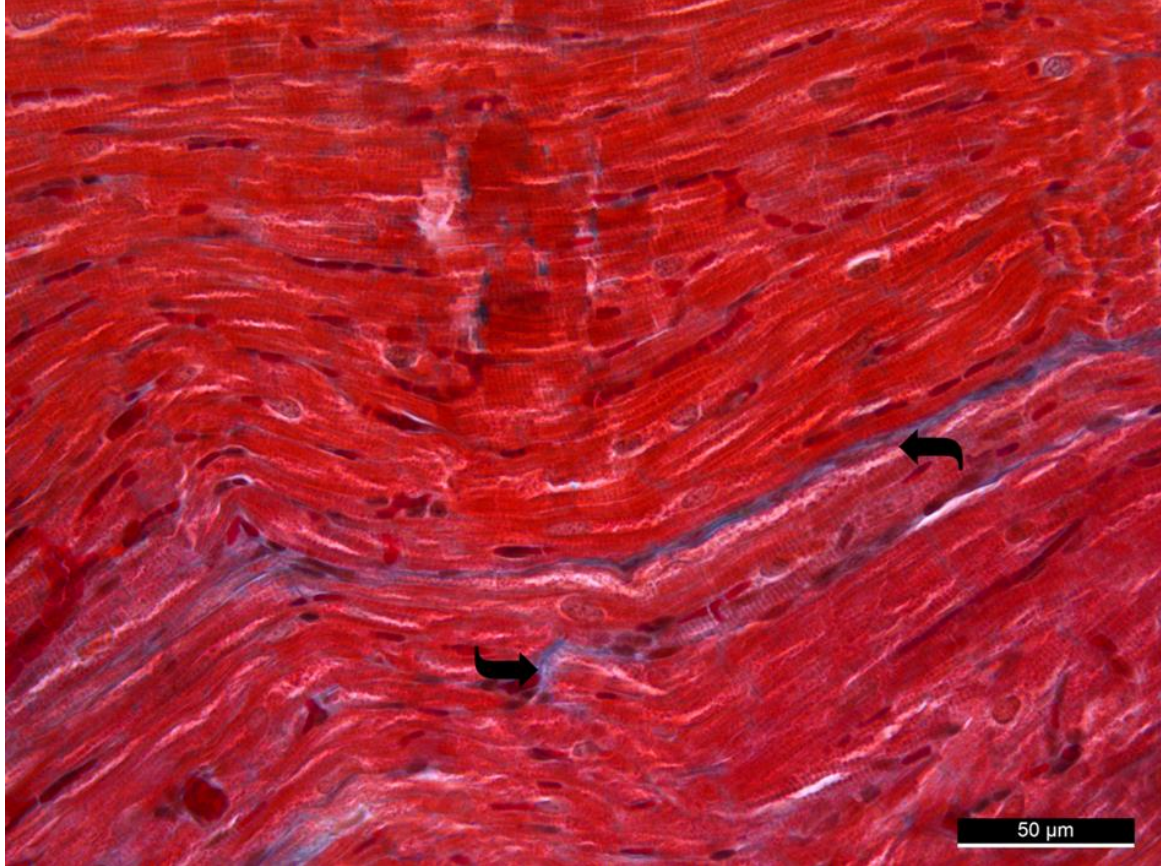
Diyabet grubuna ait kalp dokusundaki, artmış kollajen lif dağılımı ve fibrotik değişimler (↗) dikkati çekmekte (Masson'un Trikrom boyası, x200).



Resim 4.8.D. Diyabet grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı

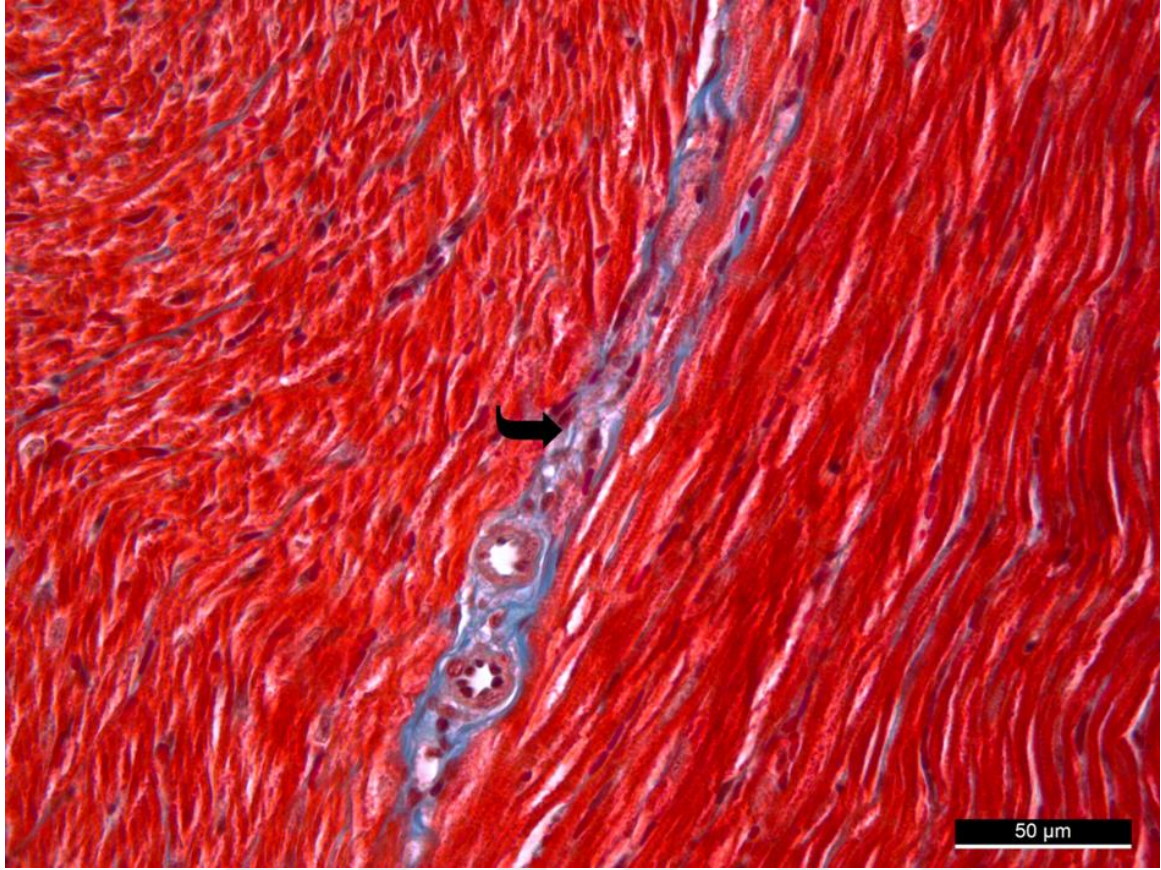
Diyabet grubuna ait kalp dokusunda yer yer fibrotik değişimler dikkati (↪) çekmekte (Masson'un Trikrom boyası, x400).

Adropin uygulanan diyabet grubunda (DA) ise kalp dokusuna ait kesitlerde, Diyabet grubuna göre azalmış kollajen lif yoğunluğu izlendi. (Resim 4.9.A ve B).



Resim 4.9.A. Diyabet+Adropin grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı.

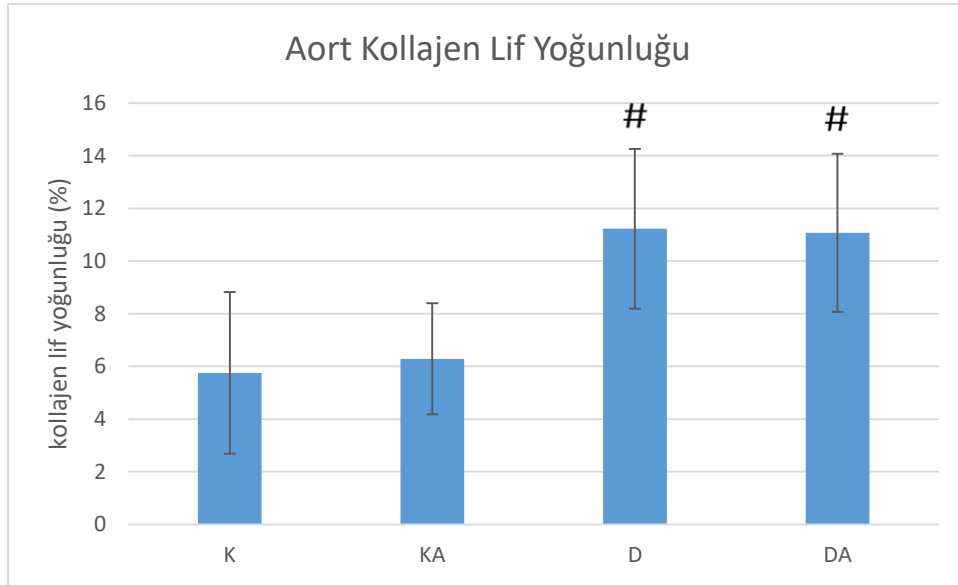
DA grubuna ait kalp dokusunda, D grubuna göre azalmış kollajen lif yoğunluğu (↗) dikkati çekmekte (Masson'un Trikróm boyası, x400) .



Resim 4.9.B. Diyabet+Adropin grubuna ait kalp dokusunda kollajen lif dağılımı.

DA grubuna ait kalp dokusunda, Diyabet grubuna göre kollajen liflerin dağılımında azalma (↪) dikkati çekmekte (Masson'un Trikrom boyası, x400).

4.4.2. Aort kollajen lif yoğunluğu



Şekil 4.17. Aort kollajen lif yoğunluğu

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir

K :Kontrol KA:Kontrol+ Adropin D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

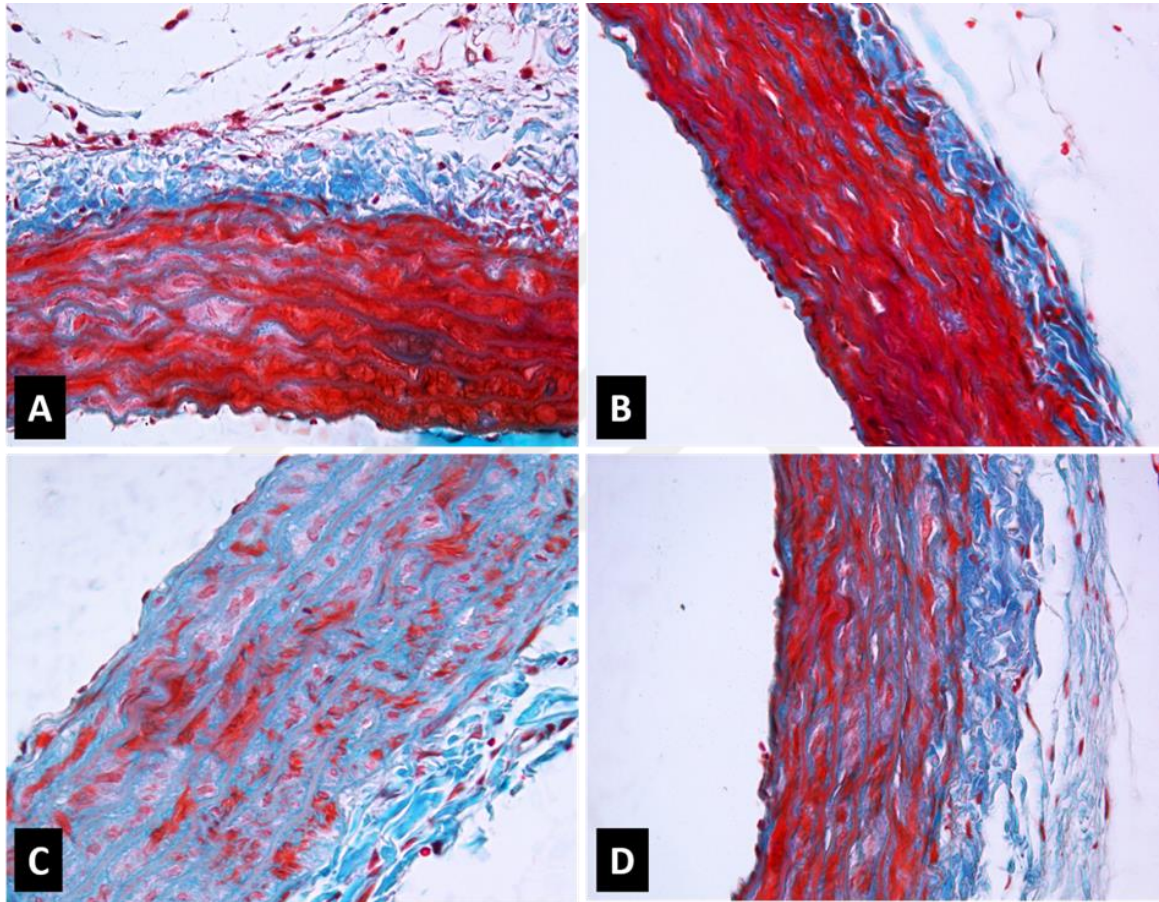
K ve KA grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, K/DA. KA/D, KA/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	5,7 $\pm$ 3	6,2 $\pm$ 2	11,2 $\pm$ 3,9	11 $\pm$ 3,6

Aort kollajen lif yoğunluğunu yüzdesinin, D ve DA gruplarında K ve KA gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olarak artış gösterdiği tespit edildi ($p < 0,05$), D ve DA grupları arasında anlamlı bir fark izlenmedi.

K ve KA gruplarına ait aort doku kesitlerinde boyama sonucunda kollajen lif yoğunluğu normal dağılımda izlenirken, fibrotik değişimler gözlenmedi (Resim 4.10.A ve Resim 4.10.B). Diyabet grubuna ait Masson'un Trikrom boyası ile boyanan aort kesitlerinde kollajen lif yoğunluğu K ve KA gruplarına göre belirgin artış gösterdi (Resim 4.10.C). Adropin uygulanan diyabet grubunda (DA) ise aort dokularına ait kesitlerde, Diyabet grubuna göre azalmış kollajen lif yoğunluğu izlendi (Resim 4.10.D).

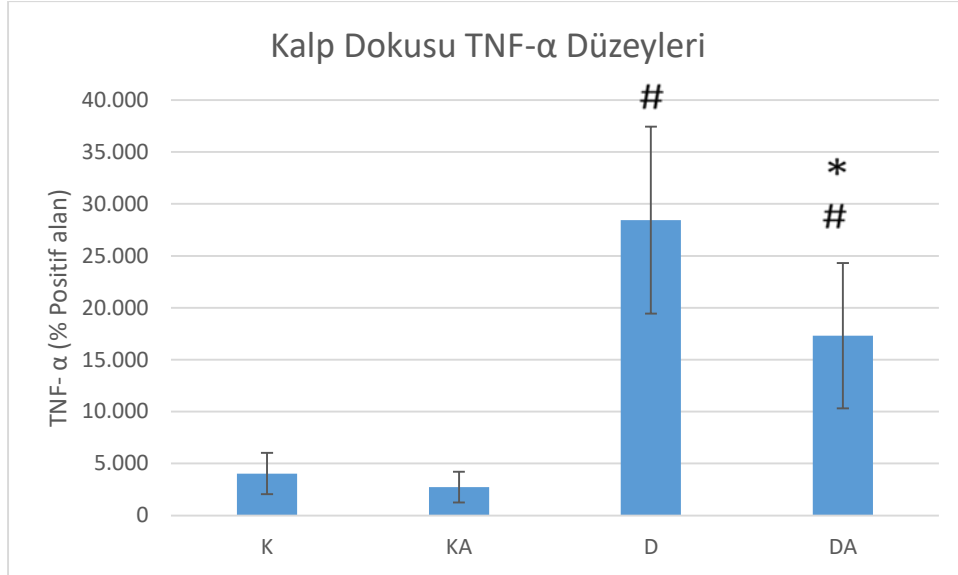


Resim 4.10. Deney gruplarına ait aort dokularında kollajen lif dağılımı.

A: Kontrol grubu, B: Kontrol+Adropin grubu , C: Diyabet grubu ,D: Diyabet+Adropin grubu. Diyabet grubunda K ve KA gruplarına göre artan kollajen lif yoğunluğu izlenmekte (Masson'un Trikrom boyası, A-D x400)

4.5. Doku İmmünohistokimyasal Bulguları

4.5.1. Kalp dokusu TNF- α düzeyleri



Şekil 4.18. Kalp dokusu TNF- α düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

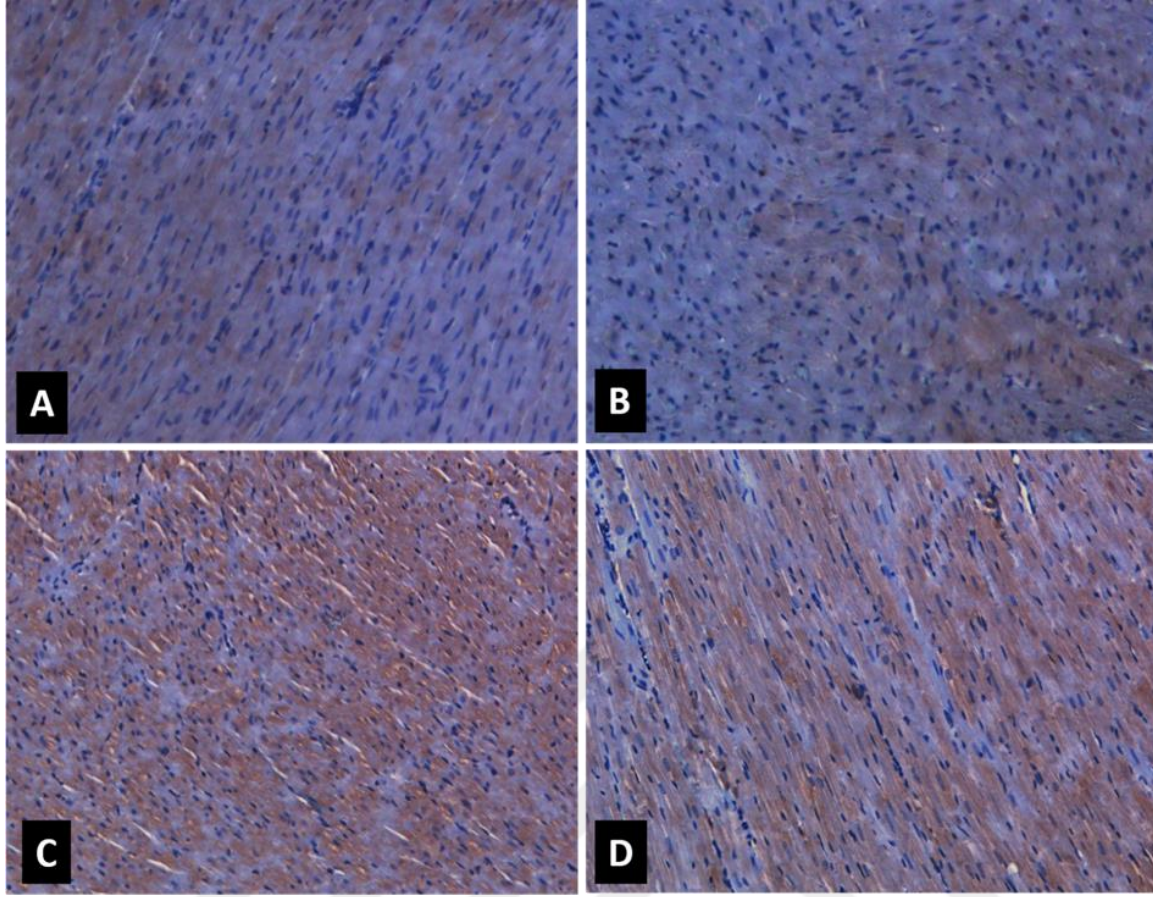
K : Kontrol KA:Kontrol+ Adropin D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

K , KA grupları,* D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

p<0,05: K/D, K/DA, KA/D, KA/DA, D/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	3.8 $\pm$ 2	2.4 $\pm$ 1	28.4 $\pm$ 9.8	17 $\pm$ 6

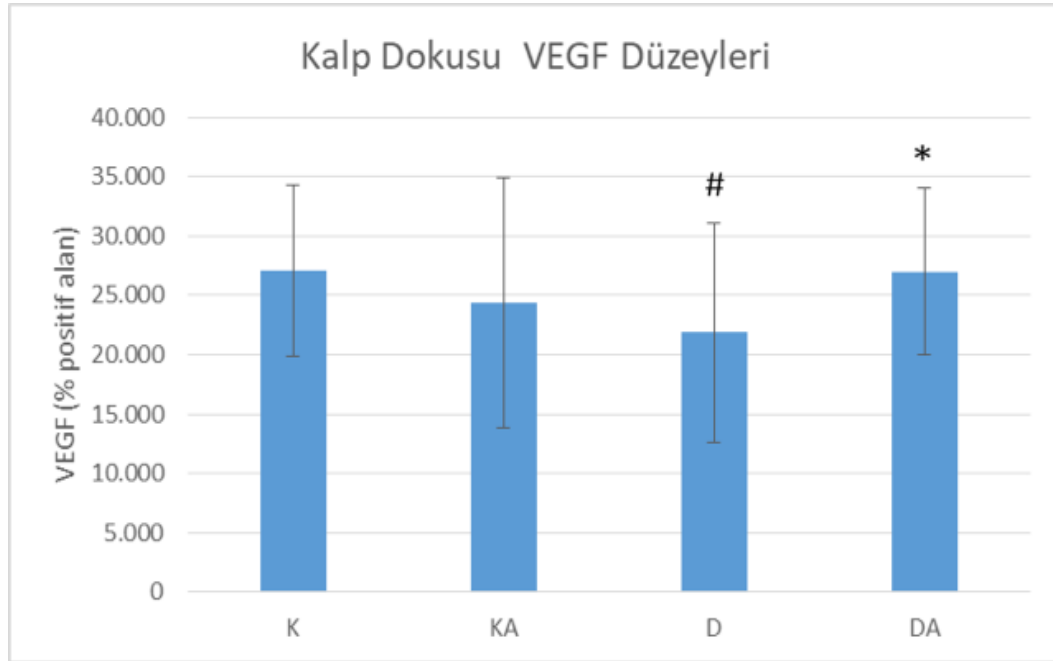
Kalp TNF- α düzeyleri diyabetik gruplarda(D ve DA) , kontrol gruplarına (K ve KA) göre anlamlı olarak yüksek bulundu(p<0,05). D ile DA grubu karşılaştırıldığında ise; DA grubunda, D grubuna göre Kalp TNF- α immünreaktivite yüzdesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (p<0,05). Kalp dokusu TNF- α ve TOS sonuçları arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edildi p= 0,046.



Resim 4.11. Kalp dokusunda TNF- α immünreaktivitesi görüntüleri

A: Kontrol grubu, B: Kontrol+Adropin grubu, C: Diyabet grubu, D: Diyabet+Adropin grubu
D ve DA gruplarında K ve KA gruplarına göre artmış TNF- α immünreaktivitesi g r lmekte
(DAB & Hematoksilen A-D X200).

4.5.2. Kalp dokusu VEGF düzeyleri



Şekil 4.19. Kalp dokusu VEGF düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

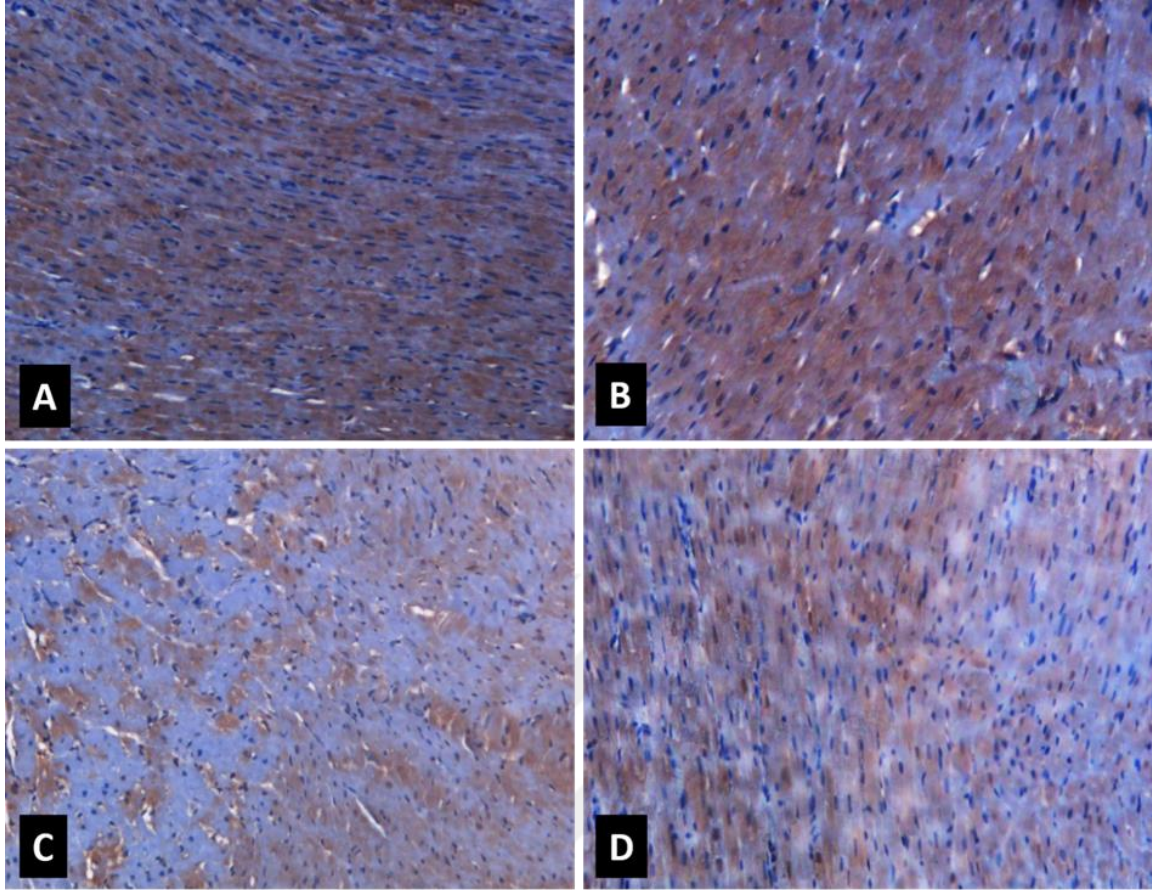
K: Kontrol KA: Kontrol +Adropin D: Diyabet DA: Diyabet +Adropin

K grubu , * D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, D/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	27 $\pm$ 7	24.4 $\pm$ 10	21.8 $\pm$ 9	26.9 $\pm$ 7

Elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında Kalp VEGF düzeyleri D grubunda K ve DA grubuna göre olarak anlamlı şekile azalmıştı ($p < 0,05$). KA ve D grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

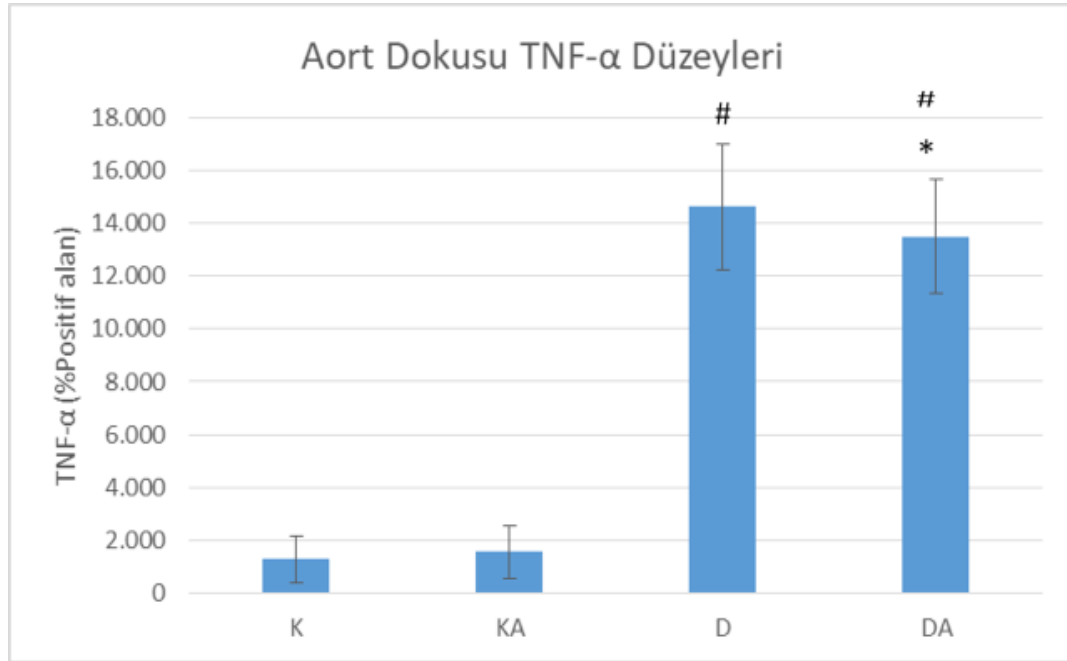


Resim 4.12. Kalp dokusu VEGF immünreaktivitesi görüntüleri

A: Kontrol grubu, B: Adropin grubu, C: Diyabet grubu, D: Diyabet+Adropin grubu

D ve DA gruplarında K ve KA gruplarına göre azalmış VEGF immünreaktivitesi g r lmekte (DAB & Hematoksilen A-D X200).

4.5.3. Aort dokusu TNF- α düzeyleri



Şekil 4.20. Aort dokusu TNF- α düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

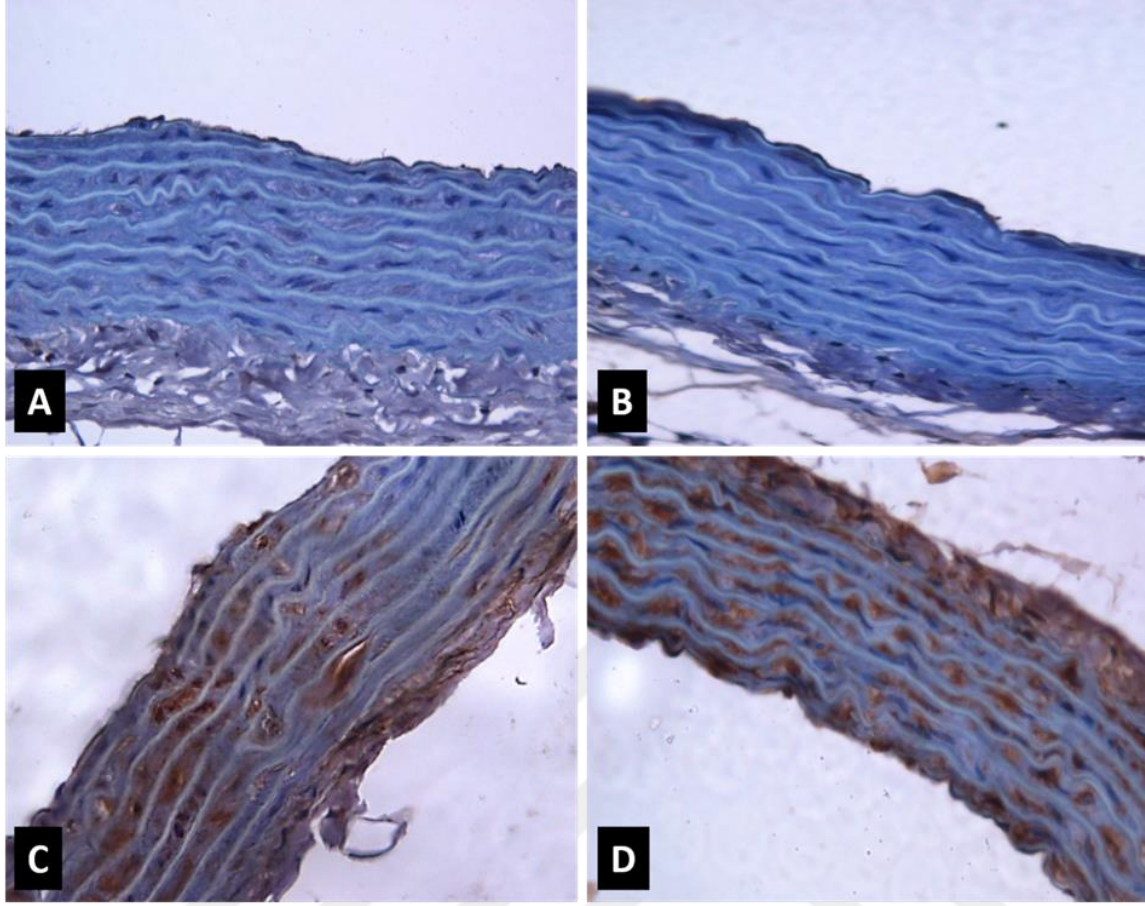
K : Kontrol KA:Kontrol +Adropin D: Diyabet DA: Diyabet +Adropin

K, KA grupları ,* D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

p<0,05: K/D, K/DA, KA/D, KA/DA, DA/D

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	1.26 $\pm$ 0.8	1.55 $\pm$ 1	14.6 $\pm$ 2	12.4 $\pm$ 2

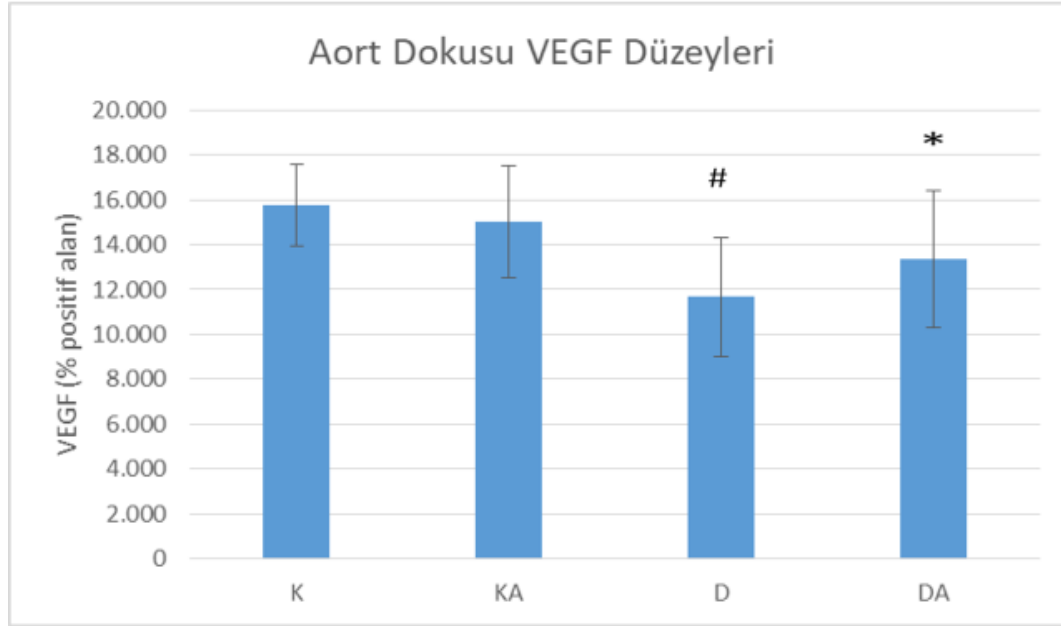
Gruplar arasındaki, aort dokusuna ait TNF- α pozitif alan yüzdesi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, aort TNF- α pozitif alan yüzdesi D ve DA gruplarında K ve KA gruplarına kıyaslandığında anlamlı ölçüde artma gözlemlendi ($p<0,05$). DA grubunda alan yüzdesi D grubuna göre anlamlı bir olarak artış gösterdiği tespit edildi ($p<0,05$). Aort dokusu TNF- α ve TOS sonuçları arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edildi $p= 0,10$.



Resim 4. 13. Aort TNF- α immünreaktivitesi görüntüleri

A: Kontrol grubu, B: Adropin grubu, C: Diyabet grubu, D: Diyabet+Adropin grubu D ve DA gruplarında K ve KA gruplarına göre artmış TNF- α immünreaktivitesi g r lmekte (DAB & Hematoksilen A-D X400).

4.5.4. Aort dokusu VEGF düzeyleri



Şekil 4.21. Aort dokusu VEGF düzeyleri

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

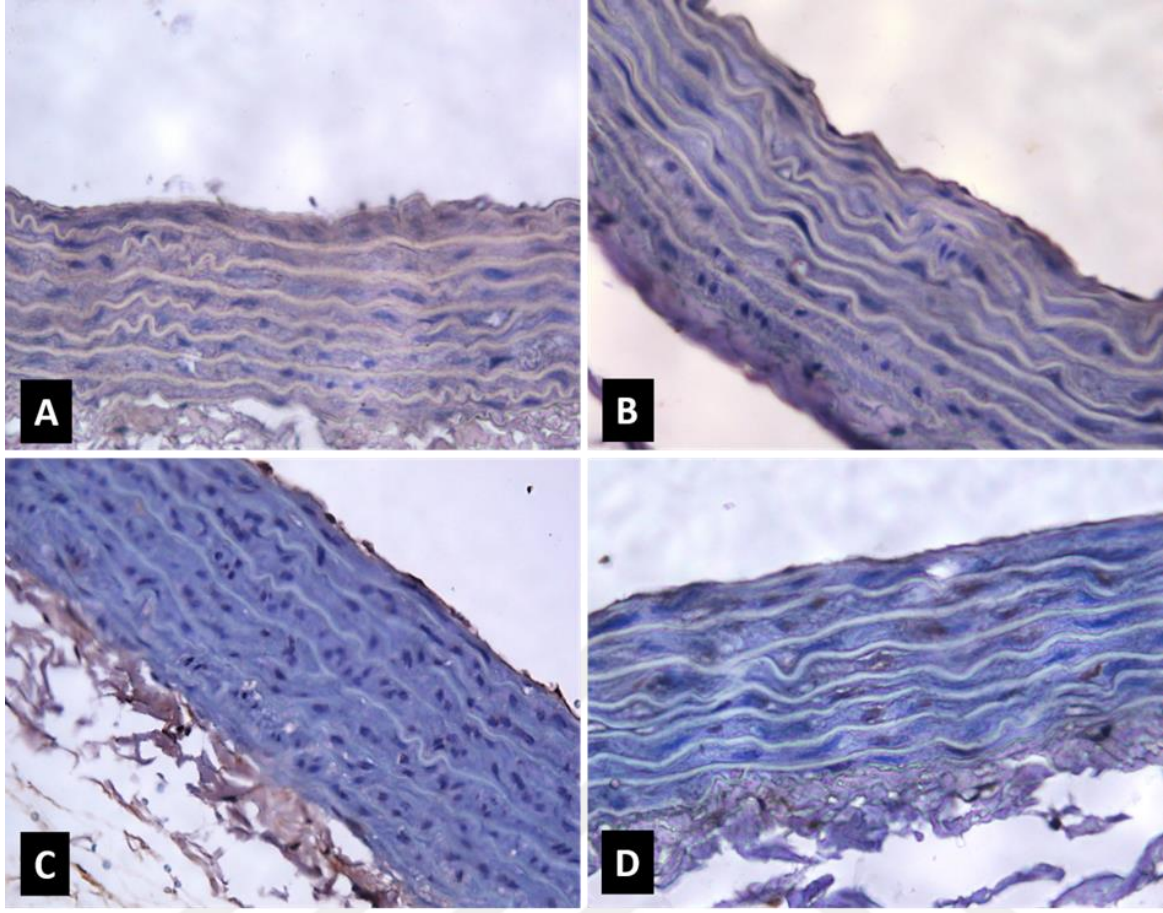
K : Kontrol KA:Kontrol +Adropin D: Diyabet DA: Diyabet+ Adropin

K, KA grupları ,* D grubu ile karşılaştırmadaki anlamlılık

$p < 0,05$: K/D, KA/D, D/DA

	K	KA	D	DA
ortalama $\pm$ standart sapma	15.7 $\pm$ 1.8	15 $\pm$ 2	11.6 $\pm$ 2.6	13.2 $\pm$ 3

Aort dokularında VEGF pozitif alan yüzdesi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, Diyabet grubu, K,KA ve DA gruplarından anlamlı olarak düşük bulundu($p < 0,05$).



Resim 4.14. Aort VEGF immünreaktivitesi görüntüleri

A: Kontrol grubu, B: Adropin grubu, C: Diyabet grubu, D: Diyabet+Adropin grubu

D ve DA gruplarında K ve KA gruplarına göre azalmış VEGF immünreaktivitesi görülmekte (DAB & Hematoksilen A-D X400).

5. TARTIŞMA

DM, dünyada yetişkin nüfusun %8,3'ünde (yaklaşık 383 milyon kişi)var olan, 2035'te ise yaklaşık 592 milyon kişiyi etkileyeceği tahmin edilen metabolik bir bozukluktur. Tüm ölüm nedenlerinin ise yaklaşık %5,2'sini oluşturur [3].

DM'nin patolojik özelliği, hem mikrovasküler hem de makrovasküler komplikasyonlara yol açmasıdır. Kronik hiperglisemi, esas olarak gözleri, sinirleri, böbrekleri ve kalbi etkileyen çeşitli organ sistemlerinin uzun süreli hasarı ile ilişkilidir [2] .

Oksidatif stres, ROS üretimi ile antioksidan savunma arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. Oksidatif stres, diyabetik komplikasyonların gelişme sürecinde önemli bir rol oynar. Yapılan çalışmalar deneysel diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda, serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığını göstermiştir. Oksidatif stresin diyabet etiolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu kanıtlanmıştır [142, 143].

Diyabet ve diyabete bağlı oluşan komplikasyonların ROS ile olan bağlantısını açıklamaya yönelik çalışmalarda; enzimatik olmayan glikozilasyon (AGE) ve enerji metabolizması değişiklikleri sonucunda ortaya çıkan metabolik stres, sorbitol yol aktivasyonu, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucunda gerçekleşen doku hasarlarının serbest radikal oluşumunu artırdığı ileri sürülmektedir [4].

DM'lu hastalar yüksek kardiyovasküler hastalık riski taşımaktadırlar. Koroner arter hastalığı veya hipertansiyonu olmayan diyabetli hastalarda miyokardın yapısal ve fonksiyonel anormallikleri olarak ifade edilmektedir. İleri sürülen hipotezler, diyabetik kardiyomiyopati gelişimde; otonomik fonksiyon bozukluğu, metabolik dengesizlik, iyon hemaostazındaki anormallikler, yapısal proteinlerdeki azalmalar ve dokular arası fibrozisin etkili olabileceğini göstermiştir [7].

Hiperglisemi, diyabetli hastalarda yüksek seviyelerde üretilmiş AGE'lerin varlığından sorumludur. AGE, vasküler ve miyokard hasarına yol açan bir dizi olayı ortaya çıkarır. Bu olaylar diyastolik ve sistolik disfonksiyon ile sonuçlanan artmış oksidatif stres, inflamasyon,

gelişmiş hücre dışı matris birikimini içerir. Makrofaj, lökosit infiltrasyonu ve inflamatuvar sitokinleri artırır (IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α ve TGF- β 1). Bu durum inflamatuvar sinyallerin ve apoptozun başlamasına, fibrotik yeniden şekillenme ve immün hücre infiltrasyonuna sebep olmaktadır [75].

DM'ta hiperglisemi ve dislipidemi endotel disfonksiyonu ile ilişkilidir. Okside LDL, renin-anjiyotensin sistemi ve insülin direnci ile vücutta arter duvarlarının daralmasına yol açar. Diyabette gelişen endotel hücre disfonksiyonu, hücre dışı matriks proteinlerinin glikozilasyonu ve vasküler denervasyon ile ilişkilidir. Bu komplikasyonlar nihayetinde, neovaskülarizasyon ve diyabetik yara iyileşmesinde bozulmaya yol açar. Endotelyal hücrelerde VEGF sinyalinde azalmaya neden olur, dolaşımdaki yüksek VEGF seviyeleri, vücuttaki vasküler yapıların geçirgenliğinin artmasına neden olur (retinopati, nefropati) [11].

Çalışmamızda, başlangıçta sıçanların beden ağırlık, aldıkları sıvı, çıkardıkları idrar ve kan şekeri düzeylerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir. Çalışma süresince yapılan ölçümlerde; Kontrol ve Kontrol+Adropin gruplarındaki sıçanların beden ağırlıkları gelişimlerinin (ağırlık kazanımları), aldıkları sıvı, çıkardıkları idrar ve kan şekerleri düzeylerinin normal sınırlar içinde kaldığını tespit ettik. Fakat STZ uygulanan sıçanların kilo kaybettikleri, aynı zamanda AKŞ düzeyi, aldıkları sıvı ve çıkardıkları idrar miktarının, diğer iki gruba göre (K,KA) anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. Bu da bize DM'nin başarılı bir şekilde indüklendiğini düşündürdü. Bu artış, diyabetle birlikte gözlenmesi beklenen bir sonuçtur ve literatürdeki bulgular ile uyumludur [144].

Literatürde diyabetik kardiyomiyopatide, oksidatif stres parametrelerinden biri olan TOS seviyelerinin yükseldiği ve antioksidan TAS düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir [144, 145]. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak kalp ve aort dokularında TOS düzeylerinin, Diyabet grubunda, Kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığını, TAS düzeylerinin ise anlamlı olarak azaldığını tespit ettik.

PON1, Hem arilesteraz (ARE) hem de paroksonaz (PON) aktivitelerine sahip bir ester hidrolazdır. Yüksek yoğunluklu lipoproteinlere (HDL) bağlıdır. Oksidatif hasara karşı

korunmada önemli bir rol oynadığı, ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişimi riskinin bir göstergesi olduğu varsayılmaktadır. Serum PON1 seviyelerinin metabolik sendrom, obezite, kontrolsüz diyabet ve dislipidemi gibi yüksek oksidatif stres durumlarında azaldığını gösterilmiştir [146]. Tip2 DM'li ve sağlıklı kişiler arasında yapılan bir çalışma; PON1 enziminin antioksidan aktivitesinin DM'lu hastalarda azaldığı gösterilmiştir [147].

Literatürle uyumlu olarak biz de çalışmamızda kalp ve aort dokularında antioksidan etkiye sahip olan PON düzeylerinin, Diyabet grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak azaldığını tespit ettik.

Verilerimizde kalp ve aort dokularında ARE düzeyleri ise önceki çalışmalarla uyumlu olarak diyabet grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalmış bulundu [148].

TNF- α , esasen sistemik inflamasyonda rol oynayan makrofajlar ve monositler tarafından üretilen bir sitokindir. Sitokin kaskadının başlamasına, vasküler geçirgenliğin artmasına ve lokal bir inflamatuvar yanıtın indüklenmesine neden olur. Ayrıca NF- κ B sinyalini aktive ederek proliferasyon, enflamatuvar yanıt, adezyon ve apoptotik yollarda yer alan birçok sitokin transkripsiyonuna aracılık eder. İnflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu ve salınımını artıran ve apoptozis, proliferasyon, immunoregülasyon gibi patolojik süreçlerde yer alan TNF- α diyabetik kardiyomiyopati gelişim süreçlerine katılır [3]. Literatürde STZ ile indüklenen Tip 1 diyabetli sıçan modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada, diyabetik kardiyomiyopatinin, miyokardiyal TNF- α 'da belirgin artışlarla karakterize olduğu ve bu pro-inflamatuvar değişikliklerin oksidatif stres ve sol ventrikül fonksiyonunda azalma ile pozitif korelasyon gösterdiği ifade edilmektedir [149].

Dinh ve arkadaşları, insanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmanın sonucu olarak, artan TNF- α ve IL-6 plazma seviyeleri ile, DM kaynaklı bozulmuş sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu arasında ilişki olduğunu belirtmişlerdir [150]. Nitekim çalışmamızda elde ettiğimiz veriler de literatürle uyumlu olarak kalp ve aort dokularında, TNF- α seviyelerinin diyabet grubunda, diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermiştir.

VEGF'nin kalp hasarına cevap vermede önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Deneysel hayvan modelleri ve insan çalışmalarında, diyabetik kardiyomiyopati

patogenezinde, mikrovasküler defektlerin ve iskeminin oluşumunda VEGF ekspresyonunun olası bir rolü olduğu [151], kardiyak VEGF için mRNA ekspresyonunun hem diyabetik sıçanlarda hem de diyabetik insanlarda azaldığı gösterilmiştir [152]. Yani anjiyogenezi düzenleyen normal moleküler süreçler diyabetik hastalarda bozulabilir. Çalışmamızda gerek kalp gerekse aort dokularında VEGF düzeylerinin diyabetik grupta (D), diğer gruplara göre düşük bulunması, diyabetik sıçanların kalp ve damar dokusunda VEGF seviyelerinin azalmış olduğunu ifade eden çalışmalar ile uyumlu görünmektedir

Diyabetik kardiyomyopatide, bu moleküler değişiklikler ile birlikte kardiyovasküler fonksiyonlarda azalmaya neden olan morfolojik değişiklikler de görülmeye başlar. Bu değişimler; damar duvarındaki düz kas proliferasyonunu, hyalinozis ve miyokardiyal fibroz gelişimini, interstisyel ve perivasküler kollajen birikimini ve interstisyel konjesyonu artırmaktadır [153, 4]. Çalışmamızda DCM ile uyumlu olarak Diyabet grubuna ait kalp kası hücrelerde hidropik değişiklikler, miyofibril ve diskus interkalaris yapısında bozulma, interstisyel alanda konjesyon, artmış kollajen lif dağılımı ve fibrotik değişimler gözlemlendi. Diyabet grubuna ait aort dokusun da ise, t. intimada ve t. mediada düzensizlikler izlendi. Elastik lamellerin düzenleniminde ve düz kas hücre yapısında bozulmalar dikkat çeken bulgular arasındaydı ve artmış kollajen lif dağılımı gözlemlendi.

Adropinin, karaciğer, beyin, pankreas, kalp, böbrek ve serebellum gibi birçok dokudan üretildiği gösterilmiştir. Lipit metabolizmasının ve glikoz homeostazının düzenlenmesinde kilo kaybından bağımsız olarak etkilidir. Adropin eksikliğinin, artmış yağ dokusu ve insülin direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [14, 123]. Literatürde diyabetik hastalarda, düşük plazma adropin seviyeleri bildirilmiştir [154, 155]. Çelik ve ark. yaptığı çalışmada ise GDM'lu hastalar ile sağlıklı kişilerin serum adropin düzeyleri karşılaştırılmış ve GDM hasta grubundaki serum adropin düzeyi sağlıklı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük düzeyde bulunmuştur [132]. Buna karşılık, deneysel çalışmalar STZ'nin neden olduğu diyabetik sıçan modelinde dokulardaki adropin ekspresyonunun arttığını göstermiştir [131]. Yosae ve ark. araştırmalarında, Metabolik sendromlu kişilerde, sağlıklı kişilere göre adropin seviyelerini düşük bulmuşlar ve adropin için, metabolik sendrom gelişimine karşı potansiyel olarak koruyucu bir ajan tanımlı yapmışlardır [156]. Gao ve ark.da

diyet kaynaklı obez farelerde, Adropin tedavisi ile glikoz toleransının arttığını, insülin direnci ve yağ asidi oksidasyonunun da azaldığını tespit etmişlerdir [125].

Çalışmamızda diyabetik sıçanlara adropin i.p. olarak 10 gün boyunca verildi. Yaptığımız ölçümler, diyabet süresince meydana gelen kilo kaybının, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte bir miktar önlendiğini göstermektedir. Yine Adropin uygulamasının diyabette yükselen AKŞ düzeylerini düşürdüğünü gözlemledik. DA grubunda, diyabet grubuna göre AKŞ değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı. Bulgularımız literatürü destekler niteliktedir. Yüksek yağlı diyet ve düşük doz (35 mg/kg) STZ enjeksiyonu ile T2DM modeli oluşturulmuş sıçanlarda 10 gün boyunca 2.1 µg/kg/day Adropin uygulamasının, serum glikoz ve HbA1c değerlerini düşürdüğü, insülin seviyelerini ise yükselttiği gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada diyabetle birlikte artan TNF-α ve indüklenbilir NOS mRNA ekspresyonunun da Adropin ile azaldığı ifade edilmektedir [133].

Aynı zamanda çalışmamızda, diyabetik sıçanlarda artan kan şekerine bağlı olarak görülen semptomlardan olan poliüri ve polidipsinin, Adropin uygulaması ile azaldıklarını tespit ettik. Bu veriler bize Adropin'in glikoz metabolizması üzerinde düzenleyici etkilerinin olabileceğini göstermektedir. Nitekim Adropin geni susturulmuş fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, insülin direnci oluşumunun kolaylaştığı ve farelerde lipit metabolizmasını kötüleştirdiği görülmüştür [155, 123]. Ancak adropin aşırı ekspresyonu veya adropin uygulamasının glikoz intoleransını ve lipit profillerini iyileştirdiği ifade edilmektedir [14, 133, 125].

Adropinin plazma seviyesi ile kalp yetmezliğinin derecesi arasında bir ilişki olduğu görülmüş ve düşük adropin düzeylerinin, kalp hastalığında bir risk faktörü olarak düşünülebileceği ortaya koyulmuştur [134]. Akut miyokard infarktüsü ve kardiyak sendrom X hastalığında serum adropin düzeylerinde azalma görülmektedir [136, 138].

Adropinin Apoe - / - (Apolipoprotein E knockout) farelere 4 hafta boyunca, ozmotik mini pompa ile üç farklı dozda (0, 5, 10 µg/kg/h) Adropin verilmesinin, antienflamatuvar yanıtları baskılayarak, aortta aterosklerotik lezyonların gelişimini zayıflattığı, plak içi monosit / makrofaj infiltrasyonunu ve düz kas hücresi içeriğini azalttığı tespit edilmiştir. Sonuçlar,

aterosklerozun önlenmesinde terapötik bir pencereyi genişletmek için adropinin potansiyel kullanımına ilişkin bilgi sağlamıştır [157].

Adropinin potansiyel vasküler etkilerini belirlemek amacıyla in vitro hücre kültürü ve in vivo murin yaralanma modelleri oluşturulmuştur. Lovren ve ark. yaptıkları bu çalışmada; adropinin VEGFR-2 ekspresyonunu ve endotel geçirgenliğini azaltarak endotelin bariyer fonksiyonunu, e-NOS ekspresyonunu artırarak NO salınımını artırdığı ve TNF- α ile indüklenen apoptozisi baskıladığı gösterilmiştir [17]. Çalışmamızda, Adropin uygulamasının, diyabetle yükselen TNF- α düzeylerini hem kalp hem de aort dokusunda düşürdüğünü, ancak anlamlı azalmanın kalp dokuda görüldüğünü tespit ettik. Yine sonuçlarımız, kalp ve aort dokusunda diyabetle oluşan düşük VEGF seviyelerinin, adropin verilmesi ile anlamlı olarak yükseldiğini gösterdi. Gerek TNF- α , gerekse VEGF sonuçlarımız bu konuda literatürde yapılan çalışmaları destekler niteliktedir. Nitekim Wu ve ark. in vitro iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan kardiyomyoblast hücreleri ile yaptıkları çalışmada, adropin verilmesinin TNF- α ve oksidan seviyelerini azalttığını, antioksidan düzeylerinin ise arttığını tespit etmişlerdir [158].

Bir başka çalışmada da alkole bağlı olmayan hepatosteatozisli faralarda, adropin tedavisinin karaciğer dokusunda TNF- α mRNA, IL-6, IL-1 ve hepatik trigliserit seviyelerini azalttığı ifade edilmektedir. Aynı çalışmada Adropin'in oksidan seviyelerini azaltırken, antioksidan seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir [159] .

Çalışmamızda 10 gün boyunca yapılan Adropin uygulamasının oksidan ve antioksidan düzeyleri üzerindeki etkisi incelendiğinde; gerek kalp gerekse aort dokusunda diyabetin neden olduğu yükselmiş TOS düzeylerinde azalma meydana getirdiği görüldü. Kalpte bu azalma anlamlı düzeyde iken aort dokuda anlamlı değildi. Yine aynı dokularda Adropin, diyabetle azalan TAS düzeylerinde anlamlı bir yükselme meydana getirdi. Bu bulgulara ilaveten diyabetle azaltan antioksidan aktiviteye sahip olan PON düzeylerinde hem kalp hem de aort dokularında adropin uygulaması ile anlamlı bir yükselme tespit edildi. ARE düzeyleri de kalp ve aort dokularında anlamlı bir şekilde artmış izlendi.

Çalışmamızda; diyabetik hayvanlara yapılan Adropin uygulamasının kalp ve aort dokusunda oksidan stres ve TNF- α düzeylerini azaltması, bunun yanısıra antioksitant savunmayı ölçülen çeşitli parametrelerle arttırması mikroskopik bulgularla da desteklendi. Adropin verilen Diyabetik grupta (DA), kalp kası hücrelerinde, diyabet grubuna göre daha düzenli çizgilenmenin olduğu, Diskus interkalaris yapısının korunduğu ve diyabete bağlı artan interstisiyel alandaki konjesyonda azalma olduğu görüldü. Adropin uygulaması ile kalp ve aort dokularında diyabetik grupta görülen artmış kollajen liflerin dağılımında azalma gözlemlendi. Aort dokusunda tunika intima ve media tabakalarının diyabet grubuna göre yer yer daha düzenli olduğu dikkati çekti. Aort tunika media kalınlığında diyabet grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olmamakla birlikte, azalma görüldü.

Literatürde sistemik verilen Adropin uygulamasına ilişkin çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Bu yüzden, hem deneysel modelimiz, hem adropin uygulama şekli ve hem de farklı parametrelerin bir arada incelenmesi göz önüne alındığında, çalışmamızın sonuçlarının literatüre katkı anlamında değerli olduğu kanaatindeyiz.

Gerek deney süresince olan gözlemlerimiz ve gerekse elde ettiğimiz veriler sağlam hayvanlara sistemik verilen Adropin için, diyabetik hayvanlara göre farklı yorumlar yapmamıza neden oldu. Mikroskopik bulgular değerlendirildiğinde; Kontrol grubuyla benzer görüntüler vardı. Ancak sağlam hayvanlara yapılan Adropin uygulaması hayvanların genel durumunda bir miktar bozulmaya neden oldu.

Kalp ve aort dokularında TOS düzeylerinde kontrol ve DA grubuna göre anlamlı artışlara, TAS düzeyinde ise anlamlı olmayan bir azalmaya neden oldu. Yine aynı grupta PON, ARE düzeyleri de kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldı. Bu sonuçlar, bize bazı patolojik durumlarda Adropinin düzeyinin azaldığını ve böyle bir durumda dışarıdan yapılan takviyenin olumlu sonuçları olabildiğini, ancak sağlam canlıda benzer uygulamanın olumsuz sonuçlarının olabileceğini gösterdi.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diyabetik sıçanlara 10 gün boyunca günde 2 defa 450nmol/kg doz uyguladığımız adropin, Diyabete bağlı artan kan şekeri, alınan sıvı ve çıkarılan idrar düzeylerinde belirgin bir düzelme meydana getirdi.

Diyabetik kardiyomiyopatide görülen miyofibril yapısında düzensizlikler, interstisyel alanda konjesyon, interkalat disk yapısında bozulma, fibrotik değişimler, artmış kollajen yoğunluğu, artmış aort tunika media kalınlığı gibi morfolojik değişikliklere karşı kısmen düzelme ortaya çıkardı.

Kalp ve aort dokularında, diyabetin neden olduğu, azalmış antioksidan aktivitesine, paraoksonaz ve arilesteraz parametreleri üzerine olumlu etkiler gösterdi. Özellikle kalp dokusunda daha belirgin ve anlamlı olmak üzere, kalp ve aort dokuda diyabetin arttırdığı oksidan strese azalma meydana getirdi.

Kalp ve aort dokusundaki diyabetle meydana gelen azalmış VEGF düzeylerini arttırırken, artmış TNF- α seviyelerini düşürdü.

Diyabetik olmayan kontrol grubunda (KA) ise; Adropin uygulaması gerek kalp gerekse aort dokuda TAS, TOS, PON ve ARE düzeylerinde, Diyabet grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olmayan artma veya azalmalar meydana getirdi.

Bu bulgular bize sistemik verilen adropinin; diyabetin kardiyovasküler dokularda neden olduğu azalmış antioksidan (TAS, PON, ARE) ve VEGF sinyalleri, artmış oksidan (TOS) , inflamatuvar sinyaller (TNF- α)ile ortaya çıkan morfolojik değişiklikler üzerine olumlu etkilerinin olduğunu düşündürmektedir.

Adropinin sağlam deneklerde neden bu olumsuz etkileri gösterdiği ve diyabetik hayvanlarda gerek kardiyovasküler sistem ve gerekse diğer sistemlerde daha ne gibi etkilerinin olabileceği konusunu sorgulayan ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.



KAYNAKLAR

1. Glovaci, D. Fan, W. and Wong, N.D.,(2019). Epidemiology of diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Current cardiology reports*, 21(4): 21.
2. Chawla, A, Chawla, R. and Jaggi, S., (2016). Microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 20(4): 546.
3. Domingueti, C. P, Dusse, L. M. S. A., das Graças Carvalho, M., de Sousa, L. P., Gomes, K. B., and Fernandes, A. P., (2016). Diabetes mellitus: the linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. *Journal of Diabetes and its Complications*, 30(4): 738-745.
4. Huynh, K, Bernardo, B. C, McMullen, J. R., and Ritchie, R. H., (2014). Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacology & therapeutics*, 142(3): 375-415.
5. Marwick, T. H, Ritchie, R., Shaw, J. E., and Kaye, D., (2018). Implications of underlying mechanisms for the recognition and management of diabetic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, 71(3): 339-351.
6. Rubler, S., Dlugash, J., Yuceoglu, Y. Z., Kumral, T., Branwood, A. W., and Grishman, A., (1972). New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis. *American Journal of Cardiology*, 30(6): 595-602.
7. Yilmaz, S., Canpolat, U., Aydogdu, S., and Abboud, H. E., (2015). Diabetic cardiomyopathy; summary of 41 years. *Korean circulation journal*, 45(4): 266-272.
8. Bodiga, V.L., Eda, S.R., and Bodiga, S.,(2014). Advanced glycation end products: role in pathology of diabetic cardiomyopathy. *Heart failure reviews*, 19(1): 49-63.
9. Westermann, D., Van Linthout, S., Dhayat, S., Dhayat, N., Schmidt, A., Noutsias, M., and Tschöpe, C., (2007). Tumor necrosis factor-alpha antagonism protects from myocardial inflammation and fibrosis in experimental diabetic cardiomyopathy. *Basic research in cardiology*, 102(6): 500.
10. Duh, E. and Aiello, L.P., (1999). Vascular endothelial growth factor and diabetes: the agonist versus antagonist paradox. *Diabetes*, 48(10): 1899-1906.
11. Kolluru, G.K., Bir, S.C., and Kevil, C.G., (2012). Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. *International journal of vascular medicine*, 918267:30.
12. Cebeci, E., Alibaz-Oner, F., Usta, M., Yurdakul, S., and Erguney, M., (2012). Evaluation of oxidative stress, the activities of paraoxonase and arylesterase in patients with subclinical hypothyroidism. *Journal of Investigative Medicine*, 60(1): 23-28.

13. Ayub, A., Mackness, M. I., Arrol, S., Mackness, B., Patel, J., and Durrington, P. N., (1999). Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 19(2): 330-335.
14. Kumar, K. G., Trevaskis, J. L., Lam, D. D., Sutton, G. M., Koza, R. A., Chouljenko, V. N., and Ferrante Jr, A. W., (2008). Identification of adropin as a secreted factor linking dietary macronutrient intake with energy homeostasis and lipid metabolism. *Cell metabolism*, 8(6): 468-481.
15. Aydin, S.,(2014). Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. *Peptides*, 56: 94-110.
16. Wen, E. L., Xiaosong, G., Yong-Wen, Q., and Xing, Z., (2011). Elevated plasma levels of adropin in heart failure patients. *Heart*, 97(3): A218-A218.
17. Lovren, F., Pan, Y., Quan, A., Singh, K. K., Shukla, P. C., Gupta, M., and Verma, S., (2010). Adropin is a novel regulator of endothelial function. *Circulation*, 122(11): S185-S192.
18. Kharroubi, A. T., and Darwish, H. M., (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World journal of diabetes*, 6(6): 850.
19. Van Wyk, H.,(2015). Complications of diabetes mellitus. *SA Pharmaceutical Journal*, 82(10): 16-20.
20. Leonardini, A., Laviola, L., Perrini, S., Natalicchio, A., and Giorgino, F., (2009). Cross-talk between PPAR and insulin signaling and modulation of insulin sensitivity. *PPAR research*, 818945:12.
21. Kim, E.K., and Choi, E.-J., (2010). Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1802(4): 396-405.
22. Ozougwu, J. C., Obimba, K. C., Belonwu, C. D., and Unakalamba, C. B.,(2013). The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of physiology and pathophysiology*, 4(4): 46-57.
23. Association, A.D.,(2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 37(1): S81-S90.
24. Maahs, D. M., West, N. A., Lawrence, J. M., and Mayer-Davis, E. J., (2010). Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 39(3): 481-497.
25. Craig, M.E., Hattersley, A., and Donaghue, K.C.,(2009). Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric diabetes*, 10: 3-12.
26. Daneman, D.,(2006). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 367(9513): 847-858.

27. Imagawa, A., Hanafusa, T., Miyagawa, J. I., and Matsuzawa, Y., (2000). A proposal of three distinct subtypes of type 1 diabetes mellitus based on clinical and pathological evidence. *Annals of medicine*, 32(8): 539-543.
28. Imagawa, A., Hanafusa, T., Awata, T., Ikegami, H., Uchigata, Y., Osawa, H., and Shimizu, I., (2012). Report of the Committee of the Japan Diabetes Society on the Research of Fulminant and Acute-onset Type 1 Diabetes Mellitus: New diagnostic criteria of fulminant type 1 diabetes mellitus . *Diabetology international*, 3(4): 179-183.
29. Hober, D., and Sauter, P., (2010). Pathogenesis of type 1 diabetes mellitus: interplay between enterovirus and host. *Nature Reviews Endocrinology*, 6(5): 279.
30. McCarthy, M.I., (2010). Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *New England Journal of Medicine*, 363(24): 2339-2350.
31. Bonnefond, A., Froguel, P., and Vaxillaire, M., (2010). The emerging genetics of type 2 diabetes. *Trends in molecular medicine*, 16(9): 407-416.
32. Sargis, R.M., (2014). The hijacking of cellular signaling and the diabetes epidemic: mechanisms of environmental disruption of insulin action and glucose homeostasis. *Diabetes & metabolism journal*, 38(1): 13-24.
33. Copps, K., and White, M., (2012). Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia*, 55(10): 2565-2582.
34. Farese, R.V., Sajan, M.P., and Standaert, M.L., (2005). Insulin-sensitive protein kinases (atypical protein kinase C and protein kinase B/Akt): actions and defects in obesity and type II diabetes. *Experimental biology and medicine*, 230(9): 593-605.
35. Ye, J., (2013). Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Frontiers of medicine*, 7(1): 14-24.
36. Kerner, W., and Brückel J., (2014). Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 122(07): 384-386.
37. Järvelä, I. Y., Juutinen, J., Koskela, P., Hartikainen, A. L., Kulmala, P., Knip, M., and Tapanainen, J. S., (2006). Gestational diabetes identifies women at risk for permanent type 1 and type 2 diabetes in fertile age: predictive role of autoantibodies. *Diabetes care*, 29(3): 607-612.
38. Galtier, F., (2010). Definition, epidemiology, risk factors. *Diabetes & metabolism*, 36(6 Pt 2) 628-651.
39. Association, A.D., (2017). 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*, 40(1): S11-S24.
40. Association, A.D., (2007). Standards of medical care in diabetes-2007. *Diabetes care*, 30(1) S4-S41.

41. Donath, M. Y., Størling, J., Maedler, K., and Mandrup-Poulsen, T., (2003). Inflammatory mediators and islet β -cell failure: a link between type 1 and type 2 diabetes. *Journal of molecular medicine*, 81(8): 455-470.
42. Chen, L., Magliano, D.J., and Zimmet, P.Z., (2012). The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. *Nature reviews endocrinology*, 8(4): 228-236.
43. Johnson, K.H., Bazargan, M., and Cherpitel, C.J., (2001). Alcohol, tobacco, and drug use and the onset of type 2 diabetes among inner-city minority patients. *The Journal of the American Board of Family Practice*, 14(6): 430-436.
44. Association, A.D., (2018). 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2018. *Diabetes care*, 41(1): S13-S27.
45. Nordwall, M., Abrahamsson, M., Dhir, M., Fredrikson, M., Ludvigsson, J., and Arnqvist, H. J., (2015). Impact of HbA1c, followed from onset of type 1 diabetes, on the development of severe retinopathy and nephropathy: the VISS Study (Vascular Diabetic Complications in Southeast Sweden). *Diabetes care*, 38(2): 308-315.
46. Costa, B., Barrio, F., Piñol, J. L., Cabré, J. J., Mundet, X., Sagarra, R., and Solà-Morales, O., (2013). Shifting from glucose diagnosis to the new HbA1c diagnosis reduces the capability of the Finnish Diabetes Risk Score (FINDRISC) to screen for glucose abnormalities within a real-life primary healthcare preventive strategy. *BMC medicine*, 11(1): 45.
47. Kharroubi, A. T., Darwish, H. M., Al-Halaweh, A. I. A., & Khammash, U. M., (2014). Evaluation of glycated hemoglobin (HbA1c) for diagnosing type 2 diabetes and prediabetes among Palestinian Arab population. *PloS one*, 9(2): e88123.
48. Lipska, K. J., De Rekeneire, N., Van Ness, P. H., Johnson, K. C., Kanaya, A., Koster, A., and Inzucchi, S. E., (2010). Identifying dysglycemic states in older adults: implications of the emerging use of hemoglobin A1c. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(12): 5289-5295.
49. Hayes, L., Hawthorne, G., and Unwin, N., (2012). Undiagnosed diabetes in the over-60s: performance of the Association of Public Health Observatories (APHO) Diabetes Prevalence Model in a general practice. *Diabetic medicine*, 29(1): 115-120.
50. Lehrke, M., and Marx, N., (2017). Diabetes mellitus and heart failure. *The American Journal of Cardiology*, 120(1): S37-S47.
51. Sobel, B.E.,(2007). Optimizing cardiovascular outcomes in diabetes mellitus. *The American journal of medicine*, 120(9). S3-S11.
52. Forbes, J.M., and Cooper, M.E.,(2013). Mechanisms of diabetic complications. *Physiological reviews*, 93(1): 137-188.

53. Kim, J. A., Montagnani, M., Koh, K. K., and Quon, M. J., (2006). Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation*, 113(15): 1888-1904
54. D'Souza, A., Hussain, M., Howarth, F. C., Woods, N. M., Bidasee, K., and Singh, J., (2009). Pathogenesis and pathophysiology of accelerated atherosclerosis in the diabetic heart. *Molecular and cellular biochemistry*, 331(1-2): 89.
55. Giacco, F., & Brownlee, M., (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation research*, 107(9): 1058-1070.
56. Goldin, A., Beckman, J. A., Schmidt, A. M., and Creager, M. A., (2006). Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*, 114(6): 597-605.
57. Wong, F. N., Chua, K. H., Tan, J. A. M. A., Wong, C. M., and Kuppusamy, U. R., (2018). Glycaemic control in type 2 diabetic patients with chronic kidney disease: the impacts on enzymatic antioxidants and soluble RAGE. *PeerJ*, 6: e4421.
58. Hirai, F. E., Tielsch, J. M., Klein, B. E., and Klein, R., (2011). Ten-year change in vision-related quality of life in type 1 diabetes: Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. *Ophthalmology*, 118(2): 353-358.
59. Amin, N., and Doupis, J., (2016). Diabetic foot disease: from the evaluation of the "foot at risk" to the novel diabetic ulcer treatment modalities. *World journal of diabetes*, 7(7): 153.
60. Avogaro, A., de Kreutzenberg, S.V., and Fadini, G., (2008). Endothelial dysfunction: causes and consequences in patients with diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*, 82: S94-S101.
61. Lee, W.-S., and Kim, J., (2017). Diabetic cardiomyopathy: where we are and where we are going. *The Korean Journal of internal medicine*, 32(3): 404.
62. Sitia, S., Tomasoni, L., Atzeni, F., Ambrosio, G., Cordiano, C., Catapano, A., and Picano, E., (2010). From endothelial dysfunction to atherosclerosis. *Autoimmunity reviews*, 9(12): 830-834.
63. Fowler, M.J., (2011). Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clinical diabetes*, 29(3): p. 116-122.
64. Boyle, P.J., (2007). Diabetes mellitus and macrovascular disease: mechanisms and mediators. *The American journal of medicine*, 120(9): S12-S17.
65. Kampoli, A. M., Tousoulis, D., Briasoulis, A., Latsios, G., Papageorgiou, N., and Stefanadis, C., (2011). Potential pathogenic inflammatory mechanisms of endothelial dysfunction induced by type 2 diabetes mellitus. *Current pharmaceutical design*, 17(37): 4147-4158.

66. Tousoulis, D., Papageorgiou, N., Androulakis, E., Siasos, G., Latsios, G., Tentolouris, K., and Stefanadis, C., (2013). Diabetes mellitus-associated vascular impairment: novel circulating biomarkers and therapeutic approaches. *Journal of the American College of Cardiology*, 62(8): 667-676.
67. Ouma, G. O., Jonas, R. A., Usman, M. H. U., and Mohler III, E. R., (2012). Targets and delivery methods for therapeutic angiogenesis in peripheral artery disease. *Vascular Medicine*, 17(3): 174-192.
68. Kota, S. K., Meher, L. K., Jammula, S., Kota, S. K., Krishna, S. V. S., and Modi, K. D., (2012). Aberrant angiogenesis: The gateway to diabetic complications. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 16(6): 918.
69. Costa, P.Z., and Soares, R., (2013). Neovascularization in diabetes and its complications. Unraveling the angiogenic paradox. *Life sciences*, 92(22): 1037-1045.
70. Tepper, O. M., Galiano, R. D., Capla, J. M., Kalka, C., Gagne, P. J., Jacobowitz, G. R., and Gurtner, G. C., (2002). Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation*, 106(22): 2781-2786.
71. Miki, T., Yuda, S., Kouzu, H., and Miura, T., (2013). Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology and clinical features. *Heart failure reviews*, 18(2): 149-166.
72. An, D. and Rodrigues, B., (2006). Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 291(4): H1489-H1506.
73. Wong, T. C., Piehler, K. M., Kang, I. A., Kadakkal, A., Kellman, P., Schwartzman, D. S., and Schelbert, E. B., (2014). Myocardial extracellular volume fraction quantified by cardiovascular magnetic resonance is increased in diabetes and associated with mortality and incident heart failure admission. *European heart journal*, 35(10): 657-664.
74. Ban, C. R., and Twigg, S. M., (2008). Fibrosis in diabetes complications: pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers. *Vascular health and risk management*, 4(3): 575.
75. Ramasamy, R., and Schmidt, A. M., (2012). Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and implications for the pathophysiology of heart failure. *Current heart failure reports*, 9(2): 107-116.
76. Shimizu, I., Minamino, T., Toko, H., Okada, S., Ikeda, H., Yasuda, N., and Koh, G. Y., (2010). Excessive cardiac insulin signaling exacerbates systolic dysfunction induced by pressure overload in rodents. *The Journal of clinical investigation*, 120(5): 1506-1514.
77. Barouch, L. A., Berkowitz, D. E., Harrison, R. W., O'Donnell, C. P., and Hare, J. M., (2003). Disruption of leptin signaling contributes to cardiac hypertrophy independently of body weight in mice. *Circulation*, 108(6): 754-759.

78. Palmieri, V., Capaldo, B., Russo, C., Iaccarino, M., Pezzullo, S., Quintavalle, G., and Celentano, A., (2008). Uncomplicated type 1 diabetes and preclinical left ventricular myocardial dysfunction: insights from echocardiography and exercise cardiac performance evaluation. *Diabetes research and clinical practice*, 79(2): 262-268.
79. Levelt, E., Rodgers, C. T., Clarke, W. T., Mahmood, M., Ariga, R., Francis, J. M., and Robson, M. D., (2016). Cardiac energetics, oxygenation, and perfusion during increased workload in patients with type 2 diabetes mellitus. *European heart journal*, 37(46): 3461-3469.
80. Brooks, B. A., Franjic, B., Ban, C. R., Swaraj, K., Yue, D. K., Celermajer, D. S., and Twigg, S. M., (2008). Diastolic dysfunction and abnormalities of the microcirculation in type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10(9): 739-746.
81. Shivalkar, B., Dhondt, D., Goovaerts, I., Van Gaal, L., Bartunek, J., Van Crombrugge, P., and Vrints, C., (2006). Flow mediated dilatation and cardiac function in type 1 diabetes mellitus. *The American journal of cardiology*, 97(1): 77-82.
82. Battiprolu, P. K., Gillette, T. G., Wang, Z. V., Lavandero, S., and Hill, J. A., (2010). Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and therapeutic targets. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 7(2): e135-e143.
83. Fang, Z. Y., Schull-Meade, R., Leano, R., Mottram, P. M., Prins, J. B., and Marwick, T. H., (2005). Screening for heart disease in diabetic subjects. *American heart journal*, 149(2): 349-354.
84. Ernande, L., Bergerot, C., Rietzschel, E. R., De Buyzere, M. L., Thibault, H., PignonBlanc, P. G., and Gillebert, T. C., (2011). Diastolic dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus: is it really the first marker of diabetic cardiomyopathy?. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 24(11): 1268-1275.
85. Robins, S. J., Lyass, A., Zachariah, J. P., Massaro, J. M., and Vasan, R. S., (2011). Insulin resistance and the relationship of a dyslipidemia to coronary heart disease: the Framingham Heart Study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 31(5): 1208-1214.
86. Pappachan, J. M., Varughese, G. I., Sriraman, R., and Arunagirinathan, G., (2013). Diabetic cardiomyopathy: Pathophysiology, diagnostic evaluation and management. *World journal of diabetes*, 4(5): 177.
87. Bugger, H., and Abel, E. D., (2014). Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy. *Diabetologia*, 57(4): 660-671.
88. Zhou, Y. T., Grayburn, P., Karim, A., Shimabukuro, M., Higa, M., Baetens, D., and Unger, R. H., (2000). Lipotoxic heart disease in obese rats: implications for human obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(4): 1784-1789.
89. Murarka, S., and Movahed, M. R., (2010). Diabetic cardiomyopathy. *Journal of cardiac failure*, 16(12): 971-979.

90. Orea-Tejeda, A., Colín-Ramírez, E., Castillo-Martínez, L., Asensio-Lafuente, E., Corzo-León, D., González-Toledo, R., and Dorantes-García, J., (2007). Aldosterone receptor antagonists induce favorable cardiac remodeling in diastolic heart failure patients. *Revista de Investigación Clínica*, 59(2): 103.
91. Singh, V. P., Le, B., Khode, R., Baker, K. M., and Kumar, R., (2008). Intracellular angiotensin II production in diabetic rats is correlated with cardiomyocyte apoptosis, oxidative stress, and cardiac fibrosis. *Diabetes*, 57(12): 3297-3306.
92. Bidasee, K. R., Zhang, Y., Shao, C. H., Wang, M., Patel, K. P., Dincer, Ü. D., and Besch, H. R., (2004). Diabetes increases formation of advanced glycation end products on Sarco (endo) plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase. *Diabetes*, 53(2): 463-473.
93. Boudina, S., Sena, S., Theobald, H., Sheng, X., Wright, J. J., Hu, X. X., and Abel, E. D., (2007). Mitochondrial energetics in the heart in obesity-related diabetes: direct evidence for increased uncoupled respiration and activation of uncoupling proteins. *Diabetes*, 56(10): 2457-2466.
94. Dyntar, D., Eppenberger-Eberhardt, M., Maedler, K., Pruschy, M., Eppenberger, H. M., Spinass, G. A., and Donath, M. Y., (2001). Glucose and palmitic acid induce degeneration of myofibrils and modulate apoptosis in rat adult cardiomyocytes. *Diabetes*, 50(9): 2105-2113.
95. D'Souza, A., Howarth, F. C., Yanni, J., Dobryznski, H., Boyett, M. R., Adeghate, E., and Singh, J., (2011). Left ventricle structural remodelling in the prediabetic Goto-Kakizaki rat. *Experimental physiology*, 96(9): 875-888.
96. Tokudome, T., Horio, T., Yoshihara, F., Suga, S. I., Kawano, Y., Kohno, M., & Kangawa, K., (2004). Direct effects of high glucose and insulin on protein synthesis in cultured cardiac myocytes and DNA and collagen synthesis in cardiac fibroblasts. *Metabolism*, 53(6): 710-715.
97. Yokoyama, T., Vaca, L., Rossen, R. D., Durante, W., Hazarika, P., & Mann, D. L., (1993). Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor- α in the adult mammalian heart. *The Journal of clinical investigation*, 92(5): 2303-2312.
98. Bristow, M. R., (1998). Tumor necrosis factor- α and cardiomyopathy. *Circulation*, 97:1340–1341
99. Fiordaliso, F., Leri, A., Cesselli, D., Limana, F., Safai, B., Nadal-Ginard, B., and Kajstura, J., (2001). Hyperglycemia activates p53 and p53-regulated genes leading to myocyte cell death. *Diabetes*, 50(10): 2363-2375.
100. Ebato, C., Uchida, T., Arakawa, M., Komatsu, M., Ueno, T., Komiya, K., and Kawamori, R., (2008). Autophagy is important in islet homeostasis and compensatory increase of beta cell mass in response to high-fat diet. *Cell metabolism*, 8(4): 325-332.

101. Mellor, K. M., Bell, J. R., Young, M. J., Ritchie, R. H., and Delbridge, L. M., (2011). Myocardial autophagy activation and suppressed survival signaling is associated with insulin resistance in fructose-fed mice. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 50(6): 1035-1043.
102. Halliwell, B. A. R. R. Y., Gutteridge, J. M., and Cross, C. E., (1992). Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 119(6): 598-620.
103. Singh, R. P., Sharad, S., and Kapur, S., (2004). Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *J Indian Acad Clin Med*, 5(3): 218-225.
104. Asmat, U., Abad, K., and Ismail, K., (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi pharmaceutical journal*, 24(5): 547-553.
105. Evans, J. L., Goldfine, I. D., Maddux, B. A., and Grodsky, G. M., (2002). Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrine reviews*, 23(5): 599-622.
106. Maxwell, S. R. J., Thomason, H., Sandler, D., Leguen, C., Baxter, M. A., Thorpe, G. H. G., and Barnett, A. H., (1997). Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *European journal of clinical investigation*, 27(6): 484-490.
107. Maxwell, S. R. J., Thomason, H., Sandler, D., Leguen, C., Baxter, M. A., Thorpe, G. H. G., and Barnett, A. H., (1997). Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *European journal of clinical investigation*, 27(6): 484-490.
108. Fatehi-Hassanabad, Z., Chan, C. B., and Furman, B. L., (2010). Reactive oxygen species and endothelial function in diabetes. *European journal of pharmacology*, 636(1-3): 8-17.
109. Medina-Navarro, R., Durán-Reyes, G., Díaz-Flores, M., and Vilar-Rojas, C., (2010). Protein antioxidant response to the stress and the relationship between molecular structure and antioxidant function. *PLoS One*, 5(1): e8971.
110. Willcox, J. K., Ash, S. L., and Catignani, G. L., (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(4): 275-295.
111. Tang, W. W., Hartiala, J., Fan, Y., Wu, Y., Stewart, A. F., Erdmann, J., and Allayee, H., (2012). Clinical and genetic association of serum paraoxonase and arylesterase activities with cardiovascular risk. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 32(11): 2803-2812.
112. Rom, O., and Aviram, M., (2017). High-density lipoprotein-associated paraoxonase 1: a possible prognostic biomarker for heart failure?. *European Journal of Heart Failure*, 19: 756–759

113. Durrington, P. N., Mackness, B., and Mackness, M. I., (2001). Paraoxonase and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 21(4): 473-480.
114. Balcerzyk, A., Zak, I., and Krauze, J., (2008). Protective effect of R allele of PON1 gene on the coronary artery disease in the presence of specific genetic background. *Disease markers*, 24(2): 81-88.
115. Zhou, C., Cao, J., Shang, L., Tong, C., Hu, H., Wang, H., and Yu, H., (2013). Reduced paraoxonase 1 activity as a marker for severe coronary artery disease. *Disease markers*, 35:7.
116. Michalak, S., Szubert, S., Moszynski, R., Sajdak, S., and Szpurek, D., (2014). Serum arylesterase and paraoxonase activities in patients with ovarian tumors. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 53(4): 490-493.
117. Lorentz, K., Wirtz, W., and Weiß, T., (2001). Continuous monitoring of arylesterase in human serum. *Clinica chimica acta*, 308(1-2): 69-78.
118. Gur, M., Aslan, M., Yildiz, A., Demirbag, R., Yilmaz, R., Selek, S., and Ozdogru, I., (2006). Paraoxonase and arylesterase activities in coronary artery disease. *European journal of clinical investigation*, 36(11): 779-787.
119. Schiavon, R., Battaglia, P., De Fanti, E., Fasolin, A., Biasioli, S., Targa, L., and Guidi, G., (2002). HDL3-related decreased serum paraoxonase (PON) activity in uremic patients: comparison with the PON1 allele polymorphism. *Clinica chimica acta*, 324(1-2): 39-44.
120. Kilic, S. S., Aydin, S., Kilic, N., Erman, F., Aydin, S., and Celik, İ., (2005). Serum arylesterase and paraoxonase activity in patients with chronic hepatitis. *World Journal of gastroenterology*, 11(46): 7351.
121. Ikeda, Y., Suehiro, T., Inoue, M., Nakauchi, Y., Morita, T., Aii, K., and Hashimoto, K., (1998). Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non—insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*, 47(5): 598-602.
122. Bansal, S., Chawla, D., Siddarth, M., Banerjee, B. D., Madhu, S. V., and Tripathi, A. K., (2013). A study on serum advanced glycation end products and its association with oxidative stress and paraoxonase activity in type 2 diabetic patients with vascular complications. *Clinical Biochemistry*, 46(1-2): 109-114.
123. Ganesh-Kumar, K., Zhang, J., Gao, S., Rossi, J., McGuinness, O. P., Halem, H. H., and Butler, A. A., (2012). Adropin deficiency is associated with increased adiposity and insulin resistance. *Obesity*, 20(7): 1394-1402.
124. Kume, T., Calan, M., Yilmaz, O., Kocabas, G. U., Yesil, P., Temur, M., and Calan, O. G., (2016). A possible connection between tumor necrosis factor alpha and adropin levels in polycystic ovary syndrome. *Journal of Endocrinological Investigation*, 39(7): 747-754.

125. Gao, S., McMillan, R. P., Zhu, Q., Lopaschuk, G. D., Hulver, M. W., and Butler, A. A., (2015). Therapeutic effects of adropin on glucose tolerance and substrate utilization in diet-induced obese mice with insulin resistance. *Molecular metabolism*, 4(4): 310-324.
126. Marczuk, N., Cecerska-Heryć, E., Jesionowska, A., and Dołęgowska, B., (2016). Adropin-physiological and pathophysiological role. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 70: 981-988 .
127. Aydin, S., Kuloglu, T., and Aydin, S., (2013). Copeptin, adropin and irisin concentrations in breast milk and plasma of healthy women and those with gestational diabetes mellitus. *Peptides*, 47: 66-70.
128. Stein, L. M., Yosten, G. L., and Samson, W. K., (2016). Adropin acts in brain to inhibit water drinking: potential interaction with the orphan G protein-coupled receptor, GPR19. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 310(6): R476-R480.
129. Gao, S., McMillan, R. P., Jacas, J., Zhu, Q., Li, X., Kumar, G. K., and Hulver, M. W., (2014). Regulation of substrate oxidation preferences in muscle by the peptide hormone adropin. *Diabetes*, 63(10): 3242-3252.
130. Thapa, D., Xie, B., Zhang, M., Stoner, M. W., Manning, J. R., Huckestein, B. R., and Jurczak, M. J., (2019). Adropin treatment restores cardiac glucose oxidation in pre-diabetic obese mice. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 129: 174-178.
131. Aydin, S., Kuloglu, T., Aydin, S., Eren, M. N., Yilmaz, M., Kalayci, M., and Kendir, Y., (2013). Expression of adropin in rat brain, cerebellum, kidneys, heart, liver, and pancreas in streptozotocin-induced diabetes. *Molecular and cellular biochemistry*, 380(1-2): 73-81.
132. Celik, E., Yilmaz, E., Celik, O., Ulas, M., Turkcuoglu, I., Karaer, A., and Aydin, S., (2013). Maternal and fetal adropin levels in gestational diabetes mellitus. *Journal of perinatal medicine*, 41(4): 375-380.
133. Akcilar, R., Kocak, F. E., Simsek, H., Akcilar, A., Bayat, Z., Ece, E., and Kokdasgil, H., (2016). Antidiabetic and hypolipidemic effects of adropinin streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Bratislavske lekarske listy*, 117(2): 100.
134. Yosae, S., Soltani, S., Sekhavati, E., and Jazayeri, S., (2016). Adropin-a novel biomarker of heart disease: a systematic review article. *Iranian journal of public health*, 45(12): 1568.
135. Aydin, S., Kuloglu, T., Aydin, S., Kalayci, M., Yilmaz, M., Çakmak, T., and Eren, M. N., (2014). Elevated adropin: a candidate diagnostic marker for myocardial infarction in conjunction with troponin-I. *Peptides*, 58: 91-97.

136. Yu, H. Y., Zhao, P., Wu, M. C., Liu, J., and Yin, W., (2014). Serum adropin levels are decreased in patients with acute myocardial infarction. *Regulatory peptides*, 190: 46-49.
137. Vermeltfoort, I. A. C., Raijmakers, P. G. H. M., Riphagen, I. I., Odekerken, D. A. M., Kuijper, A. F. M., Zwijnenburg, A., and Teule, G. J. J., (2010). Definitions and incidence of cardiac syndrome X: review and analysis of clinical data. *Clinical research in cardiology*, 99(8): 475-481.
138. Celik, A., Balin, M., Kobat, M. A., Erdem, K., Baydas, A., Bulut, M., and Aydin, S., (2013). Deficiency of a new protein associated with cardiac syndrome X; called adropin. *Cardiovascular therapeutics*, 31(3): 174-178.
139. Yang, C., DeMars, K. M., Hawkins, K. E., & Candelario-Jalil, E., (2016). Adropin reduces paracellular permeability of rat brain endothelial cells exposed to ischemia-like conditions. *Peptides*, 81: 29-37.
140. Ko, J. R., Seo, D. Y., Park, S. H., Kwak, H. B., Kim, M., Ko, K. S., and Han, J., (2018). Aerobic exercise training decreases cereblon and increases AMPK signaling in the skeletal muscle of STZ-induced diabetic rats. *Biochemical and biophysical research communications*, 501(2): 448-453.
141. Zhao, Y., Zhang, L., Qiao, Y., Zhou, X., Wu, G., Wang, L., and Zhang, X., (2013). Heme oxygenase-1 prevents cardiac dysfunction in streptozotocin-diabetic mice by reducing inflammation, oxidative stress, apoptosis and enhancing autophagy. *PloS one*, 8(9): e75927.
142. Aouacheri, O., Saka, S., Krim, M., Messaadia, A., and Maidi, I., (2015). The investigation of the oxidative stress-related parameters in type 2 diabetes mellitus. *Canadian journal of diabetes*, 39(1): 44-49.
143. Matsunami, T., Sato, Y., Sato, T., and Yukawa, M., (2010). Antioxidant status and lipid peroxidation in diabetic rats under hyperbaric oxygen exposure. *Physiological Research*, 59(1): 104-97.
144. Mohammadshahi, M., Haidari, F., and Soufi, F. G., (2014). Chronic resveratrol administration improves diabetic cardiomyopathy in part by reducing oxidative stress. *Cardiology Journal*, 21(1): 39-46.
145. Gupta, S. K., Dongare, S., Mathur, R., Mohanty, I. R., Srivastava, S., Mathur, S., and Nag, T. C., (2015). Genistein ameliorates cardiac inflammation and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy in rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 408(1-2), 63-72.
146. Kota, S. K., Meher, L. K., Kota, S. K., Jammula, S., Krishna, S. V. S., and Modi, K. D., (2013). Implications of serum paraoxonase activity in obesity, diabetes mellitus, and dyslipidemia. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 17(3): 402.

147. Jamuna, A. R., Mythili, S. V., and Nagarajan, S., (2014). Study on paraoxonase 1 in type 2 diabetes mellitus. *Indian journal of physiology and pharmacology*, 58(1): 13-16.
148. Taş, S., Sarandöl, E., and Dirican, M., (2014). Vitamin B6 supplementation improves oxidative stress and enhances serum paraoxonase/arylesterase activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Scientific World Journal*, 2014:7
149. Tschöpe, C., Walther, T., Escher, F., Spillmann, F., Du, J., Altmann, C., and Noutsias, A. M., (2005). Transgenic activation of the kallikrein-kinin system inhibits intramyocardial inflammation, endothelial dysfunction, and oxidative stress in experimental diabetic cardiomyopathy. *The FASEB journal*, 19(14): 2057-2059.
150. Dinh, W., FÜth, R., Nickl, W., Krahn, T., Ellinghaus, P., Scheffold, T., and Lankisch, M., (2009). Elevated plasma levels of TNF-alpha and interleukin-6 in patients with diastolic dysfunction and glucose metabolism disorders. *Cardiovascular Diabetology*, 8(1): 58.
151. van den Heuvel, A. F., van Veldhuisen, D. J., van der Wall, E. E., Blanksma, P. K., Siebelink, H. M. J., Vaalburg, W. M., and Crijns, H. J., (2000). Regional myocardial blood flow reserve impairment and metabolic changes suggesting myocardial ischemia in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, 35(1): 19-28.
152. Chou, E., Suzuma, I., Way, K. J., Opland, D., Clermont, A. C., Naruse, K., and King, G. L., (2002). Decreased cardiac expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in insulin-resistant and diabetic States: a possible explanation for impaired collateral formation in cardiac tissue. *Circulation*, 105(3): 373-379.
153. Hu, R., Wang, Z., Ren, Z., and Liu, M., (2016). Autonomic remodeling may be responsible for decreased incidence of aortic dissection in STZ-induced diabetic rats via down-regulation of matrix metalloprotease 2. *BMC cardiovascular disorders*, 16(1): 200.
154. Wu, L., Fang, J., Chen, L., Zhao, Z., Luo, Y., Lin, C., and Fan, L., (2014). Low serum adropin is associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetic and non-diabetic patients. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 52(5): 751-758.
155. Chen, S., Zeng, K., Liu, Q. C., Guo, Z., Zhang, S., Chen, X. R., and Gao, F., (2017). Adropin deficiency worsens HFD-induced metabolic defects. *Cell death & disease*, 8(8): e3008-e3008.
156. Yosae, S., Khodadost, M., Esteghamati, A., Speakman, J. R., Shidfar, F., Nazari, M. N., and Djafarian, K., (2017). Metabolic syndrome patients have lower levels of adropin when compared with healthy overweight/obese and lean subjects. *American journal of men's health*, 11(2): 426-434.

157. Sato, K., Yamashita, T., Shirai, R., Shibata, K., Okano, T., Yamaguchi, M., and Watanabe, T. ,(2018). Adropin contributes to anti-atherosclerosis by suppressing monocyte-endothelial cell adhesion and smooth muscle cell proliferation. *International journal of molecular sciences*, 19(5): 1293.
158. Wu, L., Fang, J., Yuan, X., Xiong, C., and Chen, L., (2019). Adropin reduces hypoxia/reoxygenation-induced myocardial injury via the reperfusion injury salvage kinase pathway. *Experimental and therapeutic medicine*, 18(5): 3307-3314.
159. Chen, X., Xue, H., Fang, W., Chen, K., Chen, S., Yang, W., and Ling, W., (2019). Adropin protects against liver injury in nonalcoholic steatohepatitis via the Nrf2 mediated antioxidant capacity. *Redox biology*, 21: 101068.





EKLER

EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay

Evrak Tarih ve Sayısı: 12/11/2018-E.150283



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Çiğdem ÖZER
Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Çiğdem ÖZER, Fathia HUSSEIN MOHAMED MOHAMED, Saadet Özen AKARCA DİZAKAR, Suna ÖMEROĞLU, Çağrı Alp DÜZ, Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN, Ahmet Hulusi YEŞİL ve Duygu TOZCU'dan oluşan, G.Ü.ET-18.064 kod numaralı ve "*Diyabetik Sıçanlarda Sistemik Adropin Uygulamasının Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-18.064 and entitled "*The Effects of Systemic Adropin Treatment on Cardiovascular System in Diabetic Rats*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Sıçan Wistar Albino
Hayvan Sayısı : 58

Ek:1 Liste

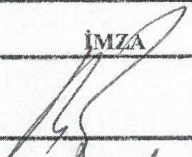
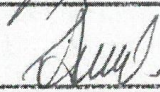
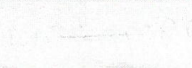
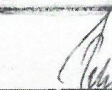
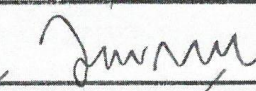
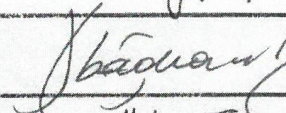
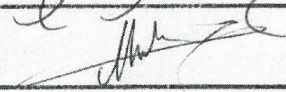
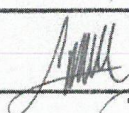
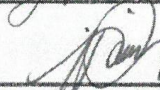
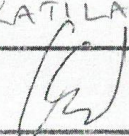


Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr

Bilgi için :Burak Çitrak
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:0312 229 78 60

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ :27/072018		TOPLANTI SAYISI : 07	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU			
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Doç.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Doç.Dr.Süleyman YEŞİL		KATILAMADI	
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Doç.Dr.İpek SÜNTAR			
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR		KATILAMADI	
Vet.Hek.Bureu AVCI		KATILAMADI	
Osman İÇ			

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Fathia Hussien Mohamed Mohamed
 Uyruğu : Libya
 Doğum tarihi ve yeri : 26/1/1986, Elbayda
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 05051301508
 e.posta : kozomoahmed121@gmail.com



Eğitim Derecesi

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi/Fizyoloji Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Omer Al Mukhtar Üniversitesi Tıp Fakültesi	2010-2011
Lise	Nusayba Bent Kaab Lisesi	

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2011-2013	El Tawra Hastanesi- Kulak Burun Boğaz Hastalıkları	Asistant

Yabancı Dil

İngilizce
 Türkçe

Yayınlar

1. Fathia Hussien Mohamed, Cigdem Özer (2019) Impact of Sleep, Sleep Loss and Recovery Sleep on Immunity. Gazi Medical Journal; Vol 30 No 4.

2. Çiğdem Özer, Fathia Hussien Mohamed (2019), Diyabetik Sıçanlarda Sistemik Adropin Uygulamasının Kalp Kası Oksidan Ve Antioksidan Düzeyleri Üzerine Etkisi(Poster Bildiri).45.Ulusal Fizyoloji Kongresi, Kuşadası.
3. Çiğdem Özer, Duygu Tozcu, Fathia Hussien Mohamed, Hulusi Yeşil (2019), Sistemik Adropin Uygulamasının Diyabetik Sıçan Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stres Üzerine Etkisi(Poster Bildiri). 45.Ulusal Fizyoloji Kongresi, Kuşadası.
4. Çiğdem Özer, Ahmed Hulusi Yeşil, Fathia Hussien Mohamed (2019), Sistemik Adropin Uygulamasının Diyabetik Sıçan Testis Dokusunda MDA ve GSH Düzeylerine Etkisi (Poster Bildiri) . 45.Ulusal Fizyoloji Kongresi, Kuşadası.

Katıldığı Kurs ve Kongresi

45 Ulusal Fizyoloji Kongresi

Deney Hayvanları Uygulama Ve Etik kursu 2017



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...