T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

ROZİGLİTAZONUN DİYABETİK SIÇAN PAPİLLER KALP KASININ MEKANİK VE ELEKTRİKSEL AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Servet KAVAK

TEZ DANIŞMANI

Doc. Dr. Mustafa EMRE

ADANA – 2008

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

ROZİGLİTAZONUN DİYABETİK SIÇAN PAPİLLER KALP KASININ MEKANİK VE ELEKTRİKSEL AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Servet KAVAK

TEZ DANIŞMANI

Doc. Dr. Mustafa EMRE

Bu Tez Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Tarafından TF 2006 D3 nolu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA – 2008

Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyofizik Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan "Roziglitazonun Diyabetik Sıçan Papiller Kalp Kasının Mekanik ve Elektriksel Aktiviteleri Üzerine Etkisi**"** adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 25/01/2008

Doç. Dr. Mustafa EMRE
Çukurova Üniversitesi
(Jüri Başkanı)

Prof. Dr. İsmail GÜNAY
Çukurova Üniversitesi
(Jüri Üyesi)

Prof. Dr. Süleyman DAŞDAĞ
Dicle Üniversitesi
(Jüri Üyesi)

Prof. Dr. S. Sadi KURDAK
Çukurova Üniversitesi
(Jüri Üyesi)

Prof. Dr. Yusuf KARATAŞ
Çukurova Üniversitesi
(Jüri Üyesi)

Yukarıdaki tez, Yönetim Kurulunun ..... tarih ve ..... sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Halil KASAP

TEŞEKKÜR

Roziglitazonun Diyabetik Sıçan Papiller Kalp Kasının Mekanik ve Elektriksel Aktiviteleri Üzerine Etkisi adlı çalışma, Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden (TIPDAM) sağlanan sıçanlarla, Biyofizik Anabilim Dalı, Histoloji Anabilim Dalı ve Biyokimya Anabilim Dalında gerçekleştirildi.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde değerli bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Mustafa EMRE, bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. İsmail GÜNAY'a, biyokimyasal analizlerimizde ellerinden geleninden fazlasını yapan Sayın Doç. Dr. Tamer İNAL ve Histoloji çalışmalarını gerçekleştiren sayın Prof. Dr. Sait POLAT ve Doç. Dr. Özgül TAP'a, deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarından dolayı sayın Yeliz ERYILMAZ'a, deneysel süreçte gerekli olan ilaçların sağlanmasında desteği esirgemeyen Endokrin Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Tamer TETİKER'e, verilerin istatistiksel analizinin yapılmasında destek olan Doc. Dr. Gülşah Seydaoğlu, deneysel çalışmalarımda ve bütün tez dönemimde bana yardım eden ve desteğini hep yanımda hissettiğim aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
ÖZET	xvi
ABSTRACT	xviii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİ	4
2.1 Diyabetes Mellitus ve Tarihçesi	4
2.1.1 Diyabetes Mellitusun Tipleri	4
2.1.2 Diyabetes Mellitusun Fizyopatolojisi	5
2.1.3 İnsülin Eksikliği	6
2.1.4 İnsülinin Moleküler Yapısı ve Sentezi	6
2.1.5 Pankreastan İnsülinin Salgılanması	7
2.1.6 İnsülin Reseptörü ve Post-reseptör Olaylar	8
2.2 Kalp Kası ve Hücre Zarının Yapısı	9
2.2.1. Kalp Kasındaki Elektriksel Olaylar	10
2.2.2 Kalp Aksiyon Potansiyelinde Rol Alan İyonik Akımlar	11
2.2.3 Kalp Kasının Uyarılma-Kasılma Çiftlenimi	13
2.3. Deneysel Diyabet	15
2.3.1. Deneysel Diyabetik Kardiyomiyopati	15
2.3.2 Diyabet ve Miyokard Enerji Metabolizması	16
2.4 Diyabetin Farmakolojik Tedavisi	17
2.4.1 Thiazolidinedion'lar	18
2.4.1.1 Roziglitazonun Etkisi	20
2.4.2 Diyabetik Sıçanlarda İnsülinin Papiller Kalp kasına Etkisi	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22

3.1 Deney Hayvanı 22
3.2 Deney Gruplarının Oluşturulması 22
3.3 Sıçanların Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi 23
3.4 Sıçanlarda Kan Glikoz Düzeylerin Ölçülmesi 24
3.5 Diyabetin Oluşturulması 24
3.6 Diyabetik Hayvanların Bakımı 24
3.7 Farmakolojik Ajanların Verilmesi 25
3.8 Kayit ve Gözlem Sistemi 25
3.9 Çözeltiler 25
3.10 Sıçan Papiller Kalp Kas Preparatının Hazırlanması 26
3.11 Organ Banyosu 26
3.12 Biyomekanik Parametrelerin Ölçülmesi 26
3.13 Mikroelektrot Yöntemi 28
3.13.1 Aksiyon Potansiyelinin Kaydedilmesi 28
3.14 Histolojik Çalışmalar 30
3.15. Biyokimyasal Ölçümler 31
3.15.1 Glikoz Ölçümü 31
3.15.2 Kolesterol Ölçümü 31
3.15.3 Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol Ölçümü (HDL) 32
3.15.4 Trigliserid Ölçümü 32
3.15.5 Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol Ölçümü (LDL) 32
3.15.6 Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol Ölçümü (VLDL) 33
3.15.7 Glikolize hemoglobin (HbA1c) ve hemoglobin ölçümü 33
3.15.8 Homosistein 33
3.15.8.1 Kullanılan Cihazlar 33
3.15.8.2 Kullanılan Kitler 33
3.15.8.3 Homosistein Düzeylerinin Ölçülmesi 33
3.15.8.4. HPLC yöntemiyle homosistein düzeyi ölçümü 34
3.116 İstatiksel Değerlendirme 34
4. BULGULAR 35
4.1. Genel Bulgular 35
4.2 Ağırlık Ölçümleri 35

4.3 Papiller Kalp Kasın Biyomekanik Parametreleri ile ilgili bulgular 38
4.3.1 İzometrik Sarsı Kuvveti 39
4.3.2 Sarsı Kasılma Hızı 40
4.3.3 Gevşeme Hızı 40
4.3.4 İzometrik Kasılma ve yarı gevşeme süreleri 41
4.3.4.1 İzometrik Kasılma Süresi 42
4.3.4.2 İzometrik Yarı Gevşeme Süresi 43
4.4. Sol Papiller Kalp Kasının Biyoelektrik Parametreleri 44
4.4.1 Dinlenim Zar Potansiyeli 45
4.4.2 Aksiyon Potansiyeli Genliği 46
4.4.3 Aşma Potansiyeli 47
4.4.4 Depolarizasyon Süresi 48
4.4.5 Yarı Repolarizasyon Süresi 49
4.4.6 Depolarizasyon ve Repolarizasyon Hızı 50
4.5 Kan Glikoz Değerleri 52
4.5.1 Kan Plazma Değerleri 54
4.6 Elektron Mikroskobik Bulgular 56
4.6.1 Kontrol Grubu 56
4.6.2 Kontrol+ Roziglitazon Grubu 57
4.6.3 Diyabet Grubu 57
4.6.4 Diyabet+İnsülin Grubu 57
4.6.5 Diyabet+Roziglitazon Grubu 58
4.6.6 Diyabet+Roziglitazon+İnsülin Grubu 58
5.TARTIŞMA 62
5.1 Roziglitazon ve insülinin sıçan vücut ağırlığına etkisi 62
5.2 Roziglitazonun Sol papiller Kalp Kasının Biyomekanik Parametrelerine Etkileri 63
5.3 NPH-İnsülinin Papiller Kasının Biyomekanik Parametrelerine Etkisi 67
5.4 Roziglitazon ve NPH-İnsülinin Kombine Kasılma Üzerine etkisi 68
5.5 Sol Papiller Kalp Kasının Biyoelektrik Parametrelerine 71

Roziglitazonun Etkileri
5.6 NPH-İnsülinin Biyoelektrik Parametreleri Etkisi 73
5.7 Roziglitazon ve NPH-İnsülinin Kombine Biyoelektrik Parametreleri etksi 75
5.8 Plazma Kan Glikozu Düzeyleri 77
5.9 Elektron mikroskobik etkiler 78
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 81
7. KAYNAKLAR 82
8. ÖZGEÇMİŞ 92

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Ventrikül aksiyon potansiyelinin evreleri ve onlara karşılık gelen iyonik akımlar. 12

Şekil 2.2. Papiller-Ventriküller hücrelerinde Ca^{+2} düzenlenmesi. Çerçeve içindeki küçük şekil AP, geçici Ca^{+2} değişimi (Ca^{+2} transient) ve kasılmanın zamansal değişimlerini göstermektedir. Kısaltmalar; NCX, Na+/ Ca^{+2} değiş-tokuşu; ATP, ATPaz; PLB, fosfolamban; SR, sarkoplazmik retikulum. 14

Şekil 3.1. Deney gruplarının dağılım diyagramı Kontrol (K), (Kontrol+ Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), Diyabet+İnsülin (D+İNS)). 23

Şekil 3.2. Sıçanların ağırlıklarının ölçülmesinde kullanılan terazi. 23

Şekil 3.3. Sıçanların kan glikoz düzeylerinin ölçülmesinde kullanılan glikozmetre. 24

Şekil 3.4. İzometrik sarsı parametreleri Ps: Kasılma kuvveti (mN), CT: Kasılma süresi (ms), ½RT: Yarı-gevşeme süresi (ms)). 27

Şekil 3.5. Biyomekanik parametrelerin ölçümünde kullanılan düzenek. 27

Şekil 3.6. Biyoelektrik parametrelerin kayıtlama tekniği. 29

Şekil 3.7. Mikroelektrot kayıt düzeneği. Mikroskop, mikromanipülatör, preamplifier ve preparat odası Faraday kafesi içinde bulunmaktadır. 29

Şekil 3.8. Papiller kalp kasından kayıtlanan aksiyon potansiyeli ve parametreleri. 29

Şekil 4.1. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+ İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait normalize % ağırlık değişimlerinin ortalama değerleri ve standart hataları (SEM) şeklinde verildi. 37

Şekil 4.2. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+ İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait kasılma kuvveti değişimlerinin ortalama değerleri ve standart hataları (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. **[a]** Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[b]** Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[c]** K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde 39

anlamlı (p<0,05)

Şekil 4.3. Papiller kalp kasının Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait kasılma hızı değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05). 40

Şekil 4.4. Papiller kalp kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait gevşeme hız değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05). 41

Şekil 4.5. Papiller kalp kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait Kasılma süreleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05). 43

Şekil 4.6. Papiller kalp kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait yarı gevşeme süreleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05) 44

Şekil 4.7. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon +İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait dinlenim zar potansiyeli değişimleri ortalama 46

ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

Şekil 4.8. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon +İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait aksiyon potansiyeli genliği değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$). 47

Şekil 4.9. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon +İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait aşma potansiyeli değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$) şeklinde verildi, [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$). 48

Şekil 4.10. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon +İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait depolarizasyon süreleri değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$). 49

Şekil 4.11. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon +İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait yarı repolarizasyon süreleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$). 50

Şekil 4.12. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon +İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait depolarizasyon hızı ortalama ve standart 52

hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).
Şekil 4.13. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon +İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait repolarizasyon hızı değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$). 52
Şekil 4.14. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon +İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait kan glikoz değişim değerleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. 54
Şekil 4.15. İki ay sonunda Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanlardan alınan kan örneklerinden plazma total kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol, LDL kolesterol ve VLDL kolesterol değerleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir.[a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$),[c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$). 55
Şekil 4.16. İki ay sonunda Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet +Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanlardan alınan kan örneklerinden plazma Hemoglobin A1c (%) değerleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir.[a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$). 55
Şekil 4.17. İki ay sonunda Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanlardan alınan kan örneklerinden plazma homosistein (μmol/L) değerleri ortalama ve 56

standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir.[a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05),[c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (p<0,05).

Şekil 4.18. Kontrol grubuna ait papillar kalp kası lifleri (PL) yaygın sarkozomları (m), enine çizgilenmeyi oluşturan miyofilamentleri (mf) ve Z-çizgisi hizasında yerleşen dyad (ok) yapıları ile normal olarak izlenmekte. Kapillerleri döşeyen endotel hücreleri (EH) çekirdek (Ç) ve sitoplazması ile normal histolojik yapıda görülmekte. x10.100. 58

Şekil 4.19. Roziglatozon kontrol grubuna ait papillar kalp kası liflerinde (PL) çekirdek (Ç), miyofilamentler (mf), sarkozomlar (m) ve diyad (ok) normal yapıda izlenmekte. x10.100. 59

Şekil 4.20 Diyabet grubuna ait bazı papillar kalp kası liflerinde (PL) elekton lusent görünümlü vakuollerin (V) oluştuğu, Z-çizgisinde (ok) yer yer densite kaybı olduğu izlenmekte. Sarkozom (m), miyofilament (mf). x10.100. 59

Şekil 4.21. Diyabet grubuna ait papillar kalp kası liflerinde (PL) sarkozomların (m) matriksinde densite kaybı görülürken diskus interkalarislerin (ok) hafifçe düzensizleştiği, sinir sonlanmalarının (SS) normal yapıda olduğu izlendi. Bazal lamina (ok başı). x10.100. 60

Şekil 4.22. Diyabet+İnsülin grubuna ait papillar kalp kası liflerinde (PL) miyofilamentler (mf), sarkozomlar (m), çekirdek (Ç) ve perinüklear alanda elektron lusent görünümlü vakuoller (V) izlenmekte. x8.100. 60

Şekil 4.23. Diyabet+Roziglitazon grubuna ait papillar kalp kası liflerinde (PL) çekirdek (Ç), sarkozomlar (m) ve miyofilamentler (mf) normal yapıda izlenmekte. x10.100. 61

Şekil 4.24. Roziglatozon+İnsülin uygulanan grupta papillar kalp kası liflerinin (PL) sarkoplazmasında yer yer elektron lusent vakuoller (V) izlendi. Çekirdek (Ç), sarkozom (m), miyofilamentler (mf). x10.100 61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1 Kalp aksiyon potansiyeli sırasında iyon akıları (Potasyum akımlarından; $İ_{to}$ geçici dışarı, $İ_K$ gecikmiş doğrultucu, $İ_{K1}$ içeri (anormal) doğrultucu) 12

Çizelge 3.1. Homosistein için HPLC çalışma koşulları 34

Çizelge 4.1. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+ Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanların sekiz hafta boyunca haftada bir kez ölçülen ağırlıkların (gram) normalize edilmiş değerleri ve standart hataları. 37

Çizelge 4.2. Kalp sol papiller kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanların 60. gün sonunda altı farklı grubun izometrik kasılma parametreleri. Değerler Ort.± SEM olarak verilmiştir. 38

Çizelge 4.3. Papiller kalp kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanların sekiz hafta sonunda altı farklı grubun izometrik kasılma parametreleri. Değerler Ort.± SEM olarak verilmiştir. 42

Çizelge 4.4. Sol papiller kalp kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanların sekiz hafta sonunda altı farklı grubun papiller kasın aksiyon potansiyeli parametreleri. Değerler Ort.± SEM olarak verilmiştir. 45

Çizelge 4.5. Kalp sol papiller kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin 51

(D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanların sekiz hafta sonunda altı farklı grubun papiller kasın depolarizasyon ve repolarizasyon hızı parametreleri. Değerler Ort.± SEM olarak verilmiştir.
Çizelge 4.6. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon +İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanların sekiz hafta boyunca haftada bir kez ölçülen kan glikoz (mg/dL) değerleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. 53
Çizelge 4.7. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon +İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait plazma değerleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. 54

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AP	Aksiyon Potansiyeli
Ca^{+2}	Kalsiyum İyonu
CT	Kasılma Süresi
D	Diyabet grubu
D+İNS	Diyabet+İnsülin.
D+RZG	Diyabet+Roziglitazon,
D+RZG+İNS	Diyabet+Roziglitazon+İnsülin,
K	Kontrol,
K^{+}	Potasyum İyonu
K+RZG	Kontrol+Roziglitazon,
m/s	Metre/saniye
mM	Mili Mol
ms	Milisaniye
mV	Mili Volt
mV/ms	Mili Volt /Milisaniye
Na^{+}	Sodyum iyonu
Ps	Sarsı Kuvveti
PPARγ	Peroksizom proliferatör tarafından aktive edilen reseptör-gamma
½ RT	Yarı-Repolarizasyon Süresi
RZG	Roziglitazon
SR	Sarkoplazmik Retikulum
T_{DEP}	Depolarizasyon Süresi
TIBDAM Ç.Ü.	Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi
V/m	Volt/metre
V_D	Dinlenim Zar Potansiyeli
µmol/L	Mikro Mol/Litre
+dp/dt	Kasılma hızı (Pozitif türev)
-dp/dt	Gevşeme hızı (Negatif türev)

ÖZET

ROZİGLİTAZONUN DİYABETİK SIÇAN PAPİLLER KALP KASININ MEKANİK VE ELEKTRİKSEL AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Diyabette, yüksek kan glikozu ve serbest yağ asitlerinin artması kalbin fonksiyonlarında çeşitli bozukluklara neden olduğu bilinmektedir. Diyabetik kardiyomiyopati olarak bilinen ve diyabet sebepli ölümlerin en temel nedeni olarak gösterilen patolojik durum, uzun süreli diyabete maruz kalan hastalarda gözlenen doğal bir sonuçtur. Bu çalışmanın amacı, diyabetik sıçan modelinde sol ventrikül papiller kasında mekanik ve elektriksel değişimlerden sorumlu olası mekanizmaları araştırmaktır.

Çalışma için ağırlıkları 270 ile 300 g arasında değişen Wistar türü, albino, erkek sıçanlar kullanıldı (n=120). Sıçanlar; Kontrol (K) grubu, Roziglitazon (RZG) verilmiş konrol (K+RZG) grubu, sıçanların kuyruk veninden 0,1 M soğuk sitrat tampon çözeltisi (pH =4,5) içinde çözülmüş streptozotosin (STZ: 45 mg/kg) verilerek oluşturulan diyabet (D) grubu, RZG ve insülin (İNS) ile tedavi edilen diyabetik gruplardan (D+RZG, D+RZG+İNS ve D+İNS) oluşan toplam altı gruba ayrıldı.Tedavi edilen üç gruba günlük kilogram başına 4 mg/kg/gün RZG gavaj yoluyla ve insülin (İNS) diyabetin şiddetine bağlı olarak, günde 1 IU insülin, subkutan yoldan enjeksiyon ile sabah akşam olmak üzere günde iki defa verildi.

Diyabetik süreçte, kas kasılmalarının tepe değerinde anlamlı düşüş saptanmıştır ($p<0,05$). Kasılma süresinde anlamlı uzamanın altında, kasılma sırasında Ca^{+2} salınım ve geri alınımındaki uzamadan diyabetin neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca tedavi uygulanmış grupların kasılma parametreleri tedavi sayesinde, sağlıklı sıçanların papiller kas kasılma parametrelerine yaklaşmıştır.

Klasik mikroelektrot kayıt tekniği ile kayıtlanan aksiyon potansiyeli sürelerinin, diyabet grubunda kontrole göre anlamlı derecede uzamış olmasının altında yatan iyonik mekanizmanın, potasyum kanal akım yoğunluğundaki azalma olduğu sonucuna varılmıştır.

Bir antidiyabetik ajan olan RZG'nin deneysel diyabetik sıçanlara verildikten sonra hayvanların genel durumuna ilişkin (vücut ağırlığı, kan şekeri vs.) bazı parametreleri sağlıklı deneklerden elde edilen veriler yönünde iyileşmiştir. Bu

çalışmada tedavi uygulanan gruplarının, diyabetin neden olduğu uzamış aksiyon potansiyeli süresinin yanında kasılma sürelerinde de düzelmelere neden olduğu gözlenmiştir.

Hemoglobin Alc, homosistein, total kolesterol, HDL ve LDL kolesterol, trigliserid değerlerinin diyabetle artığı ve tedavi uygulanmış gruplarda ise kan plazmasındaki bu değerlerin azaldığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma, miligramlar düzeyinde verilen RZG nin, STZ kullanılarak yapılan diyabet sonrası uyarılma-kasılma çiftleniminde gözlenen değişimleri, sağlıklı deneklerin değerlerine yaklaştırılarak terapötik etki yaptığını açıkça göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Diyabet, Sıçan papiller kalp kası, Roziglitazon, Kasılma, Aksiyon potansiyeli, Dinlenim zar potansiyeli.

ABSTRACT

THE EFFECT OF ROSIGLITAZONE ON THE MECHANIC AND ELECTRICAL ACTIVITY OF PAPILLARY HEART MUSCLE IN DIABETIC RATS

It has been known that hyperglycemia and increased free fatty acids induce impairment of cardiac functions in diabetes mellitus. Diabetic cardiomyopathy which the major reason of mortality due to diabetes mellitus is a natural outcome in patients with long term expose to diabetes mellitus. The aim of this study was to investigate the possible mechanisms responsible for the mechanical and electrical alterations on left ventricular papillary muscle in a diabetic rat model.

One hundred twenty Wistar albino male rats (Weighted, 270-300 gram) were used for the study. Streptozotocin (STZ: 45 mg/kg) solved in 0.1 M cold citrate buffer solution (pH=4.5) was given by route of tail vein and experimental diabetes mellitus induced in part of rats. The rats were divided into six groups; Controls (C), controls treated with RZG (C+RZG), diabetic rats (D), diabetic rats treated with RZG (D+RZG), diabetic rats treated with RZG and insulin (D+RZG+INS) and diabetic rats treated with insulin (D+INS). Four mg/kg/day RZG and 1 IU BID subcutaneous insulin (INS) were given in treatment groups.

Significant reduction was observed in peak values of contractions at diabetic process ($p<0,05$). It has been shown that the reason of significant prolongation of contraction period was prolongation of release and reuptake of Ca^{+2}. In addition, contraction parameters of treatment groups were approached to those of C group.

It was concluded that the reason of significant prolongation of action potential recorded with classical microelectrode recording technique in diabetic rats was reduction of density of potassium channel.

Treatment with RZG was improved some parameters (weight, blood glucose level vs.) in experimental induced diabetic rats. The study was also shown that in vivo treatments were caused to improvement in durations of action potential and contraction.

Increase in hemoglobin A1C, homocysteine, total cholesterol, HDL and LDL cholesterol and triglyceride values with diabetic process and reduction in those values with treatment were observed.

In conclusion, variations in induction-contraction coupling after experimental induction of diabetes mellitus by STZ are observed. Those variations are approached to control values by using rosiglitazone.

KEYWORDS: Diabetes, Rat papillary heart muscle, Rosiglitazone, Contraction, Action potential, Membrane potential.

1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus insülin sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak veya göreceli azlığı sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemik bir metabolizma hastalığıdır. Besinlerden elde edilen veya karaciğerdeki depolardan kana salınan glikoz, pankreas tarafından salgılanan insülin hormonunun yardımıyla hücre içine girer ve orada yakılarak enerjiye dönüşür. Hücre zarın üzerinde değişik maddelerin girmesine izin veren reseptörler vardır. Bu reseptörler normalde kapalıdırlar ve uygun anahtar varlığında açılırlar. Diyabet, hücre zarındaki insülin reseptörlerinin açılamaması sebebiyle glikozun hücreye alınmaması durumunda oluşur. Bu tanımdan anlaşılacağı gibi diyabet, anahtar işlevi gören insülinin yetersizliğine ve/veya insülinin etkilediği reseptörlerin bozukluğuna bağlı gelişmektedir[1].

Tüm dünyada ölümlerin yarısından fazlası, diyabete bağlı olarak gelişen kardiovasküler hastalıklar nedeni ile olmaktadır[2,3]. Yapılan çalışmalara göre diyabetin kardiyovasküler hastalıklar için majör bir risk faktörü olduğu, hatta koroner arter hastalığı ile eşdeğer kabul edilebileceği belirtilmiştir[4]. Özellikle yetişkinlerde görülen tip 2 diyabetin asıl nedeni insülin salgısındaki yetersizlikten çok periferik dokuların insüline karşı oluşturdukları insülin direncidir[5]. Hatta tip 2 diyabetin preklinik dönemlerinde, henüz plazma glikoz seviyeleri normal sınırlarda iken insülin seviyelerinin yüksek seyrettiği österilmiştir[6]. Periferik dokularda insülin yanıtının azalmasıyla başlayan ve beraberinde hipertansiyon, hiperlipidemi, ve obezitenin görüldüğü bulgular bütününe ise metabolik sendrom denmektedir (insülin direnci sendromu). İnsülin direnci bu sendromun temel patolojisidir. Benzer şekilde araştırmaların bu yöne yoğunlaştırılmasıyla birlikte henüz diyabetin olmadığı ancak yapılan klinik deneylerde insülin direnci saptanan olgularda da kardiyovasküler hastalıkların anlamlı olarak daha fazla görüldüğü bulunmuştur[7]. Genetik yatkınlık zemininde, çevresel faktörler tarafından modifiye edilen metabolik sendrom ve diyabet, damar duvarında aterosklerotik (AS) plak oluşumunu hızlandırarak başta koroner arter hastalığı olmak üzere serebrovasküler ve periferik damar hastalıkları gibi

makrovasküler komplikasyonları ortaya çıkarmakta, diğer taraftan retinopati ve nefropati gibi mikrovasküler komplikasyonlara yol açmaktadır[8].

İnsülin direncinin temel mekanizma olduğunun anlaşılmasıyla birlikte yaşam tarzı değişikliği, kilo verme gibi geleneksel yaklaşımların yanında insülin direncini kırmaya yönelik çeşitli farmakolojik ajanlar geliştirilmiştir. Son birkaç yıldır kullanıma giren Thiazolidinedion grubu ilaçlar (roziglitazon vb) hücre içinde bulunan nükleer PPAR-gamma reseptörlerine etki ederek insülinin post reseptör işlevlerinin yerine getirmesini kolaylaştırmaktadır[9]. Yaygın kabul gören bu ilaçlar plazma glikoz düzeyini kontrol etmeleri yanında lipid profili ve endotel fonksiyonları üzerine de olumlu etki yapmakta ve insülin seviyelerini anlamlı derecede düşürmektedirler[10].

Thiazolidinedion (TZD) grubunda yer alan roziglitazon (RZG); plazma glikoz düzeylerini azaltır. İnsülin duyarlılığını ve pankreas beta hücre fonksiyonunu düzeltir. Roziglitazonun, tip 2 DM hastalarında HbA1c, serbest yağ asidini ve plazma glikoz konsantrasyonunu %20-30 oranında azalttığı gösterilmiştir[11-14].

Deneysel çalışmalarda homosisteinin (hcy), oksidatif stresi artırarak insülinin oluşturduğu periferik etkileri önlediği ve ayrıca karaciğerde kolesterol sentezini artırdığı gösterilmiştir[15-17]. Homosistein düzeyi normal bireylere göre tip 2 DM'da anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ve hcy düzeyinin erken dönemde oluşan AS 'la ilişkili olduğu ortaya konulmuştur[18].

Roziglitazon tip 2 diyabetli hastalarda tek başına kullanıldığında plazma glikozunu çok iyi kontrol eder. Patel ve arkadaşları 380 tip 2 DM'li hastanın katıldığı ve hastaların 12 hafta boyunca roziglitazon kullandığı bir çalışmada, plazma glikoz düzeylerinin normale düştüğünü saptamışlardır. Roziglitazonun tip 2 DM hastaların plazma glikoz konsantrasyonlarının kontrol edilmesinde son derece etkili olduğu ve yan etkisinin'de bulunmadığı gösterilmiştir[19].

İnsülin direnci ve klinik diyabetin kalp üzerindeki spesifik olumsuz etkileri arasında ateroskleroza bağlı iskemik kalp hastalığı, hipertansiyon, sol ventrikül hipertrofisi ve tüm bunların neticesinde hipertrofi olmaksızın diyabetin erken dönemlerinde görülebilen sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu vardır. Bazı bulgular erken dönemde görülebilen diyastolik disfonksiyonun ileride gelişebilecek kardiyomiyopatinin habercisi olabileceğini düşündürmektedir[20].

Diyabet, kardiyovasküler hastalıklar (KVH) için önemli bir risk faktörüdür. Tıp 2 diyabetli hastalar diyabetli olmayanlara göre 2 – 4 kez daha fazla KVH için risk taşırlar. Diyabetin geç dönem karakteristik özelliklerinden birisi vasküler patolojilerden bağımsız, ileri düzeyde seyreden kardiyomiyopatinin gözlenmesidir. Bu, klinik olarak sıklıkla kendini diyastolik performansın bozulmasıyla gösterir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, kronik diyabetin kalpte neden olduğu fonksiyon bozukluğunun kardiyak miyofibrillerdeki Ca^{+2} –ATPaz'ın etkinliğindeki azalmayla ilişkili olduğu gösterilmiştir[21]. Miyofibrillerde ATPaz etkinliğindeki azalmanın, düzenleyici proteinlerin fosforilasyonundaki değişikliklerin yanısıra, miyozin izoenzimlerindeki ve düzenleyici proteinlerdeki değişikliklere bağlı olduğu belirlenmiştir[21].

Diyabetik miyokardiyumda hücre içi serbast $[Ca^{+2}]_i$ düzenlemesinde çeşitli anormallikler olduğu gözlenmiş ve bununla ilgili farklı sonuçlar yayınlanmıştır. Bazı çalışmalarda aşırı Ca^{+2} yüklemesinin (Ca-overload) diyabetik kardiyomiyopatinin oluşumunda yer aldığı ileri sürülmüş, fakat bu konuda farklı bulgulara ulaşılmıştır. Özetle, bu konuda yeterince çalışma olmamasının yanında, diyabetli sıçan kalpleri ile yapılan mevcut çalışmalarda da $[Ca^{+2}]_i$ değişimine ilişkin çelişkili bulgular gözlenmiş ve bu konu henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Ayrıca, $[Ca^{+2}]_i$ belirleyen mekanizmalardan biri olan Ca^{+2} kanal akımlarının diyabetle nasıl değiştiği konusunda da net bir sonuca ulaşılamamıştır. Diyabetli kalp aksiyon potansiyeli repolarizasyon fazındaki uzamadan geçici-dışarı doğru K^+ akımlarındaki azalmanın yanında Ca^{+2} akımlarındaki artışın da sorumlu olduğu ileri sürülmüştür[22,23]. Ancak, bunun yanında Ca^{+2} akımlarının değişmediğini ve hatta 24-30 hafta gibi uzun sürede azaldığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır[24,25,26].

Bu çalışma, insülin direnci zemininde gelişen tip 2 diyabetin neden olduğu sol ventrikül diyastolik disfonksiyonunda sol ventrikül papiller kalp kasının mekanik-elektriksel karakteristiklerini belirlemek ve insülin/Roziglitazon kullanımının kardiak etkilerini saptamak amacıyla planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Diyabetes Mellitus ve Tarihçesi

Diyabet hastalığı antik çağlardan beri ciddi bir sağlık problemi olarak fark edilmiştir. Eski kayıtlar Milattan önce 1550'li yıllarda Mısır'da yazılmış bir papirüste bulunmuştur. Bu papirüste, Diyabet hastalığına benzer, çok idrara çıkma ile seyreden bir durumdan bahsedilmektedir. Hindular da Ayur Veda'da böcek, sinek ve karıncaların bazı insanların idrarının yapıldığı yere toplandığını kaydetmişlerdir. Günümüzde tıp literatüründe kullanılan, Diabetes ve Mellitus kelimeleri Yunanca akıp gitmek anlamına gelen dia + betes ve bal kadar tatlı anlamına gelen mellitus kelimelerindenden türetilmiştir. Diabetes kelimesi ilk kez Anadolu topraklarında, Kapadokya'da M.S. 2. yüzyılda Arateus tarafından kullanılmıştır. Arateus şeker hastalığını idrar miktarında artma, aşırı susama ve kilo kaybının olduğu bir hastalık olarak tanımlamıştır. Hastalığın pankreas ile ilgisi 1889 yılında Minkowski'nin pankreatektomi yaptığı bir köpeğin diyabetik oluşu ile anlaşılmıştır. 1921'de Toronto'da Banting ve Best'in insülini bulmalarıyla hastalığın patogenezinin aydınlatılmasında çok önemli bir çağ başlamıştır.

Bu metabolik bozukluğun etyopatogenezinden mutlak veya göreceli insülin eksikliği/mutlak veya göreceli glukagon artışı sorumlu tutulmaktadır. Plazma insülin seviyesinin düşüklüğü karbonhidrat, protein, yağ, su ve elektrolit metabolizmasını etkiler. Hastalığın akut metabolik dönemi telafi edilmezse ölümle sonuçlanır. Kronik dönemde metabolizmadaki uzun süreli dengesizlik vücutta kalıcı ve geri dönüşümsüz fonksiyonel veya yapısal bozukluklara neden olabilir. Hastalığın ileri dönemlerinde kan damarları, retina, böbrekler ve sinir sisteminde dejeneratif değişikliklere bağlı komplikasyonlar gelişmektedir. Belirtilen sistemleri etkileyen bu bozukluk değişik klinik tablolarla ortaya çıkmaktadır [27,28].

2.1.1 Diyabetes Mellitusun Tipleri

1. Tip 1 Diyabetes Mellitus: Diyabetin insüline bağımlı, ketozise eğilimli, genç erişkin (28-30 yaş) kişilerde başlayan, şişman olmayan kişilerde görülen formudur.

2. Tip 2 Diyabetes Mellitus: Diyabetin ketozise dirençli, insülinle tedaviye çoğu kez gereksinim duyulmayan, genellikle 40 yaşından sonra başlayan, %70'inden fazlası aşırı şişman olan kişilerde rastlanılan tipidir. Endüstrileşmiş ve gelişmekte olan toplumlarda sedanter yaşam ve aşırı beslenme ile birlikte insidansı da giderek artmaktadır.

3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus: Gebelik sırasında diyabetes mellitus gelişen kadınları belirlemek amacıyla kullanılan bir tanımlamadır. Hastaların bir kısmı doğumdan sonra normale dönerken, bir kısmında diyabet devam eder.

4- Diğer Özgün Tipleri: Bu grupta pankreas ß hücrelerinin genetik defekti ile egzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibrozis ve pankreatit), bazı endokrinopatiler (akromegali; hipofiz bezinin aşırı büyümesi), ilaçlar, kimyasal maddeler ve bazı enfeksiyonlar sonrası ortaya çıkan diyabetes mellitus tabloları ele alınmaktadır[29].

2.1.2 Diyabetes Mellitusun Fizyopatolojisi

Tip 1 diyabetes mellitusta otoimmun bir olay sonucu bu hastaların pankreas ß hücrelerinde oluşan lezyonun yaygınlığına bağlı olarak, insülin sekresyonunda ciddi yetersizlik vardır. Bu hastalarda endojen insülin üretimi hastalığın süresi ve şiddeti ile ters orantılıdır, insülin salınımındaki yetersizlik başlangıç döneminde geçici olarak geri dönüşümlüdür. İlerleyen dönemde hastalık, fonksiyonel yetersizliğin yanında pankreasın adacık hücrelerinde hyalinizasyon ve fibrozise bağlı olarak geri dönüşümsüz evreye girer [30].

Tip 2 diyabetes mellitusta, temel bozukluk, iskelet kası ve yağ dokusu gibi hedef dokularda insüline karşı direnç gelişmiş olmasıdır. Hastalığın başlangıç döneminde bazal insülin derişimi genel olarak normal ya da artmıştır [31].

İnsülin direnci hücrelerin insüline duyarlılığı ve/veya yanıtında bir azalma sonucu ortaya çıkmaktadır. İnsülin duyarlılığında azalmanın nedenleri, insülinin reseptörü ile etkileşiminde bozukluk ve/veya reseptör sayısında azalmaya bağlıdır. Hücrelerin insüline verdiği yanıtta azalma ise ligand-reseptör etkileşiminden sonraki basamaklardaki bir bozukluk ile ilişkilidir [32].

Bu patolojilerin sonucunda gelişen hiperglisemi insülin salınımını uyarmakta ve hiperinsülinemiye neden olmaktadır. İlerleyen dönemde pankreas ß hücrelerinin harabiyetine bağlı olarak tabloya insülin eksikliği de eklenmektedir [28].

2.1.3 İnsülin Eksikliği

İnsülin eksikliği, insanlarda sık görülen ciddi bir patolojik tablodur. Hayvanlarda bu tablo pankreasın cerrahi olarak çıkarılması; pankreasın ß hücrelerinin seçici yıkımına neden olacak uygun dozlarda alloksan, streptozotosin ya da diğer toksinlerin verilmesi; insülin sekresyonunu inhibe eden ilaçların verilmesi ve anti-insülin antikorlarının verilmesiyle yaratılabilir [33,34].

İnsülin eksikliği nedeniyle ortaya çıkan anormallikler topluluğu diyabetes mellitus adını alır. İyonya'lı ve Roma'lı hekimler 2 tip diyabeti birbirinden ayırt etmişlerdir. Bunlar idrarın tatlı olduğu "diyabetes mellitus" ile idrarın tatsız olduğu "diyabetes insipidus" dur. Bugün diyabetes insipidus terimi vazopressin üretiminin ya da etkisinin bir eksikliği olan durum için kullanılmakta olup, diyabet kelimesi genellikle diyabetes mellitus için eşanlamlı bir sözcük olarak kullanılmaktadır [33,34].

Diyabet poliüri, polidipsi, polifajiye (iştah artışı) rağmen kilo kaybı, hiperglisemi, glikozüri, ketozis, asidoz ve komayla nitelenir. Yaygın biyokimyasal anormallikler varsa da bunların çoğunun bağlanabileceği temel eksiklikler; çeşitli periferik dokulara glikoz girişinde azalma, karaciğerden dolaşıma glikoz geçişinde artmadır. Böylece hücre dışı glikozda artma ve birçok hücrede hücre içi glikozda azalma vardır ve bu duruma bolluk içinde açlıktan ölmek denir [33,34].

2.1.4 İnsülinin Moleküler Yapısı ve Sentezi

İnsülin yaklaşık olarak 6000 dalton büyüklüğünde polipeptid yapılı bir hormondur. Kısa (A) ve uzun (B) iki amino asit zincirinden oluşmaktadır. A zinciri 21, B zinciri 30 amino asit içerir Bu iki zincir birbirlerine sistein rezidüleri arasında yer alan iki adet disülfür köprüsü ile bağlıdır. A zincirinde ise zincir içi bir disülfür köprüsü daha bulunur. İnsülin, pankreasta Langerhans adacıklarındaki β hücrelerinde sentez edilir. Bu hücrelerdeki ribozomlarda önce prepro-insülin adı verilen tek zincirli, 110 aminoasitli

bir öncü molekül sentezlenir. Preproinsülin granüllü endoplazmik retikulum zarını geçip lümene ulaştığında 24 aminoasitlik N terminali kopar ve proinsülin meydana gelir. Bu molekül kendi içinde kıvrılır ve üç disülfür köprüsü oluşur. Sonra bu molekül golgi aygıtına transfer olur ve burada yer alan proteazların etkisiyle 35 amino asitlik bir segmentinden (C peptid) daha ayrılır ve veziküller içinde insülin olarak depolanır. C peptidin ayrılmasıyla oluşan insülin proinsülinden daha insoluble bir molekül haline gelir ve Zn^{+2} iyonu ile birlikte hekzamerik kristaller halinde çöker. β hücresinin uyarılması ve insülin salınımındaki bağlantıda Ca^{+2} önemli rol oynar. Ca^{+2} insülin yüklü veziküllerin hücrenin içinden zarın iç yüzeyine taşınmasını ve ekzositozla salgılanmak üzere yapışmalarını sağlar. Siklik adenozin mono fosfat (cAMP) ve inozitol trifosfat (IP_3) ise endoplazmik retikulum ve mitokondrilerden Ca^{+2} salınımını sağlar [32].

2.1.5 Pankreastan İnsülinin Salgılanması

İnsanda pankreasta depo edilmiş olarak bulunan insülin miktarı yaklaşık olarak 10 mg kadardır. Bu havuzdaki insülinin, salgılanma kinetiği açısından, erken salınan küçük bir havuz ve daha geç salınan büyük bir havuz halinde depolandığı öngörülmektedir. Pankreas bazal olarak, yani bir uyarı olmadan, 1 ünite/saat (yaklaşık 40 μg) insülin salgılar. Bunun %50'si karaciğerden ilk geçişte metabolize edilir, kalan kısım böbrek ve çizgili kaslar olmak üzere diğer hedef dokularda yıkıma uğrar. Günde salgılanan miktarı yaklaşık olarak 2 mg (50 IU) kadardır. İnsülinin plazma yarı ömrü ise ortalama 5-6 dakikadır ve karaciğer, böbrekler ve çizgili kaslardaki hedef hücreler tarafından yakalanmış insülinin yarı ömrü 3 saate kadar uzar. β hücrelerinin en duyarlı olduğu uyaran glikozdur. Bu hücrelerin yüzeyinde glukoreseptörler denilen glikoza özgü reseptörler mevcuttur. Ayrıca glikozun zarın dış yüzünden içeri taşınmasını sağlayan glikoz taşıyıcıları (GLUT-2) bulunur. β hücresine giren glikoz bifazik bir insülin salınımına yol açar. Glukoreseptörler kalsiyum kanallarını açarak, hücre içi kalsiyum miktarını arttırarak hızlı bir şekilde insülin salgılatırlar. Bu dönem kısa sürer ve 'erken faz' adını alır. İnsülin salgılanması hızla azalırken daha uzun süreli insülin salgılanmasının olacağı ikinci dönem 'geç faz' başlar. Bu fazda hem depo edilmiş insülin hem de yeni sentez edilen insülin salgılanır. Bu salgılanmada β hücreleri içine giren glikozun metabolitleri de etkili olur. Buradaki anahtar enzim glukokinazdır. β

hücrelerindeki glikoliz intrasellüler ATP düzeyini arttırır; bu da ATP'ye duyarlı K^+ kanallarını kapatır ve hücrede depolarizasyona neden olur. Depolarizasyon sonucunda zardaki voltaja bağımlı Ca^{+2} kanalları açılır ve hücre içine Ca^{+2} girişi artar.

Geç fazda etkili diğer bir mekanizma da hücre zarında fosfoinozitid hidrolizinin artışı ile protein kinaz C' nin aktivasyonu ve oluşan IP_3 ile hücre içi Ca^{+2} artışıdır. İnsülin sekresyonu ile ilgili yapılmış çalışmalarda her 10 dakikada bir, küçük miktarlarda insülinin pulsatil olarak plazmaya salgılandığı, 80 ve 150 dk aralıklarla daha büyük miktarlarda insülinin plazmaya verildiği tespit edilmiştir. Öğünler veya diğer major uyaranlar varlığında ise bazal salgılananın 4-5 katı insülinin 2-3 saat içinde bazal seviyeye dönecek şekilde salgılandığı tespit edilmiştir[32].

2.1.6 İnsülin Reseptörü ve Post-reseptör Olaylar

İnsülin aracılığı ile sinyal iletiminin temel mekanizması, büyüme faktörleri ailesinin diğer üyelerinde olduğu gibidir. Tüm büyüme faktörleri hücre yüzeyindeki reseptörleri uyarırlar. İnsülin salgılanıp sistemik dolaşıma verildiğinde hedef hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak etki eder. Bu reseptörler hücre zarında yer alan tirozin kinaz tipi reseptörlerdir. Bu reseptöre insülin bağlandığında insülinin etkisini başlatan sinyal oluşur, aynı zamanda insülin-reseptör kompleksi zardan ayrılarak hücre içine girer. Burada lizozomlarda insülin yıkılır ve reseptör tekrar kullanılmak üzere hücre yüzeyine döner. İnsülin reseptörü genellikle tek bir prekürsör proteinden gelişen hücre dışında yer alan iki α ve transmembran yerleşimli iki β alt biriminden oluşan bir tetramer yapısındadır. İki α alt birimi reseptörün hücre dışı bağlanma bölgesini oluştururken β alt birimlerinin zar ve sitoplamaya uzanım gösteren kısmı tirozin kinaz aktivitesi gösterir. İnsülin reseptörün α alt birimine bağlanınca β biriminde oto-fosforilasyon gerçekleşir. Otofosforilasyon tirozin kinaz aktivitesini arttırır. Bu olaydan sonra insülinin hücre içindeki etkilerinden sorumlu olan insülin reseptör subtrat -1 (İRS-1) adlı protein tirozin, serin ve treonin rezidülerini fosforile eder. IRS-1 ayrıca birçok fonksiyonel proteini de aktive eder. İnsülin bağımlı dokularda zardan glikoz transportunu İRS-1'in IP_3-kinaz aracılığı ile fosfatidilinozitol 3,4,5- trifosfat oluşumunu arttırarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir. İnsülin sitoplazmada yerleşmiş bulunan ve

glikozun hücre içine taşınmasını sağlayan glikoz transporterlarının (GLUT) translokasyonunu sağlayarak onları işlevsel duruma getirir. Bu transporterlar 5 adettir ve insüline en duyarlısı GLUT-4'dür. İskelet kası ve yağ dokusunda hakim olan glikoz taşıyıcısı olduğundan insülinin glikoz üzerindeki etkilerinin çoğundan sorumludur[32]. Genel olarak bakıldığında insülinin etkileri, hücresel düzeyde saniyeler veya dakikalar içinde olan kinazların fosforilasyonu, defosforilasyonu, glikoz ve iyon transportunda değişimler ile daha geç ortaya çıkan etkiler olan hücre içinde enzimlerin ve bazı proteinlerin sentezinin arttırılması şeklinde oluşur.

2.2 Kalp Kası ve Hücre Zarının Yapısı

Kalp, dört odalı bir pompa işlevi gören, içindeki kanı vücut ve akciğerlere pompalayan bir organdır. Pompalama işlevi, kalp kasının ritmik olarak kasılması ve gevşemesi ile başarılır. Bir kalp devrinin pompalama evresine sistol, dinlenme ve gevşeme evresine ise diyastol adı verilir. Dolaşım sistemi, dokulara oksijen ve besinleri taşımanın yanı sıra metabolizma artıklarını da uzaklaştırmakla görevlidir. Kalp kası lifleri, birbirine seri olarak bağlanmış çok sayıda farklı hücreden meydana gelir. Yapı ve fonksiyonları birbirinden farklı olan hücre gruplarını bir arada tutan interkale disklerdir. Kalbin uyarılması ya da uyarının yayılması için doğrudan bağlantılı olduğu bir sinir sistemine ihtiyaç yoktur. Kalbin tabakaları dış yüzü epikardiyum ile atriyum ve ventrikül boşluklarının iç yüzleri ise, endokardiyum ile kaplıdır. Endokardiyumun altında kollajen yapı, elastik lifler ve rudimenter düz kas tabakası bulunur. Kalbin esas kalınlığını oluşturan kas tabakası ise, endokardiyum ile epikardiyum arasındaki miyokardiyumdur[35,36]. Kalp kası hücreleri sarkolemma adı verilen bir zar ile çevrelenmiştir. İskelet kasından farklı olarak, miyokard hücrelerinin değme bölgelerinde birbirleri içine geçmiş sitoplazmik uzantılar hücrelerin birbirleriyle olan temas yüzeyini arttırırlar. Miyofibrillerin uzun eksenlerine dik olarak yerleşmiş gedik kavşaklar (gap juction), düşük elektriksel empedansları ile elektriksel uyarının doku ve hücrelerin uzunluğu boyunca yayılımını sağlamakla kalmayıp, hücreler arası mekanik bağlantıyı ve ayrıca büyük molekül ağırlıklı kimyasal maddelerin bir hücreden diğerine geçişini de sağlarlar. Böylece uyarı bir hücreden diğerine kolaylıkla iletilince, geniş kalp kütlesi tek bir birim (fonksiyonel sinsityum) olarak davranabilmekle birlikte, tek

hücre için geçerli olan ya hep ya da hiç yasası tüm fonksiyonel birim için geçerli olmaktadır [35,36]. Hücre bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynayan ve farklı kimyasal içerikli ortamları birbirinden ayıran hücre zarları, ~1μF/cm^2 gibi oldukça büyük bir sığaya sahip olması özelliğiyle, farklı elektriksel potansiyellere sahip bölgeleri birbirinden ayırt edebilmeyi sağlar[35,36].

2.2.1. Kalp Kasındaki Elektriksel Olaylar

Kalp hücrelerindeki aksiyon potansiyelleri, iskelet kası hücrelerinden farklı olduğu gibi, kalp hücreleri arasında da farklılıklar vardır. Bu farklar iyon kanalları farklılıklarından kaynaklanır. Kalp kası hücrelerinin zar yapısı; yüksek dirençli lipit çift tabakası, hücre içinin dışına göre mili voltlar düzeyinde negatif olan dinlenim zar potansiyeli gibi bazı temel elektriksel özelliklere sahiptir. Zarda yer alan voltaj–bağımlı iyon kanallarının özellikleri ve çeşitliliği, kalbe kendiliğinden çalışabilme (fonksiyonel sinsityum) özelliğinin yanı sıra aksiyon potansiyellerinin (AP) biçimini de belirler. Bu AP'leri sadece hücrede kasılmayı tetiklemekle kalmaz aynı zamanda pek çok hücrenin kasılma boyunca varlığını sürdürerek kasılmayı kontrol edip, kalbin bir pompa gibi çalışmasını da sağlar.[35] Diğer kas hücrelerine göre daha hızlı bir iletim özelliğine sahip olan kardiyomiyositlerdeki AP'leri; dinlemin zar potansiyeli yaklaşık -80 mV tan küçük polarizasyon ile başlayıp, daha sonra hızlı bir depolarizasyonla zar potansiyelinin yaklaşık +30 mV olan aşma potansiyeline kadar çıkması ile oluşur (Şekil 2.1). Kalp hücreleri karşılaştırılınca; ventriküllerdeki AP süresi atriyumunkinden uzun, His-Purkinje'ninkinden ise kısadır. Ayrıca ventriküller AP'e özgü erken bir repolarizasyon fazı da görülür [35]. Ventrikül hücrelerinin dinlenim zar potansiyelinin oluşumunda da, sinir ve iskelet kasında olduğu gibi, K^+ iyonları belirleyici rol oynar. Kalp dokularında Cl^- iletkenliğinin katkısı bağıl olarak küçüktür. Bunun yanında, zamandan bağımsız Na^+ geçirgenliğinin de dinlenim zar potansiyeline küçük bir katkısı vardır. Kalp kasında, birkaç farklı türden K^+ kanalı bulunur ve dinlenim zar potansiyelini sağlayan K^+ iletkenlikleri ile (inward rectifier; $İ_{K1}$), repolarizasyonu başlatan K^+ (transient outward; I_{to}) iletkenlikleri birbirinden farklıdır (Çizelge 2.1). Ayrıca bu kanallar için değişik alt tipler de tanımlanmıştır[36].

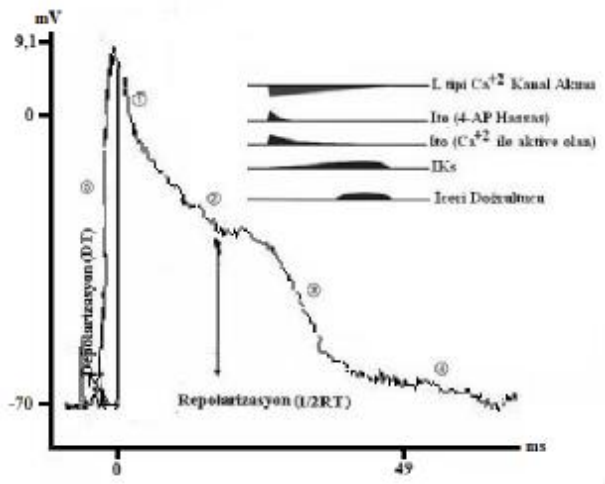
Kalp kaslarında Na^+ ve K^+ için konsantrasyon gradiyentleri aktif (ATP gerektiren) elektrojenik Na^+/K^+ pompası ile kurulur ve sürdürülür. Diğer dokularda olduğu gibi bu pompa, dışarıya çıkardığı her 3 Na^+'a karşılık, 2 K^+'u hücre içine taşır [37] ve böylece küçük bir akım oluşturarak zarı polarize etmeye yönelik çalışır. Nispeten uzun bir kardiyak AP'ye nazaran, sadece yavaş bir repolarizasyonun varlığı, bir elektrojenik pompanın, repolarizasyonun ya kontrolünde, ya da başlamasında önemli bir rol oynayabileceğini gösteren çalışmalar mevcutur[36,37]. Pek çok omurgalıda kalp hücreleri, içerideki protonları hücre dışına çıkaran Na^+/H^+ deşiş–tokuş mekanizmasına (Na^+/H^+- exchange) sahiptir. Tıpkı Na^+/Ca^{2+} değiş – tokuş mekanizmasında (Na^+/Ca^{+2}-exchange, NCX) olduğu gibi, bu mekanizma da Na^+ gradiyentine bağlı olarak çalışır. Bu mekanizma hem hücre içi serbest sodyum iyon konsantrasyonu ($[Na^+]_i$), hem de hücre içi pH'nın regülasyonunda rol oynar.[35,36,38] Ventriküller için ölçülen toplam AP süresi 200 ile 400 ms arasında değişmektedir. Ayrıca çeşitli iyon kanallarının özelliklerinin değişmesi ile AP süresinin değişebildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır [36,39,40,41].

2.2.2 Kalp Aksiyon Potansiyelinde Rol Alan İyonik Akımlar

Hızlı Yükselme Evresi (evre 0): Kalp hücreleri için kaydedilen AP hızlı depolarizasyon evresi (Şekil 2.1)'deki gibi görüldüğü gibi, sinoatriyal ve antriyoventriküler düğümleri hariç sinir ve iskelet kasındakine benzer. Buna evre 0 adını alır. Altında yatan iyonik mekanizma; Zar üzerinde yer alan hızlı Na^+ kanallarının aktivasyonu ile oluşan hızlı Na^+ akımları (I_{Na}), AP'nin başlangıcındaki hızlı depolarizasyon fazından sorumludur. Bu hızlı aktive olan kanallar aynı zamanda hızlı inaktive olma özelliğine de sahiptirler [36].

Erken Repolarizasyon Evresi (evre1):

Bu aşamada, sodyum geçirgenliğindeki azalma ile birlikte kalbin farklı bölgelerinde farklı yoğunluklarda gelişen başka bir K^+ kanalı ise evre1'de (hızlı repolarizasyon) den sorumlu olan geçici dışarı doğru K^+ akımıdır (I_{to}). Bu K^+ kanalları depolarizasyonun hemen arkasından aktive olmakta ve geçici akımlar oluşturmaktadır.



Şekil 2.1 Ventrikül aksiyon potansiyelinin evreleri ve onlara karşılık gelen iyon akımları. Daire içinde yer alan rakamlar aksiyon potansiyelinin farklı evre simgelemektedir. Zar potansiyelinin bulunduğu değerden daha pozitif değere hareketi depolarizasyon, bu noktadan dinlenim zar potansiyeline geri dönüşü ise repolarizasyon olarak adlandırılmaktadır. Alt kısımda ventrikül AP'e oluşumunda rol alan iyonik akımlar (kısaltmalar ve detaylı bilgi için metine bakınız) [36].

Çizelge 2.1 Kalp aksiyon potansiyeli sırasında iyon akıları (Potasyum akımlarından; $İ_{to}$ geçici dışarı, $İ_K$ gecikmiş doğrultucu, $İ_{K1}$ içeri (anormal) doğrultucu)[35]

Akım adı	İyon	İyon hareketi	Akım Yönü	Aksiyon Potansiyeli evresi
$İ_{Na}$	Na^+	İçeri	İçeri	0 (Depolarizasyon)
$İ_{CI}$	CI^-	İçeri	Dışarı	1 (Erken Repolarizasyon)
$İ_{to}$	K^+	Dışarı	Dışarı	1 (Erken Repolarizasyon)
$İ_{ca}$	Ca^{+2}	İçeri	İçeri	2 (Düzlük Plato)
$İ_{K1}$	K^+	Dışarı	Dışarı	2 (Düzlük Plato)
$İ_K$	K^+	Dışarı	Dışarı	3 (Repolarizasyon)
$İ_f$	Na^+	İçeri	İçeri	4 (Pacemaker Depolarizasyon)

Duzluk (plato) Evresi (evre 2): Kalp kası hücrelerinin AP'lerinde evre iki olarak nitelendirilen plato evresinde, L-tipi Ca^{+2} kanallarının oluşturduğu depolarize edici Ca^{+2} akımı (ICaL), Na^+ kanallarına göre daha yavaş aktive ve inaktive olurlar. Depolarizasyon, evre 2'nin başlamasında önemli rolü olan içeriye-doğrultucu K^+ iletkenliğinin ($İ_{K1}$) azalmasına neden olmaktadır.

Repolarizasyon Evresi (evre 3): Bu evrede birkaç olay birlikte gerçekleşir.

a) L tipi Ca^{+2} kanalı iletkenliğinin (İCaL) zamana bağlı olarak azalması sonucu depolarize edici yavaş akım azalması,

b) Depolarizasyonla aktive olan, başka bir K kanalı popülasyonunun (I_{Ks}) yavaş inaktivasyonu,

c) Repolizasyonun artması sonucu içeriye doğrultucu K^+ iletkenliğinin ($İ_{Kl}$) yeniden aktive olması bu fazın oluşumunda önemli katkıya sahiptir.

Ventrikül Hücrelerinde Dinlenim ve Pacemaker Potansiyelleri (evre 4): Dinlenim potansiyelinin sağlanmasıdır. Zar K^+ iyonlarına yüksek geçirgenlik gösterdiğinden potasyum denge potansiyeline yakın bir değer almaktadır. Dinlenim potansiyeli büyük oranda I_{K1} tarafından belirlenmektedir.

Tüm bu iyonik mekanizmaya ek olarak AP süresince çalışan çeşitli pompalar ve değiş-tokuş mekanizmaları ise aşağıda belirtilmiştir;

a) **Na^+/K^+ pompası:** Her döngüsünde 3 Na^+ dışarı ve 2 K^+ içeriye alarak dışarıya doğru bir akım oluşturmaktadır. Uyarımı hücre içi Na^+ ve hücre dışı K^+ konsantrasyonlarına bağlıdır. Kardiyak glikositler tarafından inhibe olmaktadır.

b) **Ca^{+2}- pompası (sarkolemmal):** ATP'ye bağımlı hücre dışına Ca^{2+} taşınımı Na^+/ Ca^{+2} karşı taşınımdan daha az etkilidir.

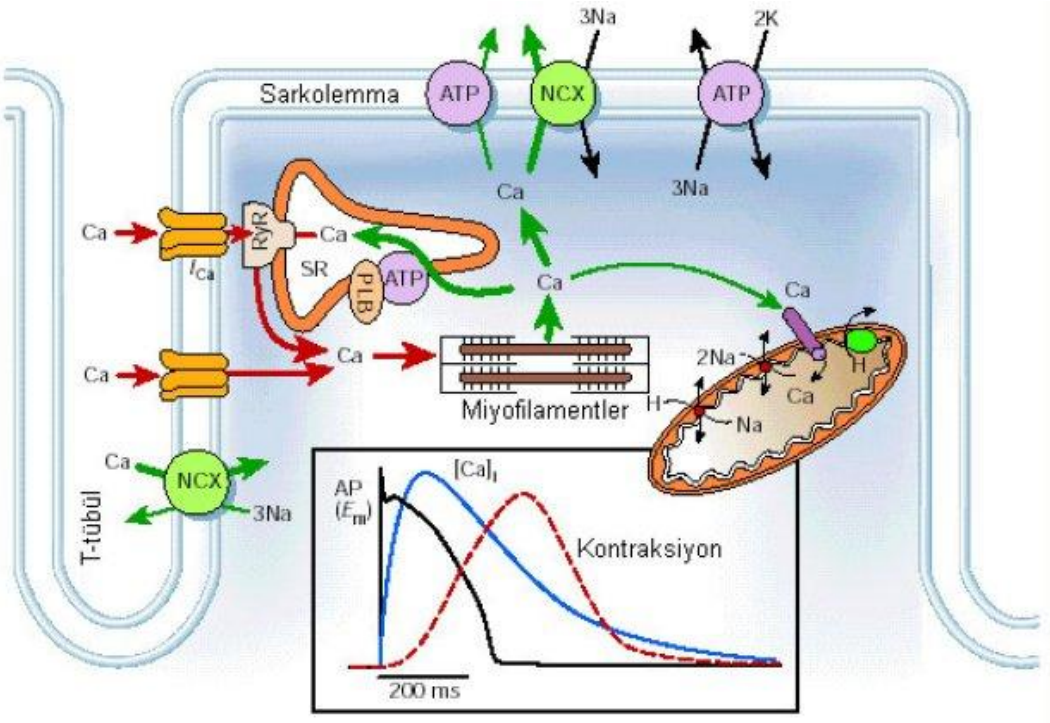
c) **Sarkoplazmik retikulum Ca^{+2}- pompası (SERCA):** Sarkoplazmadan, sarkpolazmik retikulum (SR) içine ATP'ye bağlı bir şekilde Ca^{+2} taşınımını sağlar.

d) **Na^+/Ca^{+2} değiş – tokuşcusu (NCX):** Her döngüde 1 Ca^{+2} karşılık 3 Na^+ yer değiştirilir. Bu işlemde esas amaç Na^+ kimyasal gradiyenti kullanılarak Ca^{+2}'un hücre dışına atılması sağlamaktır. Taşınımın zar potansiyeli ile Ca^{+2} ve Na^+ kimyasal gradiyenti doğrultusunda düzenlenmesi; AP'nin başlangıcındaki depolarizasyon evresinde, Ca^{+2}'un geri alımına ve Na^+'un ise hücreden atılımına, bunu takiben repolarizasyonun başlaması ile Na^+'un geri alımına ve Ca^{+2} atılımına yol açar[36].

2.2.3 Kalp Kasının Uyarılma-Kasılma Çiftlenimi

Kalp kası hücresini saran sarkolemmanın elektriksel olarak eksitasyonu ile başlayıp kalbin kasılması ile sonlanan olaylar zincirinin tümü uyarılma-kasılma çiftlenimi (excitation-contraction coupling) adı verilir. Bir ikincil mesajcı olan Ca^{+2} hem kardiyak elektriksel aktivite hem de miyofilamanların doğrudan aktivatörü olması nedeniyle kasılma için gereklidir[38]. Hücre içi Ca^{+2}'un miyositler tarafından normal

kontrol edilememesi kontraktil fonksiyon bozukluklarına neden olabildiği gibi pek çok patofizyolojik durumun sebebi olarak da gösterilmektedir[43]. Kardiyak AP sırasında, L tipi Ca^{+2} kanallarından hücre içine giren Ca^{+2} SR'dan daha fazla Ca^{+2} salınmasını tetiklemektedir (Ca^{+2} induced Ca^{+2} release). Salınan ve hücre dışından içeriye giren Ca^{+2} sitoplazmada serbest Ca^{+2} derişimini ($[Ca^{+2}]i$) yaklaşık 100nM'dan 1µM seviyesine yükselttiğinde troponin C'ye bağlanmakta ve kasılma mekanizmasını tetiklemektedir (Şekil 2.2). Troponin C- Ca^{+2} kompleksi tropomiyozin ile etkileşerek aktin ve miyozin miyofilamentleri arasındaki aktif bölgelerin açığa çıkmasını ve çapraz köprülerin oluşmasını sağlamaktadır. Böylece, sarkomer boyu kısalmakta ve kasılma gerçekleşmektedir. Miyositler için gevşeme sürecinin başlaması ise $[Ca^{+2}]i$'un azalması ve bağlı bulunan Ca^{2+}'un ayrılması ile gerçekleşmektedir. Uyarılma ile artmış olan $[Ca^{+2}]i$'un azaltılması dört farklı yolakla geçekleşmektedir[38]. Bunlar; SR Ca^{2+}-ATPaz, NCX, sarkolemmal Ca^{+2}-ATPaz ve mitokondriyal Ca^{+2}'un tek yönlü (uniport) taşınımıdır.



Şekil 2.2: Papiller-Ventriküller hücrelerinde Ca^{+2} düzenlenmesi. Çerçeve içindeki küçük şekil AP, geçici Ca^{+2} değişimi (Ca^{+2} transient) ve kasılmanın zamansal değişimlerini göstermektedir. Kısaltmalar; NCX, Na+/ Ca^{+2} değiş-tokuşu; ATP, ATPaz; PLB, fosfolamban; SR, sarkoplazmik retikulum.[39]

2.3. Deneysel Diyabet

Kan glikozunun kontrolsüz bir şekilde artması ve hiperglisemi olarak tanımlanan Diabetes mellitus'un (DM) başlıca iki tipi olup, hastalığın insanlar arasında görülme olasılığı giderek artmaktadır. Tip 1 diyabete insülin yetmezliği neden olurken, tip 2' de reseptörlerin insüline karşı direnç kazanmasıyla patoloji oluşmaktadır[44]. Kan glikoz düzeyinin kronik olarak yüksek olması sonucunda ortaya çıkan pek çok ölümcül komplikasyonun incelenmesi ve tedavisinin geliştirilmesinde deneysel diyabet modellemeleri önemli bir yer teşkil etmektedir. Deneysel diyabet oluşumu için çeşitli yollar olmasına karşın, kimyasal yolla yapılan diyabet modellemeleri daha yaygındır. Bu modellemede kullanılan en yaygın kimyasal ajanlar streptozotocin (STZ) ve alloxan' dır[45]. Her iki kimyasalla da diyabetin tüm ikincil etkileri gözlenebilmesine karşın, nekrotik gelişimler göstermemesi nedeni ile STZ alloxan daha çok tercih edilmektedir[36,45].

2.3.1. Deneysel Diyabetik Kardiyomiyopati

Diyabetin geç dönem komplikasyonları içinde yerini alan diyabetik kardiyomiyopati, yaşam kalitesini düşüren ve diyabet kaynaklı ölümlerin en temel sebeplerinden birisidir[46]. Diyabetik kardiyomiyopati'nin deneysel yolla diyabet yapılmış sıçanlarda aterosklerotik değişikliklerden bağımsız bir şekilde kalp kası hücrelerinde mekanik, biyokimyasal ve morfolojik değişimlerden kaynaklandığı gösterilmiştir[46]. Bu bozukluklar, en temelde ventriküler kasılma ve gevşeme sürelerinin uzaması olarak tanımlanmaktadır. Deneysel yolla diyabet yapılmış sıçanlarda bu bulgular kalbe yüklenim (örneğin; egzersiz) sırasında daha da belirgin bir şekilde gözlenmektedir[47]. Streptozotocin enjeksiyonu sonrası görülen ölümler konjestif kalp yetmezliği ile orantılı olmaktadır[47]. Sıçanlar ateroskleroz gelişimine göreceli olarak dayanıklı olduklarından, STZ ile yapılan diyabet sonunda oluşan patolojinin diyabetik kardiyomiyopatiye benzediğine inanılmasına karşın[48], altında yatan olaylar tam olarak açıklanmamıştır. Yapılan çalışmalar ışığında kardiyomiyositlerde gözlenen değişimlerin mekanizmasına ilişkin bilgiler şu şekilde özetlenebilir;

1) Elektrofizyolojik Değişiklikler: STZ ile yapılan deneysel diyabetik hayvan model çalışmaları ile ilk kez 1980 yılında Fein ve arkadaşları, toplam AP süresinin

uzadığını, kasılma ve gevşeme hızlarının (±dT/dtmax) azaldığı ve ventriküller AP genliğinin azaldığını rapor etmişlerdir. Ancak diğer araştırmacılar diyabetik sıçan ventrikül hücrelerinin dinlenim zar potansiyelinde ve maksimum depolarizasyon hızında bir değişme gösteremezken, AP süresindeki uzamayı gözlemişlerdir [36].

Diyabetli hayvan kalbi ventrikül bölgesinden izole edilen hücrelerden yapılan kayıtlarda da AP sürelerinin uzadığı ve dinlenim zar potansiyelinin değişmediği gözlenmiştir[45-52]. Repolarizasyon evresindeki bu uzamadan zarı repolarize edici K^+ akımlarının sorumlu olduğu gösterilmiştir. Değişik tipleri bulunan bu K^+- akımlarından I_{K1}'da hiçbir değişiklik gözlenmezken, Ito ve Kararlı durum potasyum kanal akımı (Iss) akım yoğunluklarının azaldığı gözlenmiştir [40-50,51].

2) Hücre içi Serbest Ca^{+2} Homeostazındaki Değişiklikler: Diyabet oluşumundan sonra miyokardiyal Ca^{+2} metabolizmasının bozulduğu, SR tarafından Ca^{+2}'un (Ca^{+2}) geri alınımının ise azaldığı görülmüştür[52,53]. Buna bağlı olarak diyabetik sıçanlarda [Ca^{+2}]i florometrik boyalarla yapılan ölçümlerinde [Ca^{+2}]i'daki değişme süresinin (transientlerin çıkışları ve inişleri) uzadığı bildirilmiştir[54]. Bu uzamanın altında yatan mekanizmayı açıklamaya yönelik çalışmalardan elde edilen sonuçlar:

1. Ryanodin reseptör protein miktarında azalma[52],
2. SR Ca^{+2}-ATPaz protein miktarında ve Ca^{+2} geri alınım aktivitesinde azalma [52,53,54],
3. Fosfolamban protein miktarında artış ama fosforilizasyon yetisinde azalma [54],
4. SR Ca^{+2} depolama yetisinde azalma [54],
5. Ne ICaL ne de kanal protein miktarında bir değişim olmaması[54] şeklinde özetlenebilir.

2.3.2 Diyabet ve Miyokard Enerji Metabolizması

Diyabetin, akut hasar almış bir kalpte metabolik enerji kullanımını ya da oluşumunu bozduğu ileri sürülmüştür, çünkü kalbin normal sistolik ve diyastolik fonksiyonlarını yerine getirmesi için ATP ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat bileşiklerini hızlı ve etkili bir biçimde sentezleyebilmesi gerekmektedir. Diyabet ve kalp yetmezliği birlikteliğini açıklayan en eski ve en geçerli hipotez; azalmış oksijen ya da artmış iş yükü zemininde diyabetin kalbin ATP sentez yeteneğini bozulduğu

görülmüştür. Normal iş yükü ve aerobik şartlarda, kalp, enerjisini esas olarak dolaşımdan gelen serbest yağ asitlerinin terminal oksidasyonundan elde eder. Glikoz metabolizması ise daha az önem taşımaktadır[56]. Glikoz ve serbest yağ asitleri, miyokard substratı olarak, birbirlerinin metabolik yollarında görevli hız kısıtlayıcı enzimler üzerine inhibitör etki göstererek yarış içindedirler.

Hayvan modellerinin gerek gözlemsel, gerekse sitokiometrik incelemelerinde hipoksi ya da iskemi varlığında glikoliz ve glikoz oksidasyonunun hem kalitatif hem de kantitatif olarak önemli ATP kaynakları olduğu izlenmiştir. Bu sebeple yapılan birçok çalışmada gerek koroner kan akımının azalması gerekse tamamen kesilmesinden hemen sonra glikolitik yolun hızlandığı doğrulanmıştır. Miyokard enerji üretiminde glikolizin öne geçme sebebi; transmembran sodyum ve potasyum gradientlerinin korunması gibi hücresel canlılığın devamında gerekli ATP'nin sentezi için olduğu düşünülmektedir. İskemiye maruz bırakılmış izole sıçan kalplerinde postiskemik reperfüzyondan sonra, glikolitik yoldan ATP oluşum hızıyla sistolik ve diyastolik fonksiyonların geri kazanılma hızı paralel gözükmektedir[57].

Temelde spesifik olarak, insülin (fosfoinozitol 3 kinaz aktivasyonuyla etki eder) insüline duyarlı glikoz transportırı olan GLUT-4 ü intrasellüler depolardan sarkolemmaya transport ederek sarkolemmadaki glikoz transportunu uyarır. Miyokardın iskemiye toleransında sarkolemmal GLUT-4 translokasyonunun önemi kalbe özgü GLUT-4 taşıyıcı sistemi bulunmayan izole fare kalplerinin post iskemik dönemde sistolik ve diyastolik fonksiyonlarının daha geç düzeldiğini gösteren çalışmalar ile anlaşılmıştır[58]. Bu gözleme dayanılarak tip 2 diyabetin GLUT-4 taşıyıcı sisteminin translokasyonunu ve kalp kasına glikoz girişini azaltması yoluyla iskemiye karşı miyokard yanıtını bozduğu düşünülmektedir. Uygunsuz insülin salınımı sonucunda kas dokusuna yetersiz glikoz girişi, diyabetin hem temel patofizyolojisi hem de ilk klinik bulgularından birisi olması sebebiyle oldukça önemli bir konudur.

2.4 Diyabetin Farmakolojik Tedavisi

Tip 2 diyabetin tedavisi, gerek mikrovasküler gerekse makrovasküler komplikasyonların önlenmesi açısından çok önemlidir. Plazma glikoz seviyelerinin mikrovasküler komplikasyonlarla ilişkisi açık olarak gösterilmiştir (retinopati,

nefropati), Ve kullanılan ajan ne olursa olsun normal, normal-yüksek glikoz seviyelerini yakalamanın bu komplikasyonları önlediği en azından yavaşlattığı bilinmektedir[59,60]. Her ne kadar mikrovasküler komplikasyonlar ciddi sakatlıklara ve maddi kayıplara neden olsa da sol ventrikül hipertrofisi (SVH), koroner arter hastalığı ve periferik arter hastalığı gibi makrovasküler komplikasyonlar normal popülasyona göre anlamlı olarak daha fazla görülmektedir.[61,62]. Başta koroner arter hastalığı olmak üzere makrovasküler komplikasyonların önlenmesi mikrovasküler kompliksyonları önlemek kadar kolay değildir. Sıkı glisemik kontrolün kardivasküler olayları azalttığını gösteren kanıtlar olsa da bu yarar çok az gibi Görünmektedir[60]. Bu yüzden bugüne kadar, tip 2 diyabet hastalarında makrovasküler komplikasyonları önlemek için bilinen klasik kardiyovasküler risk faktörlerinin sıkı tedavisine çalışılmıştır (dislipidemi, obezite, hipertansiyon, sigara). Bu tip hastalarda diğer bağımsız risk faktörleri tanımlanmış olsa da (homosistein) bunları modifiye edecek çok fazla ilaç yoktur. İşte bu nedenle son yıllarda American Food and Drug Administration (FDA) tarafından kullanım onayı almış olan Thiazolidinedion (TZD) grubunda yer alan roziglitazon (RZG) kan glikoz düzeylerini düşürmenin ötesinde bilinen Hemoglobin A1 c, Homosistein ve serbest yağ asitleri üzerinde etkili olduğu kadar umut verici ve ilgi çekici gruptur.

2.4.1 Thiazolidinedion'lar

Yeni sınıf oral hipoglisemik ajanlardır. Şu anda piyasada Roziglitazon (Avendiya) ve Pioglitazone bulunmakta olup Troglitazone ciddi karaciğer toksisitesi nedeniyle piyasadan çekilmiştir[9,63,64].

TZD'lerin hipoglisemi etkisi insülin sensitivitesini arttırarak periferik dokuların glikoz kullanımını arttırmak yoluyla olmaktadır. Etki mekanizması tam olarak anlaşılmasa da genel olarak kabul gören hipotez; TZD'lerin nükleer peroksizom proliferatör–aktive reseptör gamma (PPAR-γ) ya bağlanarak insülin duyarlılığını değiştirdiği şeklindedir. Adipositlerde yoğun olmak üzere daha az oranda miyosit ve diğer dokularda bulunan bu reseptörler glikoz ve lipid metabolizmasında görevli proteinleri kodlayan birtakım genlerin ekspresyonunu stimüle ederler. Adipoz dokudaki temel görevleri arasında pre-adipositlerin adipositlere dönüşümünün uyarılması yanında, lipogenezi ve yağ asitlerinin alımını arttırması vardır. Bu "yağ asidi

hırsızlığının" sonucunda glikozun kasdaki nonoksidatif metabolizması uyarılır ve hepatik glukoneogenez baskılanır [9,63,64].

Yararlı etkileri aşağıdaki gibi özetlenebilir;

1) Glikoz kontrolü: Açlık ve tokluk plazma glikozunu düşürdükleri birçok çalışmada gösterilmiş olup HbA1c seviyelerini %0,5-1,5 oranında azaltmaktadırlar[65,66].

2) İnsülin direnci/hiperinsülinemi: Plazma glikozunu düşürmeleri yanında, TZD'ler aynı zamanda dolaşımdaki insülin seviyesini düşürür ya da glisemik kontrol için gerekli olan insülin seviyelerini azaltır. İnsülin rezistansındaki azalma periferik dokuların glikoz kullanımını arttırır ve bazı özel durumlarda karaciğer bazal glikoz üretimini azaltır[67,68].

3) Dislipidemi: TZD'ler ile yapılan birçok çalışmada bu ilaçların HDL seviyelerini % 5 ile % 15 oranında arttırdıkları ancak bu artışın sadece HDL3 subfraksiyonunda olduğu görülmüştür. Trigliserid seviyelerine olan etkileri ise daha tartışmalıdır. Troglitazone ve Pioglitazone kullanılarak yapılan birçok çalışmada plazma trigliserid seviyelerinde %10-20 oranında düşüş görülürken bu etki Roziglitazone ile görülmemiştir[59-60]. Genel olarak TZD'ler dolaşımdaki serbest yağ asitlerini azaltırlar ve bu etkinin insülin rezistansını kırmaya yönelik mekanizmaya katkıda bulunduğu düşünülmektedir[69].

4) Hipertansiyon: Troglitazone kullanılarak yapılan birçok çalışmada gerek hipertansif gerekse normotansif tip 2 diyabetiklerde kan basıncında düşme gözlemlenmiştir. Bu düşüş 3 mmHg ile 9 mmHg ortalama arteryel basınç düzeylerindedir[70,71].

5) Mikroalbüminüri: Troglitazone ve Roziglitazone kullanılarak yapılan çalışmalarda, tip 2 diyabeti ve mikroalbüminürisi olanlarda üriner mikroalbümin/kreatinin oranlarında %60 lara varan düşüşler görülmüş olup bu etkinin plazma glikoz seviyelerinden ve kan basıncı etkisinden bağımsız oluştuğu düşünülmektedir[72,73].

7) Yağ dokusu dağılımı: Troglitazone kullanılarak yapılan çeşitli çalışmalarda bu ajanın selektif olarak intra abdominal (viseral) yağ dokusunu azaltıp, periferik subkutan yağ dokusunu arttırdığı ve bu sayede total yağ dokusunu arttırdığı gösterilmiştir[74,75]. Bu özellik çok ilgi çekici ve potansiyel olarak önemlidir; çünkü obezlerdeki insülin rezistansının asıl sorumlusunun intra abdominal yağ dokusu olduğu

gösterilmiştir. Bilindiği üzere gerek kalori kısıtlaması gerekse ekzersiz yardımıyla intra-abdominal yağ dokusunun azaltılması başta insülin rezistansı olmak üzere metabolik sendromun diğer komponentlerini ortadan kaldırabilmektedir[76].

8) Pankreas beta hücrelerinin insülin salgılaması: Bozulmuş açlık glikozu ve tip 2 diyabeti olan hastalarda TZD kullanımıyle β hücre sekresyon kapasitesinde hem kısa hem de uzun vadede artış olduğuna ilişkin artan sayıda kanıtlar oluşmaktadır.[77] Mekanizması tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte son dönemlerde yapılan bir çalışmada insülin adacık hücrelerinde PPAR-gamma reseptörlerinin çok sayıda eksprese edildiği görülmüştür[78].

2.4.1.1 Roziglitazonun Etkisi

Antidiyabetik ajanlardan TZD sınıfının bir elemanı olan roziglitazon (RZG) insülin duyarlılığını geliştirerek glisemik kontrolü sağlar. PPAR gammanın yüksek düzeyde seçici ve etkin bir agonistidir. Yapılan çalışmalarda RZG; vaskuler düz kas hücrelerinde, farklı iyon kanallarına etki ettiğini gösterilmiştir. Ayrıca vaskuller düz kasta L tipi Ca^{+2} akımları ve voltaj kapılı K^{+} kanal akımları için kuvvetli bir inhibitör etkiye sahiptir. Çin hemster Over hücrelerinde Patch klamp tekniği ile yapılmış çalışmada; Shaker grubu ailesinden Kv 1,3 gecikmiş doğrultucu K^{+} kanal akımının amplitüdünün azalttığını ve kanal blokörü gibi davrandığı gösterilmiştir[79]. RZG'nin diyabetik sıçan papiller kalp kasının biyomekanik ve biyoelektrik etkisine bakılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

2.4.2 Diyabetik Sıçanlarda İnsülinin Papiller Kalp Kasına Etkisi

Diyabet hastalarında diğer populasyonlara oranla kardiyovasküler hastalıklar daha yaygın ve ölüm oranı daha fazladır. İnsüline bağımlı diyabetes mellitusun önemli kardiyovüskaler komplikasyonlarından biride erken diastol ve geç sistol fonksiyonundan kaynaklanan diyabetik kardiomiyopatidir ve kardiak miyositlerin hipertrofisi ve son olarak kalp yetmezliği'de birer nedendir[80].

Diyabetik kardiyomyopatinin mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamış, Bununla beraber çok önemli mekanizmalar olan metabolik rahatsızlıklar (GLUT 4'un azalması, serbest yağ asitlerinin artışı, kalsiyum homeostazindaki değişiklikler), damar

hastalıkları (mikroanjiyopati, koroner akımda bozulma ve endotel disfonksiyon), kardiak otonomik nöropati (myokardial ketakolamin düzeylerinin değişmesi) ve insülin direnci önemli bir yer tutmaktadır[80].

Deney hayvanlarında STZ ile oluşturulan diyabet, sıçanların kalp kasın kasılmasında azalma ve bu myokardial kalsiyum metabolizmasında değişmeler yaptığını; SR'dan Ca^{+2} salınımının azalması, sarkolemmal Ca^{+}-ATPase, Na^{+}-Ca^{+} değişimi, L tipi kalsiyum akımı ve riyanodine duyarlı Ca^{+2} kanalları, çapraz-köprü döngü oranını azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Atrial ve ventriküler dokuda aksiyon potansiyelleri genliklerinin düştüğü yönünde çalışmalar mevcuttur.

İnsülin; karbonhidrat. lipit ve protein metabolizmalarının çok önemli bir düzenleyicisidir. Genel olarak kalp kasılma kuvveti üzerine insülinin etkileri, pozitif inotropik etkiye sahip olduğu guinea pig ve tavşanlarda gösterilmiştir[80].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında, Şubat 2006-Nisan 2007 tarihleri arasında yapılmıştır. Deneyler Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (TIPDAM) Etik Kurulu Yönergesine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

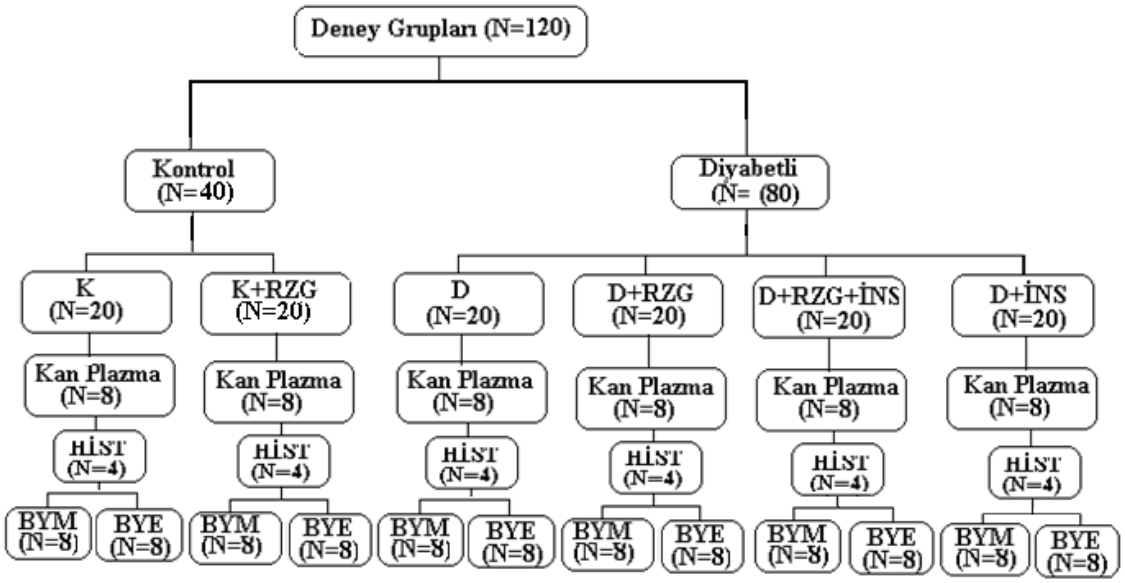
3.1 Deney Hayvanı

Çalışmada başlangıç ağırlıkları 270-300 g arasında değişen Wistar türü albino erkek sıçanlar kullanılmıştır. Bu hayvanlar Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden sağlanmıştır. Sıçanlar araştırma süresince çelik kafeslerde, her kafeste en fazla 5 hayvan olacak şekilde tutulmuştur. Hayvanlar bu süre içinde istedikleri kadar su içip yem yiyebilmişlerdir. Barındırıldıkları oda, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Ayrıca laboratuarın oda sıcaklığı termometre ile ve nemi higrometre ile ölçülerek, oda sıcaklığı 23±1°C 'yi aşmaması için split klima kullanılmış ve oda aspiratör ile havalandırılmıştır.

3.2 Deney Gruplarının Oluşturulması

Denekler önce diyabetsiz ve diyabetli olmak üzere iki gruba ayrıldı. Daha sonra Kontrol grubu Roziglitazon uygulanmamış kontrol (K) (N=20) ve Roziglitazon uygulanmış kontrol (K+RZG) (N=20) gruplarına ayrıldı. Diyabetli gruplar; Diyabetli (D) (N=20), Diyabet+Roziglitazon, (D+RZG) (N=20), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) (N=20) ve Diyabet+İnsülin (D+İNS) (N=20) gruplarına ayrıldı (Şekil 3.1). Deneyin başlangıcında ve haftada birer kez olmak üzere sekiz hafta boyunca tokluk plazma glikoz düzeyleri ve ağırlık değişimleri ölçüldü. Her gruptan biyokimyasal parametreler için sekizer hayvandan intrakardiyal kan alındı. Kontrol (K) (N=4) ve kontrol+RZG (K+RZG) (N=4) gruplarından elektromikroskobik inceleme için sıcan sol papiller kalp kası (N=8) preparatları alındı. Kontrol gruplarından Biyomekanik (BYM) (N=8), Biyoelektrik (BYE) (N=8) parametreler için toplam 16 adet Sol papiler kalp kası preparatları kullanıldı. Aynı şekilde diyabetli (D (N=4), D+RZG (N=4), D+RZG+İNS (N=4) ve D+İNS (N=4)) gruplarından;

elektromikroskobik inceleme için her gruptan 4 preparat olmak üzere toplam 16 preparat alındı. Yine diyabetli gruplardan her grup için biyomekanik (BYM) (N=8) ve Biyoelektrik (BYE) (N=8) ölçümler için toplam 32 adet sıçan sol papiller kalp kası preparatı kullanıldı.



Şekil 3.1 Deney gruplarının dağılım diyagramı (Kontrol (K), (Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), Diyabet+İnsülin (D+İNS)).

3.3 Sıçanların Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi

Sekiz hafta boyunca her haftanın son günü altı grupta bulunan sıçanların ağırlıkları Takonik Rat Scale (Şekil 3.2) marka terazi ile ölçüldü. Sıçanların kilo değişimleri haftalık olarak kayıt edildi. Gruplar arasındaki değişimler karşılaştırıldı.



Şekil 3.2 Sıçanların ağırlıklarının ölçülmesinde kullanılan terazi.

3.4 Sıçanlarda Kan Glikoz Düzeylerin Ölçülmesi

Sekiz hafta boyunca her haftanın son günü altı grupta bulunan sıçanların kan glikoz düzeyleri optimum H (Medisense) kan glikoz elektrotlarını kullanarak ACCU-CHEK (Şekil 3.3) marka glikozmetre ile ölçüldü. Kan glikoz değişimleri haftalık olarak kayıt edildi. Gruplar arasındaki değişimler karşılaştırıldı.



Şekil 3.3 Sıçanların kan glikoz düzeylerinin ölçülmesinde kullanılan glikozmetre.

3.5 Diyabetin Oluşturulması

Sıçanlarda diyabet; eter anestezisi altında kuyruk veninden 0,1 M soğuk sitrat tampon çözeltisi (pH 4,5) içinde çözülmüş 45 mg/kg streptozotosin (STZ) (S - 0130 Sigma) verilerek oluşturuldu. Kontrol grubundaki hayvanlara ise hiçbir işlem yapılmadı. Enjeksiyondan sonra hayvanlar kafeslerde anesteziden çıkıncaya kadar gözlem altında tutuldu. İzleyen günlerde günde bir kez kontrolden geçirildi. Tüm hayvanların kan glikoz düzeyleri; STZ enjeksiyonundan sonraki 72 saat içinde optimum H (medisense) kan glikoz elektrodu kullanılarak ACCU-CHEK (Şekil 3.3) marka glikozmetre ile test edildi. Sıçanlar, enjeksiyonu izleyen on günlük dönemde izlendi ve diyabetik sıçanların kan glikoz düzeyleri stabil oldukları gözlendi.

3.6 Diyabetik Hayvanların Bakımı

Tüm deney süresince sıçanlar her kafeste beş hayvan olacak şekilde yerleştirildi. Her gün kafes temizliği yapıldı. Hayvanlar devamlı olarak %24 proteinli palet yem ile beslendi. Başka ilave yem ve antibiyotik kullanılmadı. Suları normal çeşme suyu olup, günde bir kez değiştirildi. Çalışma süresince sıçanların bulunduğu odanın sıcaklığı 23±1 °C ‘de tutuldu.

3.7 Farmakolojik Ajanların Verilmesi

a) NPH-İnsülin (İNS): STZ (45 mg/kg) ile oluşturulan diyabetin şiddetine bağlı olarak, günde 1 IU insülin, subkutan yoldan enjeksiyon ile iki ay boyunca sabah akşam olmak üzere günde iki defa yapılmıştır.

b) Roziglitazon (RZG): Roziglitazonun klinik uygulaması 4mg/kg/gün dir. Deney hayvanlarına iki ay boyunca 4mg/kg Roziglitazon gavaj yoluyla sabah akşam olmak üzere günde iki defa verildi.

c) Roziglitazon (RZG)+ NPH-İnsülin (İNS): Deney hayvanlarına iki ay boyunca 4mg/kg Roziglitazon, sabahları günde bir defa gavaj yolu ile insülin ise 1 IU subkutan yoldan sabah akşam olmak üzere günde iki defa enjeksiyon ile yapılmıştır.

3.8 Kayıt ve Gözlem Sistemi

Sıçan sol papiller kalp kası Nihon-Kohden elektronik stimülatörü (SEN-3301) ve SS-201 J izolatör ünitesi manüel tetiklenerek supramaksimal ve 0,2 ms süreli kare pulslarla uyarıldı. Membran ve aksiyon potansiyellerin kayıtlanması ise Nihon-Kohden (MEZ-7200) mikroelektrot yükselteci, Hitachi VC45 marka dijital storage osiloskopla kaydedildikten sonra BİSİP ver 2.0 programı ile bilgisayara kayıtlandı

3.9 Çözeltiler

a) Krebs çözeltisi: litrede mM olarak 113 NaCl, 4,7 KCl, 1,2 $MgSO_4$, $7H_20$, 1,9 $CaCl_2$, $2H_20$, 1,2 KH_2PO_4, 25 $NaHCO_3$ ve 11,5 Glikoz. Çözeltiler bidistile su ile hazırlandılar ve bütün çözeltiler % $95O_2$-%5 CO2 ile gazlandırıldı. Çözeltilerin pH'ları 7,4-7,45 olarak ayarlandı. pH'ların ayarlanmasında yeterli miktarlarda NaOH veya HCl kullanıldı.

b) Sitrat tamponu: 0,1 M'lık sitrat tamponu, 0,1 M sitrik asit ile trisodyumsitrat karıştırılarak elde edilir. Karışımın pH 4,5'tur. Sıçanlara enjekte edilmeden önce karışım steril edildi. STZ: Steril edilmiş sitrat tamponu içinde çözülerek hazırlandı.

3.10 Sıçan Papiller Kalp Kas Preparatının Hazırlanması

Sıçanlara, eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı. Sonra göğüs kafesi açılarak kalp ortaya çıkarıldı. Kalp hızlı bir şekilde yerinden çıkarılarak önceden gazlandırılmış (%95 O_2 ve % 5 CO_2 ile), (litrede mM;113 NaCl, 4,7 KCl, 1,2 $MgSO_4$, $7H_20$, 1,9 $CaCl_2$, $2H_20$, 1,2 KH_2PO_4, 25 $NaHCO_3$ ve 11,5 Glikoz ve pH 7,4) Krebs çözeltisi içerisine alındı. Yine aynı çözelti içeren tabanı parafin kaplı petri üzerine konan kalp, aort tabana gelecek şekilde iğne yardımıyla hem aorttan hem de kalbin apeksinden parafine sabitlendi. Büyüteç altında sol atriyum kesilerek, sol ventrikül duvarı hilal şeklinde açıldı. Herhangi bir fiziksel hasar verilmeden tek ucundan 7/0 ipek iplikle bağlanan sıçan papiller kasları, korda tendinayı içerecek şekilde izole edildi.

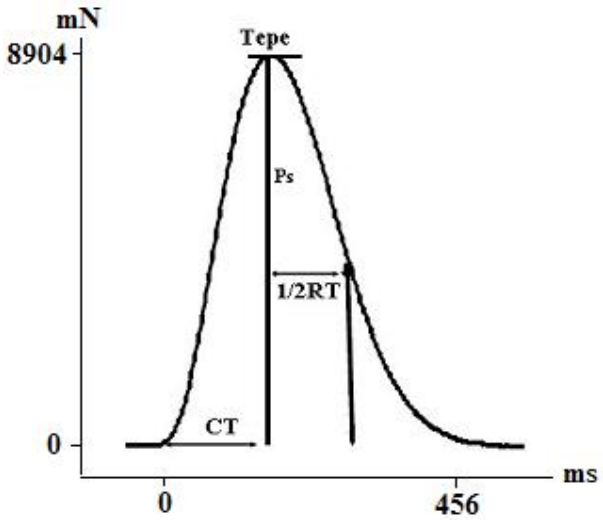
3.11 Organ Banyosu

İzole edilen preparat, çelik elektrodlar arasına uygun tarzda yerleştirildi. Sonra içinde 20 ml Krebs çözeltiunu bulunduran ve sıcaklığı 30℃'a ayarlanmış organ banyosuna alındı. Bir saatlik sıçaklık dengesi ve dengelenme periyodundan sonra supramaksimal uyaran voltajı ve optimum kas boyu (maksimum kas gerimini veren boy) belirlendi. Kas bu gerim altında 10 dakika bekletildikten sonra, 0,5 ms süreli ve 0,1 Hz frekanslı kare pulslarla supramaksimal olarak 10 dakika boyunca uyarılıp hazırlık dönemi tamamlandı. Bu hazırlık döneminden sonra tek uyarılarla kalp kasılma kasılma eğrileri kayıtlandı ve bunlardan kasılma kuvveti (Ps), kasılma süresi (CT), yarı gevşeme süresi (1/2RT), kasılama hızı (+dp/dt) ve gevşeme hızı (-dp/dt) belirlendi

3.12 Biyomekanik Parametrelerin Ölçülmesi

Daha önce tarif edilen yönteme göre sol papiller kas preparatı hazırlandı. Preparat çelik elektrotlar arasına uygun şekilde yerleştirildi ve banyo sıcaklığı 30°C' de sabit tutulan ve krebs çözeltisi içeren izole organ banyosuna asıldı. Banyo sıvısı devamlı %95 O_2- %5 CO_2 gaz karışımı ile gazlandırıldı. Bütün gruplara ait sol papiller kalp kasları, optimum boyları bulunduktan sonra, hazırlık dönemi boyunca 0,5 ms süreli 0,1 Hz frekanslı (15-20 V luk) kare pulslarla 10 dakika süresince supramaksimal olarak direkt uyarıldı. Supramaksimal uyarının %20'sinden fazla uyarı ile kas cevapları

izometrik kuvvet çevireci ile dijital storage osiloskopla ve BİSİP versiyonu 2.0 programı ile bilgisayara kayıtlandı. Her gruptaki sol papiller kalp kasları önce tek supramaksimal kare pulslarla direkt uyarılarak izometrik sarsı kasılmaları kaydedildi (Şekil 3.4). Bilgisayara kayıtlanan sarsı eğrilerinden, program aracılığı ile sarsı kasılma kuvveti (Ps), kasılma süresi (CT) ve yarı-gevşeme süresi (½RT) parametreleri belirlendi. Eğrilerden; aynı zamanda kasılma ve gevşeme hızlarının parametreleri hesaplandı. Biyomekanik parametrelerin ölçümünde kullanılan düzenek Şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.4 İzometrik sarsı parametreleri (Ps: Kasılma kuvveti (mN), CT: Kasılma süresi (ms), ½RT: Yarı - gevşeme süresi (ms)).

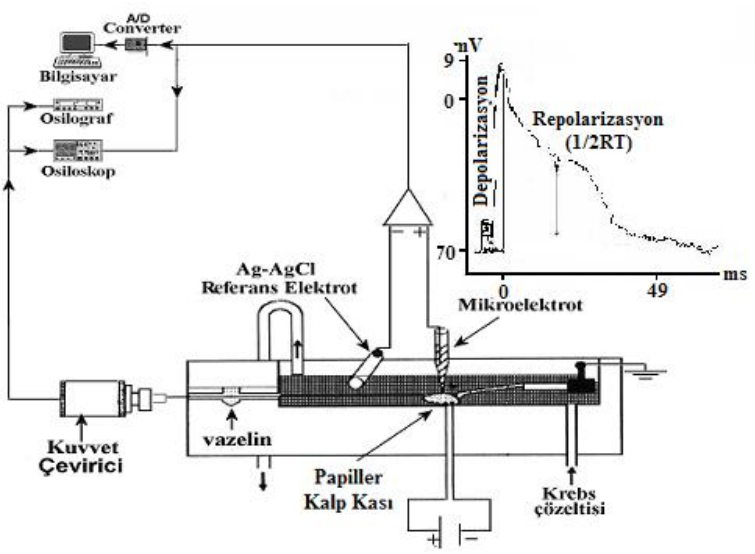


Şekil 3.5 Biyomekanik parametrelerin ölçümünde kullanılan düzenek.

3.13 Mikroelektrot Yöntemi

3.13.1 Aksiyon Potansiyelinin Kaydedilmesi:

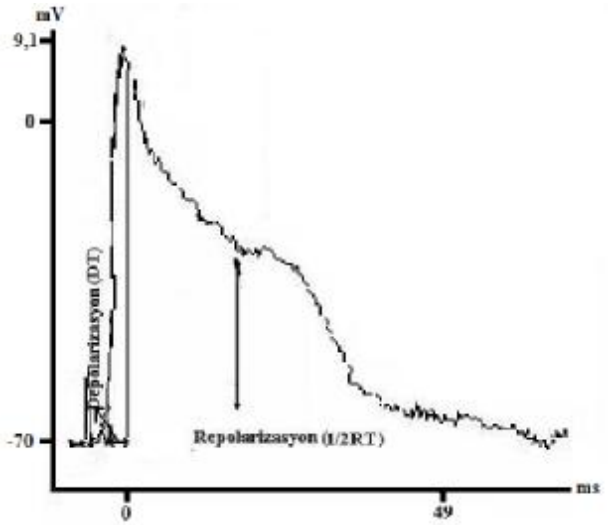
Hızlı bir şekilde çıkarılan kalp, önceden gazlanmış (%95 O_2 ve % 5 CO_2 ile), (litrede mM;113 NaCl, 4,7 KCl, 1,2 $MgSO_4$, $7H_20$, 1,9 $CaCl_2$, $2H_20$, 1,2 KH_2PO_4, 25 $NaHCO_3$ ve 11.5 Glikoz ve pH 7,4) Krebs çözeltisi içerisine alındı. Yine aynı çözeltiyi bulunduran tabanı parafinle kaplı petri içine konan kalpler aort tabana gelecek şekilde iğne yardımıyla hem aorttan hem de kalbin apeksinden muma sabitlendi. Büyüteç altında sol atriyum kesilerek, sol ventrikül duvarı hilal şeklinde açıldı. Herhangi bir fiziksel hasar verilmeden tek ucundan 7/0 ipek iplikle bağlanan papiller kas özel yapılan organ banyosu içine yerleştirildi. Kasın serbest olan iki ucundan iğne elektrotlarla banyo tabanındaki parafine sabitlendi ve organ banyosu içinde sürekli (%95 O_2 ve % 5 CO_2) gazlanmış Krebs çözeltiu ile perfüze edildi (30 ^{0}C'de). Kas örneklerinin dengeye gelmesi için 60 dakika beklendi. Daha sonra dengeye gelen sol papiller kalp kasından kayıt için; Intrafil marka borsilikat filamentli kapiller cam tüpler kullanılarak çekilen cam mikroelektrotların uç dış çapları mikrometre bölmeli mikroskop altında 0,5-0,6 µm olarak ölçüldü. Bu mikroelektrotlar 3 M KCl (empedans 15-25 MΩ) ile doldurudu. Mikroelektrotlar, 3 M KCl çözeltisi ile doldurulmuş olan mikroelektrot holder'ına yerleştirildi. Referans elektrot olarak Ag-AgCl Agar-jel elektrodu kullanıldı. Nihon-Kohden elektronik stimülatörü (SEN-3301) ve SS-201 J izolatörü ile manüel tetiklenerek supramaksimal 2 ms süreli kare pulslarla uyarıldı. Kayıtlama ise Nihon-Kohden (MEZ-7200) mikroelektrot yükselteci, Hitachi VC45 marka dijital storage osiloskopla kaydedildikten sonra BİSİP versiyonu 2.0 programı ile bilgisayara kayıtlandı (Şekil 3,6 ve Şekil 3,7). Banyo çözeltisinde bekleyen sol papiller kalp kası preparatından kasın dinlenim zar potansiyeli ölçüldü ve aksiyon potansiyelleri kayıtlandı. Bilgisayara kayıtlanan aksiyon potansiyeli eğrilerinden; Aksiyon potansiyelinin genliği (mV), Aşma potansiyeli (mV), depolarizasyon süreleri (ms), yarı-repolarizasyon süreleri (ms), aynı eğrilerden depolarizasyon hızı (+dp/dt) (mV/ms) ve repolarizasyon hızları (-dp/dt) (mV/ms) parametreleri ölçüldü. Bu kayıtların ortalamaları kullanılmıştır [dinlenim zar potansiyeli (V_D), Aksiyon potansiyeli genliği (AP), Depolarizasyon süresi (DT) ve yarı repolarizasyon süreleri (1/2RT)] (Şekil 3,8)



Şekil 3.6 Biyoelektrik parametrelerin kayıtlama tekniği.



Şekil 3.7 Mikroelektrot kayıt düzeneği. Mikroskop, mikromanipülatör, preamplifier ve preparat odası Faraday kafesi içinde bulunmaktadır.



Şekil 3.8 Papiller kalp kasından kayıtlanan aksiyon potansiyeli ve parametreleri.

3.14 Histolojik Çalışmalar

Sıçanlara, eter anestezi altında servikal dislokasyon yapıldı. Sonra göğüs kafesi açılarak kalp ortaya çıkarıldı. Kalpler hızlı bir şekilde çıkarılarak önceden gazlanmış (%95 O_2 ve % 5 CO_2 ile), (litrede mM;113 NaCl, 4,7 KCl, 1,2 $MgSO_4$, $7H_20$, 1,9 $CaCl_2$, $2H_20$, 1,2 KH_2PO_4, 25 $NaHCO_3$ ve 11,5 Glikoz ve pH 7,4) Krebs çözeltisi içerisine alındı. Yine aynı çözeltiyi bulunduran tabanı parafin kaplı petri üzerine konulan kalpler aort tabana gelecek şekilde iğne yardımıyla hem aorttan hem de kalbin apeksinden parafin tabana sabitlendi. Büyüteç altında sol atriyum kesilerek, sol ventrikül duvarı hilal şeklinde açıldı. Herhangi bir fiziksel hasar verilmeden papiller kaslar izole edildi.

Elektron mikroskobik değerlendirme için sol papiller kalp kasları alınan doku örnekleri hemen Millonig fosfat tamponu (pH 7,4) ile hazırlanmış %5'lik gluteraldehit çözeltisine yerleştirildi. Bir saat kadar bekletilerek tespit edilen doku parçaları, içinde bir miktar %5 gluteraldehit bulunan, dibi dişçi mumu ile kaplanmış petri kutularına alındı. Jilet yardımı ile yaklaşık 1 mm^3 büyüklükte parçalara ayrıldı. Doku parçaları tekrar %5 gluteraldehit çözeltisine alınarak 3 saat kadar tespit edildi. Böylece dokular toplam 4 saat kadar tespit edilmiş oldu. Daha sonra dokular Millonig fosfat tamponuna alınıp 10 dakika çalkalandı, yeniden hazırlanan ayni tampon içerisinde bir gece bekletildi. Dokular ertesi gün Millonig fosfat tamponuyla hazırlanmış %1 'lik Osmium tetroksit (OsO_4) çözeltisi ile ikinci defa tespit edildikten sonra, Millonig fosfat tamponu ile iki kez onar dakika yıkandı. Tüm bu işlemler buzdolabında +4°C'de gerçekleştirildi. Dokular daha sonra aşağıdaki sıraya göre dehidrate edildi:

%50 Etil alkolde +4°C'de 15 dak

%70 Etil alkolde +4°C'de 15 dak

%86 Etil alkolde +4°C'de 15 dak

%96 Etil alkolde +4°C'de 15 dak

%100 Etil alkolde +4°C'de 10 dak

%100 Etil alkolde +4°C'de 10 dak

%100 Etil alkolde +4°C'de 10 dak

Propilen oksitte oda ısısında 15 dak Propilen oksitte oda ısısında 15 dak. dehidrate edilen doku parçaları daha sonra aşağıdaki çözeltiler içerisinde daldırıldı.

Bir kısım propilen oksit + bir kısım gömme materyali 30 dakika

Bir kısım propilen oksit + bir kısım gömme materyali 30 dakika

Bu işlemlerden sonra doku parçaları içerisinde yeni hazırlanmış gömme materyali (rezin) bulunan tüplere alındı ve bir gece rotatorda karıştırıldı.

Gömme Materyali

Araldite CY212 20 mL

Sertleştirici HY964 20 mL

Hızlandırıcı DY064 20 mL

Plastikleştirici-Dibütil Fitalat 1 mL

Ertesi gün doku parçaları taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak polietilen kapsüllere gömüldü ve 60 ℃ etüvde 48 saat süreyle polimerize edildi. Daha sonra elde edilen bloklar etüvden çıkarılarak yavaş yavaş soğumaya bırakıldı. Bloklardan Reichert Ultracut S ultramikrotomu ile 500 A° kalınlığında kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere toplandı ve %70'lik etil alkolde doymuş uranil asetat ve Reynolds'un kurşun sitrat (Lead sitrat) çözeltileri ile boyandi. Boyanan kesitler Zeiss Elektron Mikroskobu 10 B ile incelendi. Mikrograflar Dupont filmler ile çekildi. Resimler fohar ve fortezo kartlarına basıldı.

3.15. Biyokimyasal Ölçümler

Alınan venöz kan örneklerinde, çöktürmesiz enzimatikkolormatik yöntemle; kolesterol, trigliserid, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol düzeyleri hastanemiz Biyokimya Laboratuarında Modüler marka (Roche/hitachi 904, 911, 912 ve 917 modüller analiz) cihaz kullanılarak belirlendi. Elde edilen verilerden; düşük yoğunluklu lipopretin (LDL) ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) kolesterol düzeyleri Friedman formülüyle hesaplandı.

3.15.1 Glikoz Ölçümü

Kuyruk venlerinden kan alınarak; optimum H (medisense) kan glikoz elektrotları kullanarak glukometre (Aquo- Check, Roche) (Şekil 3.3) ile kan glikoz ölçümü yapıldı.

3.15.2 Kolesterol Ölçümü

Prensip: Kolesterol, enzimatik hidroliz ve oksidasyondan sonra tespit edilir. Belirleyici kinonimin, H_2O_2 ve 4 aminoantipirinden oluşturulur. Tepkime fenol ve peroksidaz varlığında gerçekleşir.

$$\text{Kolesterol} + H_2O \xrightarrow{\text{Kolesterol esteraz}} \text{Kolesterol} + \text{yağ asidi}$$

$$\text{Kolesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{Kolesterol oksidoz}} \text{Kolestenon} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + 4\text{-aminoantipirin} \xrightarrow{\text{Peroksidaz}} \text{Kinonimin} + 4H_2O$$

3.15.3 Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol Ölçümü (HDL)

Prensip: Ölçüm aşağıdaki tepkimeler basamağından oluşmaktadır.

$$\text{HDL - Kolesterol} + H_2O \xrightarrow{\text{Kolesterol esteraz}} \text{HDL - Kolestenon} + \text{yağ asidi}$$

$$\text{HDL - Kolesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{PEG Kolesterol oksidaz}} \text{Kolestenon} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + 4\text{-aminoantipirin} + \text{HSDA} + H^+ + H_2O \xrightarrow{\text{Peroksidaz}} \text{Mor - mavi pigment} + 5H_2O$$

3.15.4 Trigliserid Ölçümü

Prensip: Trigliseridlerin lipaz enzimi ile hidrolizi sonucu gliserol ve yağ asitleri açığa çıkar. Gliserol, ATP varlığında gliserol kinaz enzimi ile gliserol 3-fosfata, gliserol-3- fosfatta oksidaz ile dihidroksiaseton fosfat ve H_2O_2 'e dönüşür. Oluşan H_2O_2, peroksidaz varlığında fenol ve 4-aminofenazon ile reaksiyona girerek kinonimin boyasını oluşturur.

$$\text{Trigliserid} + 3H_2O \xrightarrow{\text{Lipaz}} \text{Gliserol} + 3\text{RCOOH}$$

$$\text{Gliserol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Gliserol kinaz}} \text{Gliserol - 3 - fosfat} + \text{ADP}$$

$$\text{Gliserol - 3 - fosfat} + O_2 \xrightarrow{\text{Gliserol -3- fosfat oksidaz}} \text{Dihidrosiaseton fosfat} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + 4\text{-aminoantipirin} + 4\text{-klorofenol} \xrightarrow{\text{Peroksidaz}} \text{Kinonimin kompleksi} + HCI + 4H_2O$$

3.15.5 Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol Ölçümü (LDL)

Prensip: Bu yöntemde LDL düzeyleri ölçülen total kolesterol, HDL kolesterol ve trigliserid düzeyleri Friedewald formülünde yerine konularak hesaplanır..

LDL (mg/dL) = (Kolesterol (mg/dL)-[(HDL (mg/dL)) + TG/5 (mg/dL)]

3.15.6 Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol Ölçümü (VLDL)

Friedewald Formülü ile hesaplandı.

VLDL= (TRİGLİSERİT / 5 (mg/dL))

3.15.7 Glikolize hemoglobin (HbA1c) ve hemoglobin ölçümü:

%HbA1c düzeyleri Roche (COBAS İNTEGRA, D-2075352) firmasının ticari kiti kullanılarak ROCHE/HITACHI-911 otoanalizörü ile tayin edildi.

Biyokimyasal tetkiklerden plazma glikozu merkez biyokimya laboratuvarında otoanalizatör ile ölçüldü. Glikolize hemoglobin konsantrasyonu (%HbA1c olarak) "tribumetric inhibition immunoassay" (TINIA) metodu ile ölçüldü. Kit metoduna göre, %HbA1c normal değeri %4.8 ile %6.0 aralığı kabul edildi.

3.15.8 Homosistein

3.15.8.1 Kullanılan Cihazlar

Crom systems [Hawlet packard (HPLC)] Cihazı (Agilent 1100 Series) kullanıldı.

3.15.8.2 Kullanılan Kitler

Homosistein kiti (Cat. No. 45000, 503, München, Germany)

3.15.8.3 Homosistein Düzeylerinin Ölçülmesi

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC: High Pressure Liquid Chromatography); içerisinde dolgu materyali bulunan bir çelik kolondan, yüksek basınçla örnek geçirilmesiyle moleküllerin ayrıştırılması prensibi ile çalışmaktadır. Çelik kolon içerisindeki dolgu materyali ayrıştırılacak molekülün fiziksel yada kimyasal özelliğine (moleküler yük, hidrofobite, moleküler büyüklük vs.) göre değişmektedir.

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi sistemi genel olarak autosampler, pompa, kolon ve dedektörden oluşmaktadır. Autosampler hazırlanan örneğin sisteme enjeksiyonu için, pompa yüksek basınç oluşturmak için, kolon ayrıştırıcı ortam olarak ve dedektör de ayrıştırılan molekülün miktarını tespit etmek için kullanılmaktadır.

Homosistein (plazma) düzeyleri HPLC (Agilent 1100 Series, Germany) cihazında floresan dedektör ile tespit edildi.

3.15.8.4. HPLC yöntemiyle homosistein düzeyi ölçümü;

Homosistein düzeyi ölçümü öncesi örnek hazırlama prosedürü:

- Eppendorf tüpü içerisine 100 µl plazma koyularak üzerine 25 µl internal standart ve 25 µl reduction reagent eklenir ve vortekslenir.
- 5 dak oda sıcaklığında inkübe edilen karışıma 100 µl precipitation reagent eklenerek 30 s vortekslenir.
- 9000 g' de 5-7 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatanın 50 µl' si, 2 ml derivatisation reagent 2'ye 2 ml derivatisation 1 eklenerek hazırlanan 100 µl derivatisation karışımına eklenir.
- Karışım 10 dak 50-55 ^{o}C' lik su banyosunda bekletilir, soğuduktan sonra sisteme enjekte edilir.

Homosistein için HPLC çalışma koşulları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Homosistein için HPLC çalışma koşulları

Enjeksiyon hacmi	40 µl
Akış hızı	1,7 ml/dak
Deteksiyon dalga boyları	Eksitasyon: 385 nm Emisyon: 515 nm
Kolon sıcaklığı	25 ^{o}C
Çalışma süresi	5 dak

3.116 İstatiksel Değerlendirme

Bütün değerler ortalama ± SEM (Standard Error of Mean) olarak verildi. Gruplardaki veri sayısı n>10'tir. Her gruptaki veri dağılımın normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-Simirnov testi ile belirlendi. Değişkenlerimizi etkileyen faktör sayısı 3 veya 2 olduğundan, Univariate multifaktöriyel ANOVA ve 2-way ANOVA kullanıldı. Kendini tekrar eden ağırlık ve frekans gibi parametreler de Repeated measure of ANOVA testi kullanıldı. Gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda ise Post-Hoc Tukey-HSD testi kullanıldı. Önemlilik (anlamlılık) düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi. İstatistik değerler SPSS ver 10.0 programı ile yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Genel Bulgular

Çalışmaya alınan denekler önce diyabetsiz ve diyabetli olmak üzere iki gruba ayrıldı. Daha sonra Kontrol grubu Roziglitazon uygulanmamış kontrol (K) (N=20) ve Roziglitazon uygulanmış kontrol (K+RZG) (N=20) gruplarına ayrıldı. STZ verilerek oluşturulan diyabetli sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Diyabetli (D) (N=20), Diyabet+Roziglitazon, (D+RZG) (N=20), Diyabet+İnsülin (D+İNS) (N=20) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) (N=20) grupları oluşturuldu. Tedavi gruplarına sekiz hafta boyunca sabah ve akşam olmak üzere (4mg/kg/gün) roziglitazon gavaj yolu ile verildi ve (1U) NPH insülin ise subkutan yapıldı.

Deneyin başlangıcında ve haftada birer kez olmak üzere sekiz hafta boyunca tokluk plazma glikoz düzeyleri ve ağırlık değişimleri ölçüldü. Tedavi sonrası her gruptan biyokimyasal parametreler için sekizer hayvandan intrakardik kan alınarak; kolesterol (mg/dL), trigliserit (mg/dL), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) (mg/dL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) (mg/dL), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL (mg/dL), hemoglobin A1c (%) ve Homosistein (µmol/L) plazmadaki değerleri tayın edildi. Her gruba ait 4'er adet sıçan sol papiller kalp kası preparatları elektromikroskobik inceleme için kullanıldı.

Elektrofizyolojik ölçümler için tüm gruplara ait sıçanların sol papiller kasından; Dinlenim zar potansiyeli (V_{DZ}) ve aksiyon potansiyeli parametreleri; Aksiyon potansiyelin genliği (V), Aşma potansiyeli (Overshoot), Depolarizasyon süresi (T_{DEP}) ve Yarı Repolarizasyon Süresi (1/2RT) ölçüldü. Aksiyon potansiyeli eğrilerinden; depolarizasyon (+dp/dt) ve repolarizasyon hızları (-dp/dt) saptandı.

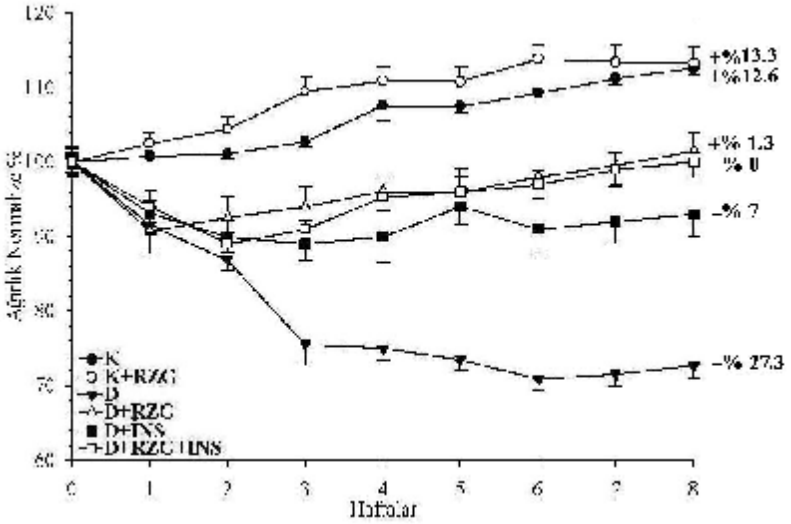
4.2 Ağırlık Ölçümleri

Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanların

ağırlıkları sekiz hafta boyunca haftada birer kez ölçüldü. K ve K+RZG gruplarında bulunan sıçanların ağırlıklarının, iki ay sonunda deney başlangıçtaki ilk değerlerine göre sırasıyla %12,6 ve %13,3 artığı belirlendi. D grubu sıçanların ağırlıklarında ise kilo kaybı %27,3 tü. İlaç verilmiş D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS grupların iki ay sonunda deney başlangıçlarına göre ağırlık değişimleri sırasıyla +%1.3, -%7 ve %0 dır. Sekiz hafta boyunca K ve K+RZG grup sıçanların ağırlık kazançlarının orantılı olarak arttığı ortaya çıktı. Diyabet grubunda ise STZ verildikten sonra ilk haftadan itibaren ağırlık kazançları azaldığı görülmektedir. Tedavi gruplarında ise birinci haftadan itibaren ağırlık kazançları artığı saptanmıştır (Şekil 4.1).

Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+ Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarındaki sıçanların haftalık ağırlık kazançları arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı, GLM- Repeated measure of ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ kabul edildi

Çizelge 4.1'deki K, K+RZG, grubundaki sıçanların ve D gruplarındaki sıçanlara göre ağırlık kazançları istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı görülmektedir ($p<0,05$). Tedavi uygulanmış (D+RZG ve D+RZG+İNS) gruplarındaki sıçanların D grubuna ait sıçanlara göre haftalık ağırlık kazançları karılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,05$). Yine tedavi uygulanmış D+İNS grubunun haftalık ağırlık kazançları D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$).



Şekil 4.1 Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait zamana göre normalize % ağırlık değişim eğrileri. Veri noktaları ortalama±standart hataları (SEM) temsil etmektedir. Her eğrinin sağındaki rakam, başlangıç değerine göre 8 hafta sonraki % ağırlık kazancı değeridir.

Çizelge 4.1. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarında bulunan sıçanların sekiz hafta boyunca haftada bir kez ölçülen ağırlıkların (gram) normalize edilmiş değerleri ve standart hataları verilmiştir.

Deney Grupları	**Normalize Ağırlık Değişimleri (%)**								
	Hafta								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
K	100,0 ± 0,8	100,8 ± 0,8	101,1[a] ± 0,7	102,7[a] ± 0,7	107,6[a] ± 2,2	107,5[a] ± 0,8	109,3[a] ± 0,7	111,2[a] ± 0,8	112,6[a] ± 0,9
K + RZG	100,0 ± 1,3	102,5 ± 1,4	104,4[a] ± 1,7	109,5[a] ± 1,8	110,9[a] ± 1,8	110,8[a] ± 1,8	113,8[a] ± 1,8	113,4[a] ± 2,2	113,3[a] ± 2,1
D	100,0 ± 1,8	91,5 ± 1,3	86,8[bc] ± 1,3	75,5[bc] ± 2,8	75,0[bc] ± 1,7	73,5[bc] ± 1,5	70,9[bc] ± 1,5	71,6[bc] ± 1,6	72,7[bc] ± 1,8
D + RZG	100,0 ± 2,2	90,8[bc] ± 3,1	92,6[bc] ± 2,7	94,0[abc] ± 2,7	96,1[abc] ± 3,5	96,0[abc] ± 3,4	98,1[abc] ± 2,9	99,5[abc] ± 2,7	101,3[abc] ± 3
D + İNS	100,0 ± 1,4	93,1[bc] ± 1,7	90[c] ± 2,2	89,0[abc] ± 2,2	90,0[abc] ± 3,4	94,0[abc] ± 2,5	91[abc] ± 3,3	92[abc] ± 3	93[abc] ± 3
D + RZG+ İNS	100,0 ± 2,0	94,0 ± 2,1	89,1 ± 1,4	91,0[ac] ± 1,2	95,3[ac] ± 2,5	96,0[a] ± 2,4	97,0[a] ± 1,8	99[a] ± 2,3	100,0[a] ± 2,1

[a,b,c]: Gruplar arası farklılıkları göstermektedir.[a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$)

4.3 Papiller Kalp Kasın Biyomekanik Parametreleri ile ilgili bulgular

Deney gruplarındaki sıçan sol ventrikül papiller kasının kasılma eğrileri parametreleri Çizelge 4.1'de görülmektir. Ayrıca bütün gurupların izometrik kasılma eğrilerinin; kasılma kuvveti (Ps), kasılma süresi (CT), yarı gevşeme süresi (1/2RT), kasılma hızı (+dp/dt) ve gevşeme hızı (–dp/dt) parametreleri ortalama ve standart hataları Çizelge 4.1'de verilmiştir. İzometrik sarsı kasılma parametrelerinin farklı gruplarda (K, K+RZG, D, D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS) nasıl değiştiği Çizelge 4.2 verilmiştir.

K, K+RZG, D, D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarındaki sıçanların papiller kalp kasın biyomekanik parametreleri arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı, One-way ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ kabul edildi

Çizelgede görüldüğü gibi sekiz haftalık diyabet sonunda diyabet grubunun sol papiller kalp kasının sarsı kasılma kuvveti Ps; K grubuna göre %20 azalmışken ilaç verilmiş/tedavi edilmiş gruplar (K+RZG, D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS) K grubuna göre yüzde değişimleri sırasıyla %24, %15, %12 ve %33 Ps sarsı kasılma kuvvetlerindeki artışları görülmektedir. Tedavi grupları (D+RZG, D+İNS ve D+RSZG+İNS) diyabet grubuna göre Ps sarsı kasılma kuvvetinde artış sağlanması yanında K grubunun Ps sarsı kuvvetini de aşmıştır.

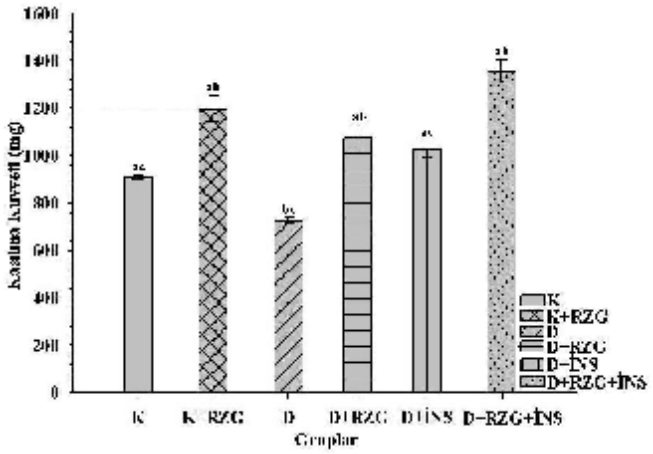
Çizelge 4.2 Kalp sol papiller kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarında bulunan sıçanların 60. gün sonunda altı farklı grubun izometrik kasılma parametreleri. Değerler Ort.± SEM olarak verilmiştir.

Deney Grupları (N=8, n=5)	**Kasılma Kuvveti (Ps) (mg)**	**Kasılma Hızı (+dp/dt) (mg/ms)**	**Gevşeme Hızı (-dp/dt) (mg/ms)**
K	908,1±7,7 [ac]	7,0±0,2[a]	4,5±0,2[ac]
K+RZG	1195,7±54,4[ab]	7,1±0,3[a]	5,5±0,2[ab]
D	724,7±11,4[bc]	5,7±0,4	2,9±0,2[bc]
D+RZG	1074,8±53,6[ab]	7,3±0,4[a]	5,1±0,3[a]
D+İNS	1026,8±36,0[ac]	6,3±0,4	5,1±0,3[a]
D+RZG+İNS	1355,1±49,5[ab]	8,6±0,5[abc]	6,0±0,4[ab]

[a,b,c]: Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. **[a]** Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[b]** Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[c]** K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.3.1 İzometrik Sarsı Kuvveti

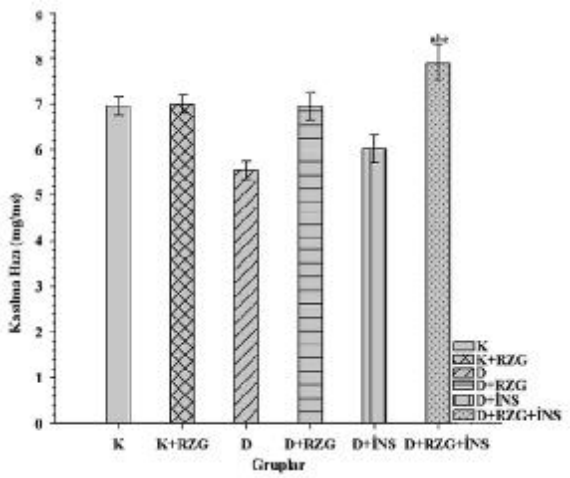
Kontrol (K) grubunun sol papiller kalp kasının kasılma kuvveti (Ps) 908,1 mg iken; D grubunun sol papiller kalp kası ise 724,7 mg a kadar düşmüştür. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi uygulanmamış D grubunun Ps anlamlı olarak azalırken tedavi grupları (K+RZG, D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS) Ps ortalamaları (1195,7, 1074,8, 1026,8 ve 1355,1 mg) D grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak Ps lerinde anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2). Diyabet grubuna uygulanmış tedaviler sonucunda, papiller kalp kasının Ps'lerinde iyileşme sağlandığı görülmüştür. Kontrol grubuna göre tedavi gruplarının (K+RZG, D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS) Ps ortalamalarındaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.0.5$). K+RZG grubunun Ps leri hem D grubu ile hemde D+İNS grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Ancak K grubunun D+İNS grubu ile Ps leri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gibi K+RZG grubunun da D+RZG ve D+RZG+İNS grupları arasında da istatistiksel fark anlamsızdır ($P>0,05$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarına ait kasılma kuvveti değişimlerinin ortalama değerleri ve standart hataları (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]: Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.3.2 Sarsı Kasılma Hızı

Sol ventrikül papiller kalp kasının kasılma hızı: Kontrol grubunun kasılma hızı (+dp/dt) 7,0 mg/ms dir. Diyabet grubunun kasılma hızı ise 5,7 mg/ms dir. Tedavi uygulanmış D+RZG+İNS grubunun kasılma hızı D grubunun kasılma hızına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği saptanmıştır ($p<0,05$). Aynı şekilde D+RZG+İNS grubunun kasılma hızı hem K grubuna göre hemde K+RZG grubuna göre kasılma hızı istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). D grubunun hem K hemde K+RZG, D+RZG ve D+İNS guruplarına göre kasılma hızı arasında fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$) (Çizelge 4.1, Şekil 4.3).

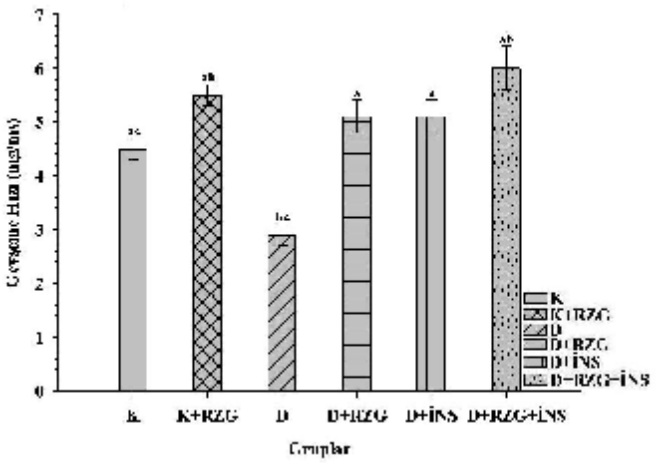


Şekil 4.3 Papiller kalp kasının Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarına ait kasılma hızı değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.3.3 Gevşeme Hızı

Sol papiller kalp kasının gevşeme hızı: Kontrol grubunun gevşeme hızı (+dp/dt) 4,5 mg/ms dir. Diyabet grubunun gevşeme hızı diyabetin etkisi ile 2,9 mg/ms yeye düşmüştür. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). RZG verilmiş kontrol ve tedavi uygulanmış D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarının gevşeme hızları sırasıyla 5,5, 5,1, 5,1 ve 6,0 mg/ms dir. Bu tedavi gruplarının D grubunun gevşeme

hızına göre artışı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). K+RZG ve D+RZG+İNS gruplarının K grubuna göre gevşeme hızlarındaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Ancak K+RZG grubunun, hem D+RZG hemde D+İNS grubuna göre gevşeme hızı istatistiksel olarak anlamsızdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.1, Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Papiller kalp kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarının gevşeme hızı değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.3.4 İzometrik Kasılma ve Yarı Gevşeme Süreleri

Altı farklı grupta sol papiller kalp kasın izometrik kasılma süreleri (CT) ile yarı-gevşeme süreleri (1/2RT) Çizelgede 4.3'te verildi.

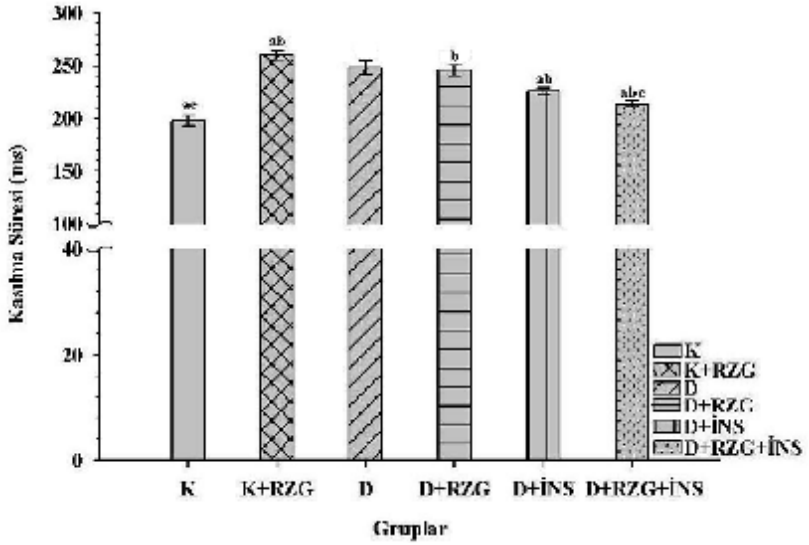
Çizelge 4.3 Papiller kalp kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarında bulunan sıçanların sekiz hafta sonunda altı farklı grubun izometrik kasılma parametreleri. Değerler Ort.± SEM olarak verilmiştir.

Deney Grupları (N=8, n=5)	**Kasılma Süresi (CT) (ms)**	**Yarı Gevşeme Süresi (1/2RT) (ms)**
K	198,0±4,6[ac]	144,8±2,2[ac]
K+RZG	259,8±4,4[b]	169,5±2,8[ab]
D	248,0±6,3[b]	228,8±5,8[bc]
D+RZG	245,5±5,3[b]	140,8±2,9[ac]
D+İNS	222,5±3,1[abc]	146,3±4,5[ac]
D+RZG+İNS	214,0±3,1[ac]	157,5±3,4[a]

[a,b,c]: Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. **[a]** Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[b]** Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[c]** K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.3.4.1 İzometrik Kasılma Süresi

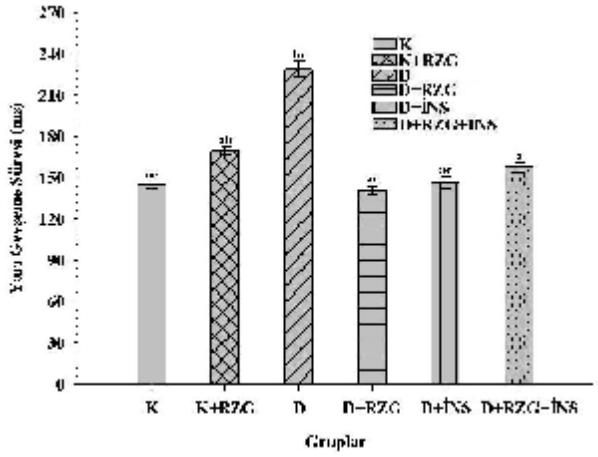
Kontrol grubunun sol papiller kalp kasının kasılma süresi 198,0 ms dir. Diyabet grubunun papiller kalp kasın kasılma süresi ise diyabetin etkisi ile 248 ms olmuştur. K grubuna göre diyabet grubunun kasılma süresinin uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi gruplarından; D+İNS grubunun kasılma süresi, diyabetin kasılma süresine göre 222,5 ms yeye düşmesi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi gruplarından D+RZG+İNS (214 ms) grubunun kasılma süresi, D grubunun kasılma süresiyle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p<0,05$). Aynı şekilde RZG verilmiş kontrol ve tedaviye tabi tutulan D+RZG ve D+İNS gruplarının kasılma sürelerinde, K grubunun kasılma sürelerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir uzama saptanmıştır ($p<0,05$). Ancak D+RZG ve D+RZG+İNS gruplarının kasılma sürelerinde K+RZG grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır ($p<0,05$). D grubu ile K+RZG, D+RZG ve D+İNS gruplarının kasılma süreleri arasında fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). Aynı şekilde K+RZG grubu ile D+RZG grubunun kasılma süreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Papiller kalp kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarının Kasılma süreleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.3.4.2 İzometrik Yarı Gevşeme Süreleri

Sol papiller kalp kasının yarı-gevşeme süreleri: kontrol grubunun 1/RT si 144,8 ms dir. Diyabet grubunun 1/2RT si ise diyabet etkisi ile 228,8 ms ye uzamıştır. Kontrol grubuna göre diyabetin 1/2RT sinin uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). RZG verilmiş kontrol ve tedavi uygulanmış D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS grupların 1/2RT leri sırasıyla 169,5, 140,8, 146,3 ve 157,5 ms dir. Bu tedavi gruplarının 1/2RT leri, D grubu 1/2RT si ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p<0,05$). K+RZG grubunun 1/2RT si K grubunun 1/2RT sine göre istatistiksel olarak anlamlı uzama olduğu saptanmıştır. Yine D+RZG ve D+İNS gruplarının K+RZG grubuna göre 1/2RT sinin azalması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Ancak K grubu ile tedavi edilmiş D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarının 1/2RT leri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). Yine tedavi gruplarından D+RZG+İNS grubu ile K+RZG grubu 1/2RT leri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Papiller kalp kasına ait (Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarının yarı gevşeme süreleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.4. Sol Papiller Kalp Kasının Biyoelektrik Parametreleri

Elektrofizyolojik değerlendirme için Wistar türü albino erkek sıçanlar kullanıldı. Bütün gurupların Mikroelektrot kayıt tekniği ile dinlenim zar potansiyeli ve kas aksiyon potansiyeli kayıtlandı. Papiller kas aksiyon potansiyeli eğrisinden, genlik (mV), depolarizasyon süresi (ms), yarı-repolarizasyon süresi (ms), depolarizasyon hızı (mV/ms) ve repolarizasyon hızı (mV/ms) bilgileri elde edildi. Bu sonuçlar Çizelge 4.4 ve 4.5'de verildi. Papiller kalp kası aksiyon potansiyeli parametrelerinin farklı gruplarda (K, K+RZG, D, D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS) nasıl değiştiği Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4 Sol papiller kalp kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarında bulunan sıçanların sekiz hafta sonunda altı farklı grubun papiller kasın aksiyon potansiyeli parametreleri. Değerler Ort.± SEM olarak verilmiştir.

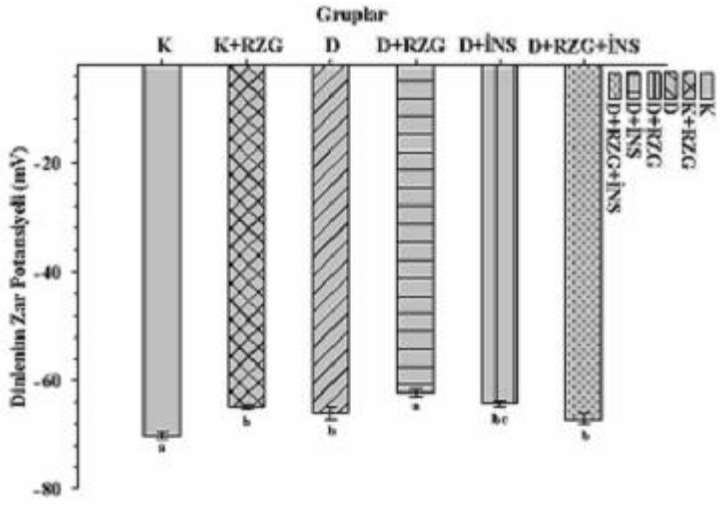
	AKSİYON POTANSİYEL PARAMETRELERİ				
Deney Grupları (N=8, n=10)	**V_D (mV)**	**AP (mV)**	**Overshoot (mV**	**T_{DEP} (ms)**	**½ RT (ms)**
K	-70,2±0,7[a]	67,1±0,8	9,1±0,6	12,1±0,4[a]	17,5±0,6[ac]
K+RZG	-63,2±0,7[b]	80,1±0,8[a]	11,1±0,9	11,6±0,2[a]	29,4±0,7[ab]
D	-69,2±0,4	68,2±0,5[c]	10,9±0,9	27,5±0,9[bc]	59,9±1,0[b]
D+RZG	-61,2±0,4[a]	79,3±1,0[a]	16,5±1,2[abc]	19,2±0,7[abc]	55,9±1,7[bc]
D+İNS	-64,3±0,5[ab]	77,7±0,9[a]	12,5±0,8[b]	16,9±0,5[abc]	51,9±2,4[abc]
D+İRZG+İNS	-67,1±0,9	74,4±1,1[ac]	11,7±0,9	19,1±0,7[abc]	45,8±2,1[abc]

[a,b,c]: Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. **[a]** Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[b]** Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[c]** K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.4.1 Dinlenim Zar Potansiyeli

Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+ Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarındaki sıçanların papiller kalp kasının dinlenim zar potansiyeli parametreleri arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı, One-way ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ kabul edildi.

Kontrol grubun papiller kalp kasının dinlenim zar potansiyeli –70,2 mV tur. Diyebet grubunun dinlenim zar potansiyeli -69,2 mV tur. D+RZG ve K+RZG gruplarının dinlenim zar potansiyeli D grubuna göre azalış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). K ve D grubuna göre D+İNS grubunun dinlenim zar potansiyelindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). K+RZG grubunun D+İNS grubuna göre dinlenim zar potansiyelinde artış istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). D+RZG grubu K+RZG grubuna göre istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). D+RZG+İNS grubunun dinlenim zar potansiyeli D grubuna göre istatistiksel fark anlamsızdır ($p>0,05$). (Çizelge 4.4, Şekil 4.7).

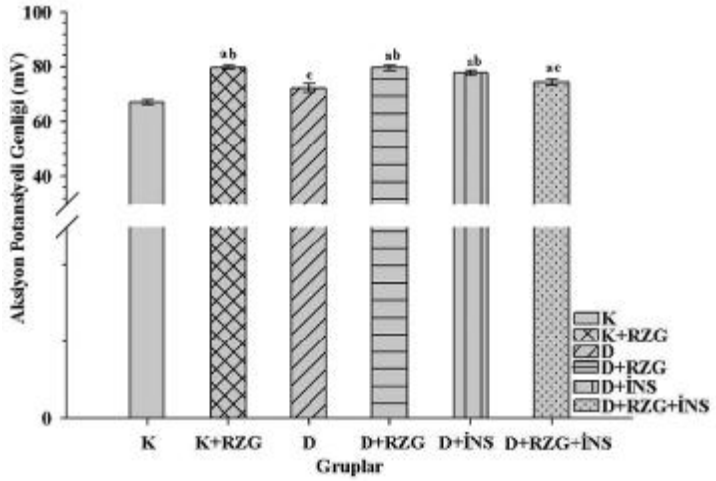


Şekil. 4.7 Altı farklı grubun (Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarına ait dinlenim zar potansiyeli değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.4.2 Aksiyon Potansiyeli Genliği

Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+ Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarındaki sıçanların papiller kalp kasın aksiyon potansiyeli parametreleri arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı, One-way ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ kabul edildi.

Kontrol grubunun aksiyon potansiyeli (AP) genliği 67,1 mV tur. D grubunun AP li genliği ise 68,2 mV tur. D grubuna göre K+RZG, D+RZG ve D+İNS gruplarının AP genliklerindeki artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). K+RZG grubunun AP genliği D+RZG+İNS grubunun AP genliğine göre artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). D grubu K grubuna göre AP genliğinin düşmüş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Ayrıca K grubu ile K+RZG, D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS grupları AP genliği arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). (Çizelge 4.4 Şekil 4.8).

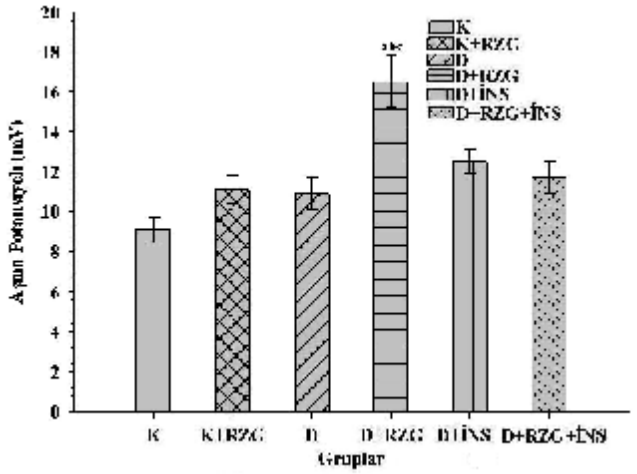


Şekil. 4.8. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarına ait aksiyon potansiyeli genliği değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.4.3 Aşma Potansiyeli

Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+ Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarındaki sıçanların papiller kalp kasın aşma potansiyeli parametreleri arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı, One-way ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ kabul edildi.

Kontrol grubunun aşma potansiyeli 9,1 mV dir. Diyabet grubunun aşma potansiyeli ise 10,9 ms dir. Diyabet grubu kontrol grubuna göre aşma potansiyeli artmış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). D+RZG grubunun aşma potansiyeli K, K+RZG ve D grubuna göre artmıştır. Bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Yine D+İNS grubunun aşma potansiyeli K grubunun aşma potansiyeline göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$). K, K+RZG ve D+RZG+İNS gruplarının aşma potansiyelleri arasında fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). (Çizelge 4.4, Şekil 4.9).

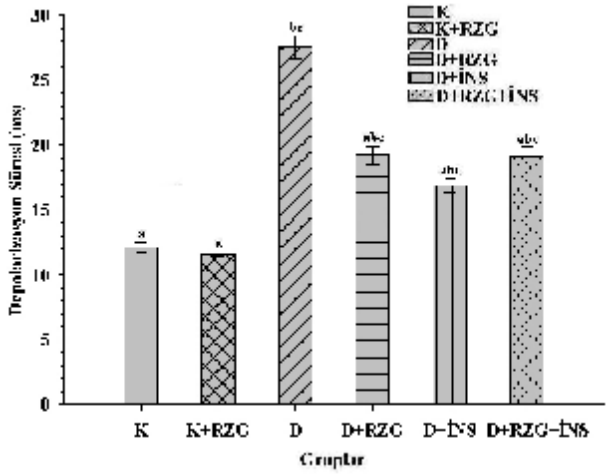


Şekil. 4.9. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarına ait aşma potansiyeli değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$) şeklinde verildi, [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.4.4 Depolarizasyon Süresi

Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+ Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+ Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarındaki sıçanların papiller kalp kasın depolarizasyon sürelerinin parametreleri arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı, One-way ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ kabul edildi.

Kontrol grubunun depolarizasyon süresi 12,1 ms dir. Diyabet grubunun depolarizasyon süresi 27,5 ms dir. D grubu, hem K grubu hemde K+RZG grubunun depolarizasyon süresine göre istatistiksel olarak anlamlı bir uzama saptanmıştır ($p<0,05$). Tedavi grupları D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarının depolarizasyon süreleri D grubunun depolarizasyon süresine göre istatistiksel olarak düşürmüştür ($p<0,05$). Yine tedavi gruplardan D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarının depolarizasyon süreleri K ve K+RZG gruplarının depolarizasrpon sürelerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,05$). Ancak K grubu ile K+RZG grubu depolarizasyon süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). (Çizelge 4.4., Şekil 4.10).

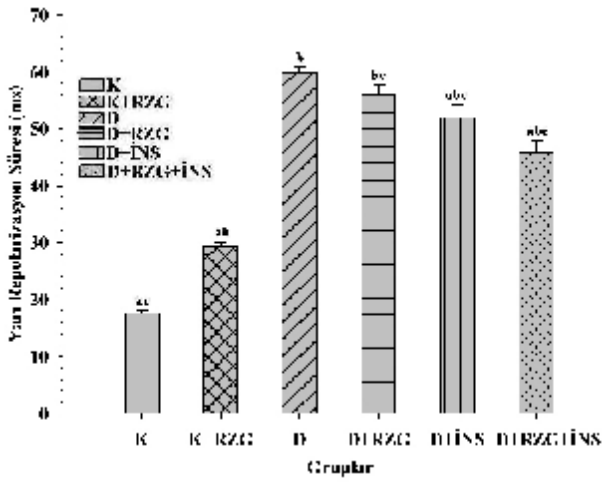


Şekil. 4.10. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarına ait depolarizasyon süreleri değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.4.5 Yarı Repolarizasyon Süresi

Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+ Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarındaki sıçanların papiller kalp kasın yarı repolarizasyon sürelerinin parametreleri arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı, One-way ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ kabul edildi.

Kontrol grubunun yarı repolarizasyon süresi (1/2RT) 17,5 ms dir D grubunun 1/2RT si 59,9 ms dir D grubu 1/2RT si K grubu hemde K+RZG grubunun 1/2RT sine göre uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi uygulanmış D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarının 1/2RT leri D grubunun 1/2RT sine göre istatistiksel olarak düşüş göstermiştir ($p<0,05$). D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarının 1/2RT leri K ve K+RZG grubunun 1/2RT sine göre uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). D+RZG grubu 1/2RT si D grubunun 1/2RT si arasında fark istatisitksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). (Çizelge 4.4, Şekil 4.11).



Şekil. 4.11. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarına ait yarı repolarizasyon süreleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.4.6 Depolarizasyon ve Repolarizasyon Hızı

Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+ Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+ Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarındaki sıçanların papiller kalp kasın depolarizasyon hızı ve repolarizasyon hızı parametreleri arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı, One-way ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ kabul edildi.

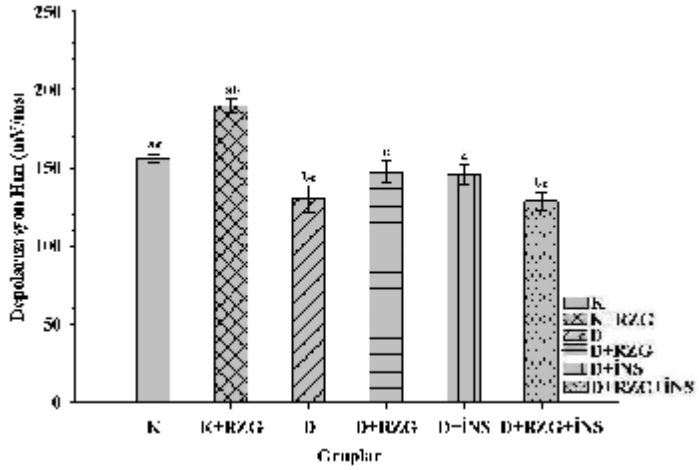
Gruplara ait papiller kalp kası aksiyon poatansiyeli eğrilerinin pozitif ve negatif türevleri alınarak pozitif türevden depolarizasyon hızı, negatif türevden repolarizasyon hızı parametreleri hesaplandı ve bu parametreler Çizelge 4.4.2'de gösterilmektedir. Kas aksiyon potansiyelinin depolarizasyon hızı K grubunda 156,0 mV/ms'den D grubunda 129,8 mV/ms, D grubunun hem K grubuna göre hemde K+RZG grubunun depolarizasyon hızlarının düşmesi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi uygulanmış D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarının depolarızasyon hızı K+RZG grubunun depolarizasyon hızına göre düşmesi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi uygulanmış D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarının D grubunun depolarizasyon hızına göre fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$).

Kontrol grubunun repolarizasyon hızı (-dp/dt) 51,9 mV/ms dir. D grubunun repolarizasyon hızı ise 37,6 mV/ms dir. D grubunun -dp/dt si, hem K grubuna göre hemde K+RZG grubuna göre düşmesi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi uygulanmış D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarının -dp/dt leri D grubuna göre istatistiksel olarak artış göstermiştir ($p<0,05$). K, K+RZG, D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS grupları arasında -dp/dt istatistiksel olarak anlamsızıdır ($p>0,05$). (Çizelge 4.5, Şekil 4.12, 4.13).

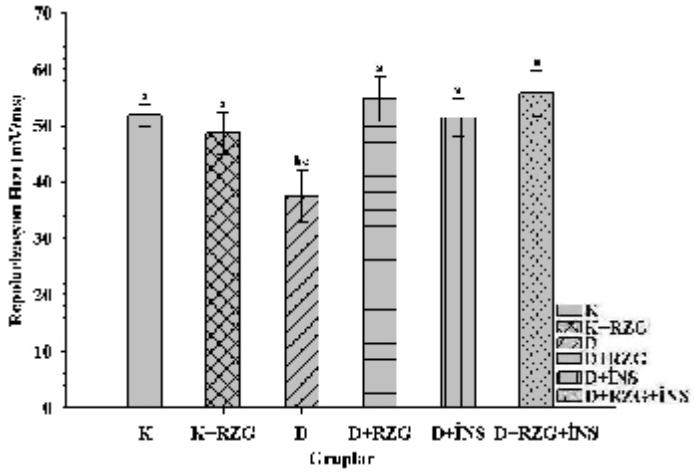
Çizelge 4.5. Kalp sol papiller kasına ait Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarında bulunan sıçanların sekiz hafta sonunda altı farklı grubun papiller kasın aksiyon potansiyeli parametreleri. Değerler Ort.± SEM olarak verilmiştir.

Deney Grupları (N=4, n=10)	Depolarizasyon Hızı (mV/ms)	Repolarizasyon Hızı (mV/ms)
K	$156,0\pm2,6^{ac}$	$51,9\pm1,9^{a}$
K+RZG	$189,9\pm4,3^{ab}$	$48,6\pm3,7^{a}$
D	$129,8\pm8,6^{bc}$	$37,6\pm4,6^{bc}$
D+RZG	$147,5\pm6,9^{c}$	$54,7\pm3,9^{a}$
D+İNS	$145,6\pm6,5^{c}$	$51,4\pm3,3^{a}$
D+İRZG+İNS	$128,6\pm5,7^{bc}$	$55,7\pm4,1^{a}$

[a,b,c]: Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. **[a]** Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[b]** Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[c]** K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).



Şekil. 4.12. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarına ait depolarizasyon hızı ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).



Şekil. 4.13. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarına ait repolarizasyon hızı değişimleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir. [a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.5 Kan Glikoz Değerleri

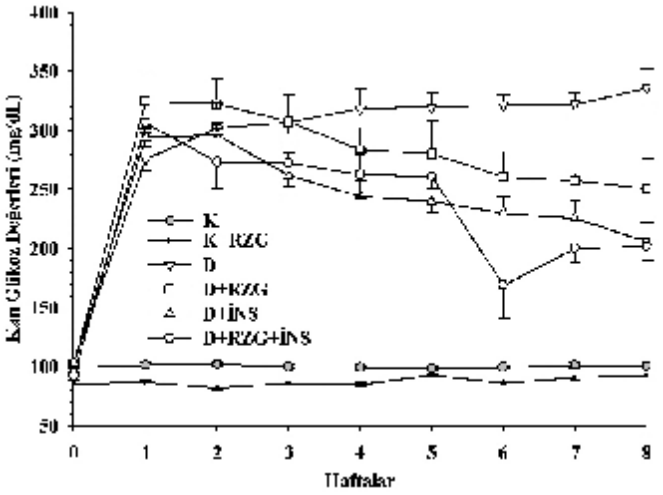
Sekiz hafta boyunca altı grupta bulunan sıçanların kan glikoz düzeyleri optimum H kan glikoz elektrotlarını kullanarak ACCU-CHEK (Şekil.3.3) marka glikozmetre ile ölçüldü. Kan glikoz değişimleri haftalık olarak kayıt edildi. Gruplar arasındaki değişimler karşılaştırıldı. Sekiz hafta boyunca ölçülen kan glikoz değerleri, K ve

K+RZG grupları arasında istatistiksel olarak fark anlamsızdır ($p<0,05$). D grubu ise birinci haftadan itibaren K ve K+RZG gruplarına göre kan glikoz değerleri istatistiksel olarak artmıştır ($p<0,05$). D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarındaki sıçanların kan glikoz seviyelerinin ortalamaları D grubu ile karşılaştırıldı ve 3,4,6,7 ve 8 haftadalar da istatistiksel olarak düşüş saptanmıştır ($p<0,05$). Tedavi grupları K ve K+RZG grubundaki sıçanların kan glikoz seviyeleri karşılaştırıldığında artış gözlendi. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da gösterildi.

Çizelge 4.6. Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarında bulunan sıçanların sekiz hafta boyunca haftada bir kez ölçülen kan glikoz (mg/dL) değerleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi.

Gruplar	**Haftalar**								
(N=13)	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
K	99,1 ± 1,1	101,2[a] ± 1,9	102,0[a] ± 1,7	99,6[a] ± 1,7	99,1[a] ± 1,2	98,8[a] ± 1,7	99,4[a] ± 1,4	101,1[a] ± 2,7	100,7[a] ± 1,6
K+RZG	85,6 ± 1,7	86,9[a] ± 1,2	82,0[a] ± 1,8	86,1[a] ± 1,4	84,8[a] ± 1,6	92,4[a] ± 1,5	86,2[a] ± 1,8	90,7[a] ± 2,5	92,5[a] ± 2,0
D	102,5 ± 1,8	275,8[bc] ± 10.0	301,9[bc] ± 4,8	306,9[bc] ± 10,1	318,5[bc] ± 16,3	319,6[bc] ± 11,8	321,5[bc] ± 9,3	322,2[bc] ± 9,7	335,7[bc] ± 16,7
D+RZG	101.6 ± 1,6	324,8[abc] ± 22,7	322,5[bc] ± 21.4	307,2[bc] ± 23.1	283,5[abc] ± 26,8	302,8[bc] ± 29,7	260,9[abc] ± 21,6	257.2[abc] ±1 5,9	250.5[abc] ± 25,4
D+İNS	103,0 ± 1,6	287,0[bc] ± 7,8	244,9[bc] ± 27,5	234,0[abc]± 18,7	262,4[abc] ± 39,5	294,8[abc] ± 10,5	296,5[bc] ± 14,4	225,6[abc] ± 14,9	206.0[abc] ± 16,7
D+ RZG+İNS	92,2 ± 3,1	306,3[bc] ± 7,8	273,5[bc] ± 22,7	272,2[abc] ± 20,1	262,9[abc] ± 18,5	261,5[abc] ± 28,2	169,0[abc] ± 29,1	200,3[abc] ± 12,9	202,1[abc] ± 6,4

[a,b,c]: Gruplar arası farklılıkları göstermektedir.[a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).



Şekil.4.14 Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarına ait kan glikoz eğri değişimlerinin veri noktaları ortalama±standart hataları (SEM) temsil etmektedir.

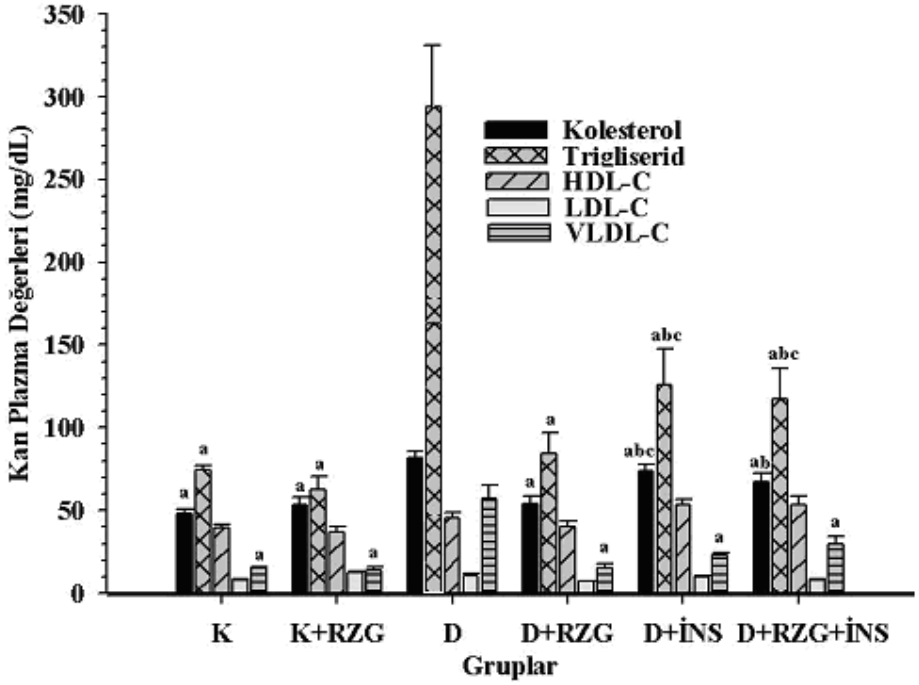
4.5.1 Kan Plazma Değerleri

Sekiz hafta sonunda Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS), Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanlardan alınan kan örneklerinden serum total kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol, LDL kolesterol, VLDL kolesterol, hemoglobin A1c ve homosistein değerleri ölçüldü. Elde edilen sonuçlardan kolesterol trigliserid VLDL HbA1c ve Homosistein (HCY) değerlerinin D grubu ile kontrol ve tedavi grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). (Çizelge 4.7, Şekil 4.15, 4.16, 4.17).

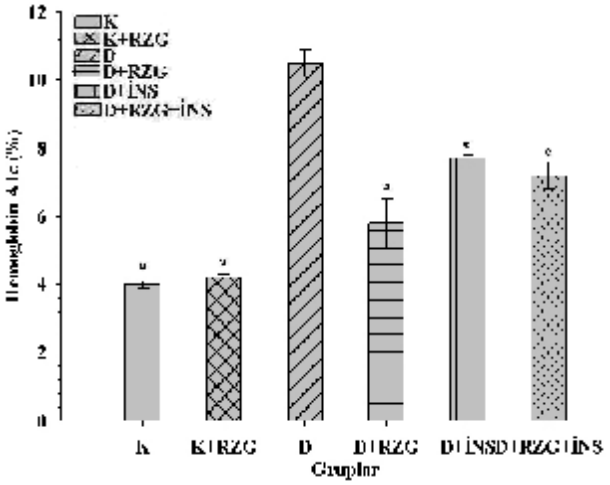
Çizelge 4.7 Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarına ait plazma değerleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi.

	Kan Plazma Değerleri						
Deney grupları	**Kolesterol**	**Trigliserit**	**HDL-C**	**LDL-C**	**VDL-C**	**HbA1c**	**HCY**
K	48,3±2,7[a]	74,3±2,7[a]	39,3±2,2	7,7±1,0	14,9±0,8[a]	4,0±0,1[a]	5,3±0,6[a]
K+RZG	53,5±4,5[a]	62,9±7,4[a]	37,1±2,9	12,4±1,0	14,0±1,9[a]	4,2±0,1[a]	9,7±0,8[a]
D	81,8±3,7	294,0±73,2	45,8±2,7	10,5±1,0	57,1±8,1	10,5±0,4	6,5±0,4
D+RZG	54,3±4,3[a]	84,5±12,6[ac]	40,3±2,9	7,2±0,4	15,4±2,3[a]	5,8±0,7[a]	4,0±0,6[ac]
D+İNS	74,1±4,0[abc]	125,8±21,5[abc]	53,1±3,8	9,7±0,9	22,8±1,7[a]	7,7±0,1[abc]	4,2±0,6[ac]
D+RZG+İNS	67,1±5,3[ab]	117,1±194,2[abc]	53,4±5,4	7,9±0,9	30,0±4,5[a]	7,2±0,4ab[c]	4,4±0,4[ac]

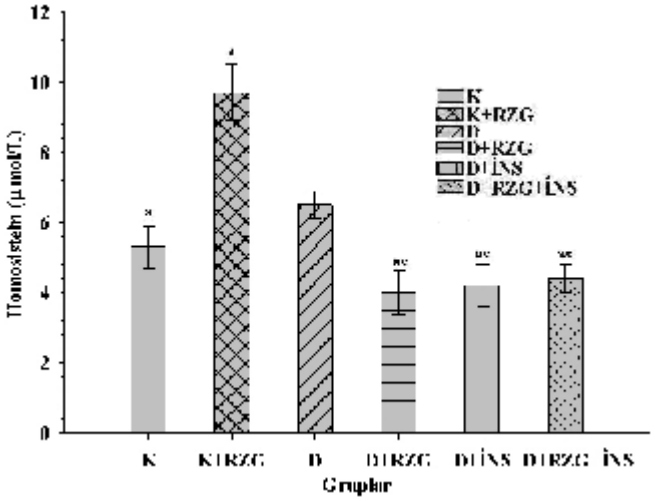
[a,b,c]: Gruplar arası farklılıkları göstermektedir.**[a]** Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), **[b]** Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$),**[c]** K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı (($p<0,05$), N=8).



Şekil 4.15. İki ay sonunda Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS), gruplarında bulunan sıçanlardan alınan kan örneklerinden plazma total kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol, LDL kolesterol ve VLDL kolesterol değerleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir[a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$),[c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).



Şekil 4.16. İki ay sonunda Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarında bulunan sıçanlardan alınan kan örneklerinden plazma Hemoglobin A1c (%) değerleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir.[a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).



Şekil 4.17. İki ay sonunda Kontrol (K), Kontrol+Roziglitazon (K+RZG), Diyabet (D), Diyabet+Roziglitazon (D+RZG), Diyabet+İnsülin (D+İNS) ve Diyabet+Roziglitazon+İnsülin (D+RZG+İNS) gruplarında bulunan sıçanlardan alınan kan örneklerinden plazma homosistein (µmol/L) değerleri ortalama ve standart hata (SEM) şeklinde verildi. **[a,b,c]:** Gruplar arası farklılıkları göstermektedir.[a] Diyabet grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$), [b] Kontrol grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$),[c] K+RZG grubuna 0,05 düzeyinde anlamlı ($p<0,05$).

4.6 Elektron Mikroskobik Bulgular

4.6.1 Kontrol Grubu

Papiller kalp kası lifleri merkezi yerleşimli, ökromatik bir çekirdek ve sitoplazmalarında yaygın miyofilamentler ve sarkozomlar içermekteydiler. Sarkoplazmanın büyük bir bölümü miyofilamentler tarafından kaplanmıştı. İnce ve kalın filamentler A ve I bantlarını oluşturmak üzere düzenli bir şekilde periyodik olarak yerleşmişlerdi. Sferikal şekilli sarkozomlar miyofilamentler arasında, çekirdeğe yakın alanlarda ve subsarkolemmal alanda büyük gruplar halinde bulunmaktaydılar. Çekirdeğe yakın alanlarda ve miyofibrillerin arasında serbest ribozomlar ve glikojen partikülleri de belirgin olarak izlenmekteydi. Z- Çizgisi yakınında transvers tübül ve sarkoplazmik retikülüme ait terminal sisternanın oluşturduğu diyad belirgin olarak izlenmekteydi.

Papiller kas lifleri arasındaki kan kapillerleri; incelmiş sitoplazmaları ve yassı çekirdekleri ile karekterize endotel hücreleri tarafından döşenmişti. Endotel hücrelerinin ince sitoplazmaları çok sayıda örtülü veziküller içermekteydi. Hücreler arasında bulunan kollajen lifler ve fibroblastlar normal morfolojik yapıda izlendi (Şekil 4.18)

4.6.2 Kontrol+ Roziglitazon Grubu

Papiller kas lifleri hafif girintili çıkıntılı, ince, uzun ökromatik çekirdeklerinde 1-2 belirgin çekirdekçik içermekteydiler. Sarkoplazmanın büyük bir bölümü oldukça iyi organize olmuş ince ve kalın filamentler tarafından doldurulmuştu. Yaygın sferikal şekilli sarkozomların bazıları perinüklear alanda yerleşirken, bazıları miyofilamentlerin arasında, bazıları ise subsarkolemmal alanda lokalize olmuşlardı. Glikojen partikülleri ve yaygın serbest ribozomlar sarkoplazma boyunca izlenmekteydiler. Z-çizgisi hizasındaki dyad yapıları da normal olarak izlenmekteydiler. Hücreler arası alanda kollajen lifler ve fibroblastlar da normal histolojik yapıda gözlendi (Şekil 4.19).

4.6.3 Diyabet Grubu

Papiller kas lifleri genellikle normal histolojik yapıda izlenirken, bazı alanlarda ise hafif yapısal değişiklikler göstermekteydiler. Bu yapısal değişiklikler sarkoplazmada yer yer elektron lusent vakuollerin varlığı (Şekil 4.20) ve bazı kas liflerinde sarkozomal matrikste elektron lusent alanların oluşumu ile karekterizeydi (Şekil.4.6. 4). Ayrıca Z-çizgisinde kontrol grubuna göre hafif düzensizlik ile birlikte densite kaybı ile karekterize değişikliler de dikkat çekiciydi (Şekil 4.20). Glikojen partikülleri, miyofilamanlar ve sarkozomlar ile yakın yerleşimli olarak sarkoplazma boyunca küçük gruplar halinde bulunmaktaydı. Kalp kası liflerini birbirine bağlayan diskus interkalarisler bazı mikrograflarda normal ultrastrüktürel özelliklerini korurken bazılarında ise hafif düzensizlikler gösterdiği dikkati çekti (Şekil 4.21).

4.6.4 Diyabet+İnsülin Grubu

İnsülin grubuna ait papiller kalp kası lifleri ökromatik çekirdekleri, belirgin çekirdekçikleri ile genellikle normal histolojik yapıda izlendi. Sarkoplazmayı kaplayan miyofilamentlerin düzenlenmesi normal olarak izlendi. Sarkozomlar miyofilamentlerin arasında ve çekirdeğe yakın alanlarda toplanmışlardı. Sarkozomlar normal histolojik özelliklerini korumaktaydılar. Bu grupta da sitoplazmada yer yer elektron lusent alanların varlığı gözlendi. Özellikle çekirdeğe yakın alanlarda elektron lusent vakuoller ender olarak görüldü. Dyad yapıları normal olarak izlendi (Şekil 4.22). Kalp kası liflerini birbirine bağlayan diskus interkalarisler normal histolojik düzenlenmelerini korumaktaydılar. Kan damarları ve kapillerler normal yapıda izlendi.

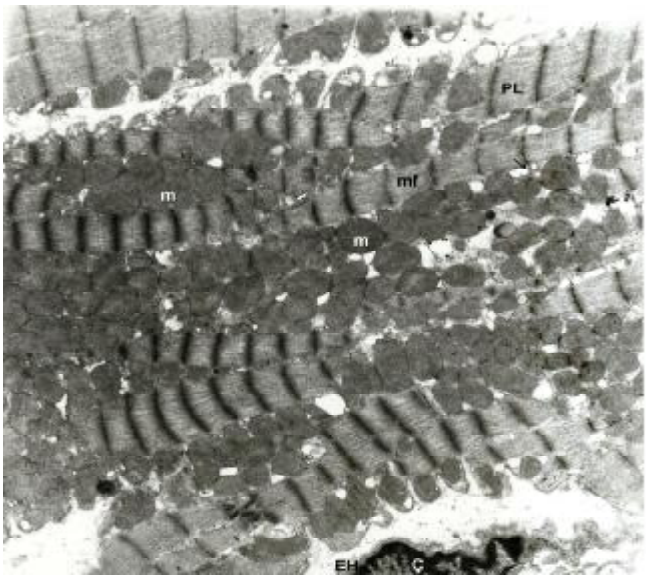
4.6.5 Diyabet+Roziglitazon Grubu

Roziglitazon uygulanan grupta papiller kas lifleri normal histolojik yapıda izlendi. Ökromatik çekirdekleri girintili çıkıntılı olup, belirgin bir çekirdekçik içermekteydi. Sarkoplazmalarının büyük çoğunluğu ince ve kalın miyofilamentler tarafından doldurulmuştu. İnce ve kalın miyofilamentlerin oluşturduğu enine çizgilenme normal olarak izlendi. Sarkozomlar normal histolojik özelliklerini göstermekteydiler. Sarkoplazmik retikülüm ve transvers tübülün oluşturduğu dyadlar da normal yapıda izlendi. Özelleşmiş bağlantı bölgeleri olan diskus interkalarisler de normal yapıda izlendi (Şekil 4.23).

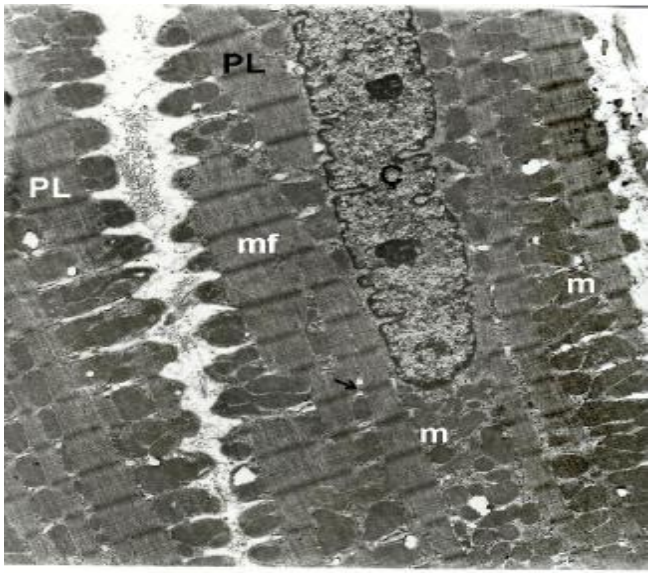
4.6.6 Diyabet+Roziglitazon+İnsülin Grubu

Roziglitazon ve insülin birlikte verilen grupta atrial kalp kası liflerinde ökromatik çekirdekleri 1-2 çekirdekçik içermekteydi. Miyofibrillerin oluşturduğu A ve I bantları kontrol grubundaki gibi oldukça düzenliydi. Miyofibrillerin arasında ve perinüklear alanda yerleşen sarkozomlar normal histolojik yapıda izlendi. Sarkoplazmik retikülüm ve transvers tübül tarafından oluşturulan dyad yapıları normal olarak izlendi. Bazı mikrograflarda ise elektron lusent vakuollerin varlığı dikkat çekiciydi.

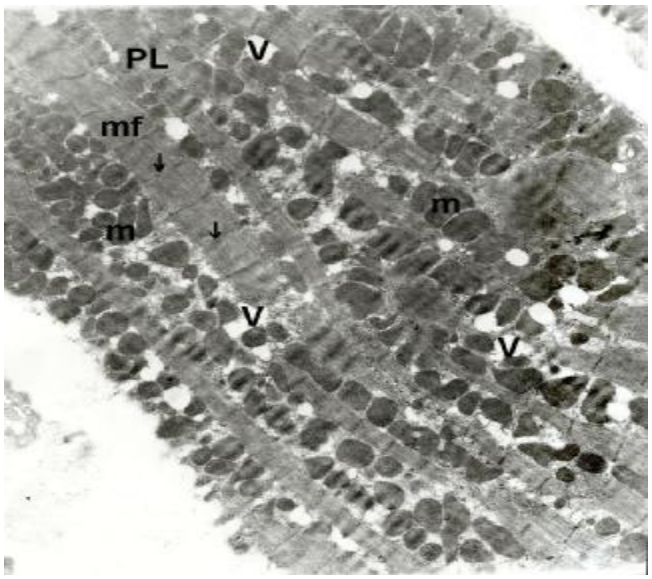
Kan kapillerlerini döşeyen endotel hücreleri ve ekstrasellüler matriks normal yapısını korumaktaydı (Şekil 4.24).



Şekil 4.18 Kontrol grubuna ait papillar kalp kası lifleri (PL) yaygın sarkozomları (m), enine çizgilenmeyi oluşturan miyofilamentleri (mf) ve Z-çizgisi hizasında yerleşen dyad (ok) yapıları ile normal olarak izlenmekte. Kapillerleri döşeyen endotel hücreleri (EH) çekirdek (Ç) ve sitoplazması ile normal histolojik yapıda görülmekte. x10.100.



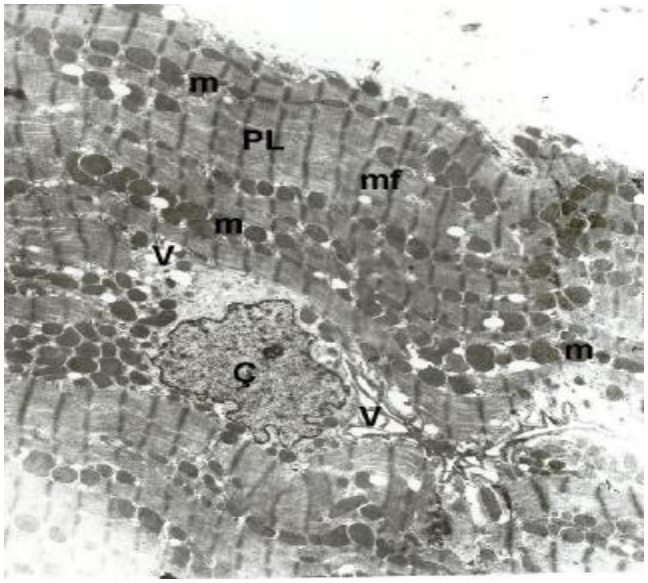
Şekil 4.19. Roziglatozon kontrol grubuna ait papillar kalp kası liflerinde (PL) çekirdek (Ç), miyofilamentler (mf), sarkozomlar (m) ve diyad (ok) normal yapıda izlenmekte. x10.100.



Şekil 4.20 Diyabet grubuna ait bazı papillar kalp kası liflerinde (PL) elekton lusent görünümlü vakuollerin (V) oluştuğu, Z-çizgisinde (ok) yer yer densite kaybı olduğu izlenmekte. Sarkozom (m), miyofilament (mf). x10.100.



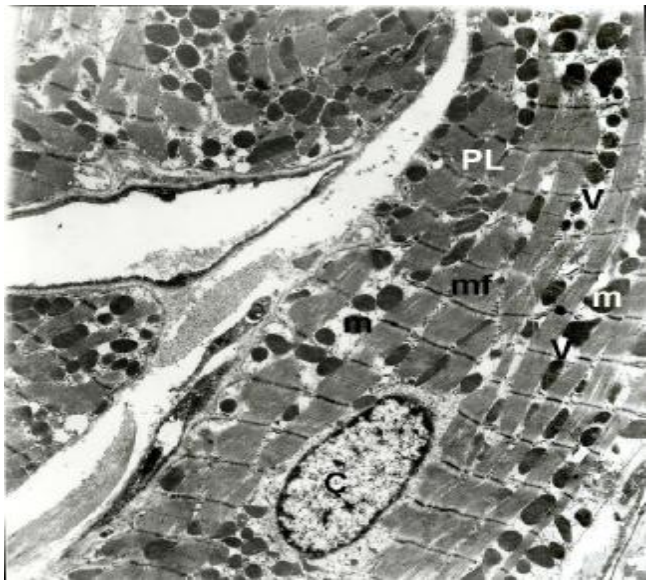
Şekil 4.21. Diyabet grubuna ait papillar kalp kası liflerinde (PL) sarkozomların (m) matriksinde densite kaybı görülürken diskus interkalarislerin (ok) hafifçe düzensizleştiği, sinir sonlanmalarının (SS) normal yapıda olduğu izlendi. Bazal lamina (ok başı). x10.100.



Şekil 4.22. Diyabet+İnsülin grubuna ait papillar kalp kası liflerinde (PL) miyofilamentler (mf), sarkozomlar (m), çekirdek (Ç) ve perinüklear alanda elektron lusent görünümlü vakuoller (V) izlenmekte. x8.100.



Şekil 4.23. Diyabet+Roziglitazon grubuna ait papillar kalp kası liflerinde (PL) çekirdek (Ç), sarkozomlar (m) ve miyofilamentler (mf) normal yapıda izlenmekte. x10.100.



Şekil 4.24. Roziglatozon+İnsülin uygulanan grupta papillar kalp kası liflerinin (PL) sarkoplazmasında yer yer elektron lusent vakuoller (V) izlendi. Çekirdek (Ç), sarkozom (m), miyofilamentler (mf). x10.100

5. TARTIŞMA

Diyabetes mellitus (DM) kan glikozunun düzenlenebilmesinin azaldığı ya da kaybolduğu kronik ilerleyici bir hastalıktır. Thiazolidinedion grubunda yer alan roziglitazon tip 2 DM'un tedavisinde yaygın olarak kullanılan oral antidiyabetik bir ilaçtır. STZ ile diyabetik yapılmış sıçanlarda sekiz hafta sonunda, diyabette gözlenen kan glikozunun kontrol grubuna göre aşırı derecede yükselmesi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Sekiz hafta boyunca ölçülen kan glikoz değerleri, K ve K+RZG grupları arasında kan glikoz değişimleri arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p<0,05$). D grubunun kan glikoz değerleri, birinci haftadan itibaren K ve K+RZG gruplarına göre istatistiksel olarak artmıştır ($p<0,05$). D+RZG grubundaki sıçanların ortalama kan glikoz değerleri D grubu ile karşılaştırıldı 3,4,6,7 ve 8. haftalarda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptandı ($p<0,05$). Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da gösterildi. İnsülin ve roziglitazon+insülin verilmiş sıçanlarda ise kan glikoz düzeyinin anlamlı derecede azaldığı gözlendi (Çizelge 4.6 ve şekil 4.14).

5.1 Roziglitazon ve insülinin sıçan vücut ağırlığına etkisi

K ve K+RZG gruplarında bulunan sıçanların ağırlıklarının, deney başlangıçındaki ilk değerlerine göre sırasıyla %12,6 ve %13,3 artığı belirlendi. D grubu sıçanların ağırlıklarında ise kilo kaybı %27,3 tü. Diyabetik sıçanlarda kilo kaybı diyabetik olgularda gelişen tipik bir semptomdur. Ancak kilo kaybında stres faktörünün de etkili olduğu gerçeği unutulmamalıdır. D+RZG, D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarının deney başlangıçlarına göre ağırlık değişimleri sırasıyla +%1.3, -%7 ve %0 dır. K ve K+RZG grubu sıçanların ağırlık kazançlarının orantılı olarak arttığı ortaya çıktı. STZ ile diyabet yapılan sıçanlarda ise ilk haftadan itibaren haftalık ağırlık kazançlarının azaldığı görülmektedir. Özellikle tedavi RZG gruplarında ise birinci haftadan itibaren ağırlık kazançlarının arttığı saptanmıştır. Roziglitazon verilmiş kontrol grubu sıçanlarda, roziglitazonun kan glikoz düzeyini değiştirmediği, ancak STZ ile oluşturulan diyabetli sıçanlarda oluşan kilo kaybının, roziglitazon tedavisi ile tekrar kazanıldığı gözlenmiştir. İnsülin verilmiş sıçanlarda az miktarda kilo kaybı giderilmişse de roziglitazon+insülin verilmiş sıçanlarda kilo kazanımları kontrol grubuna yaklaşmıştır (Çizelge 4.1 ve şekil 4.1). Konuyu araştıran sınırlı sayıdaki literatür bulgusu ile uyumluluk gösteren bu

sonuçların altında yatan mekanizma tam olarak bilinmiyor olmasına karşın, literatürde bu etkilerin "insülin benzeri" etkisinden kaynaklanmış olabileceği şeklinde yorumlanmaktadır[81].

Roziglitazonu tek başına ya da diğer antidiyabetik ajanlar ile kombine kullanan hastalarda, doza bağlı kilo artışı görülmektedir[9,10]. Söz konusu kilo artışının mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir, bununla birlikte sıvı tutulumunun ve yağ birikiminin ortak bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Thiozolidinedionların yeni üyesi olan roziglitazon, karaciğer, kas ve adipoz dokunun insülin duyarlılığını artırarak etkisini gösterir. Bir PPAR-γ agonisti olan roziglitazon serum glikoz, insülin ve lipid düzeylerine etki eden bir antidiyabetik ilaçtır. PPAR-γ aktivatörleri bir yandan insüline duyarlılığı artırırken bir yandan da lipolizi ve yağ asitlerinin oksidasyonunu artırarak kilo artışına neden olmaktadır[82]. Roziglitazon hem PPAR-γ'ya bağlanarak hem de reseptörü aktive ederek etkisini gösterir. Ayrıca literatürde bu ilaçların kullanımıyla ortaya çıkan kilo artışı, cilt altı yağ dokusunun özelikle abdominal yağ dokusunun artığı şeklinde olup visseral yağ artışının olmadığı şeklindedir[83].

5.2 Roziglitazonun Sol papiller Kalp Kasının Biyomekanik Parametrelerine Etkileri

Deney gruplarındaki sol ventrikül papiller kalp kasının kasılma eğri parametreleri çizelge 4.2'de görülmektir. Çizelgede görüldüğü gibi sekiz haftalık diyabet sonunda diyabet grubunun sol papiller kalp kasının sarsı kasılma kuvveti Ps; K grubuna göre %20 azalırken ilaç verilmiş/tedavi edilmiş gruplar (K+RZG, D+RZG), K grubuna göre yüzde değişimleri sırasıyla; %24, %15 oranlarında artışlar görülmektedir. Tedavi grubu D+RZG, diyabet grubuna göre Ps de artış gözlenmesinin yanında K grubunun Ps sarsı kuvvetini de aşmıştır. Yapılan deneyler sonucunda, diyabetik gruplar literatürdeki bulgularla benzer şekilde[84] kasılma kuvveti değerlerinde bir azalma göstermiştir. Ayrıca sekiz haftalık roziglitazon tedavisi sonunda bu parametreler kontrol grubu ile aynı değerlere ulaşmış hatta bu değerleri aşmıştır. Bu pozitif inotropik etki, aktif köprü sayısındaki artış Ca^{+2} artışının sonucudur. Ca^{+2} hemostazındaki Ca^{2+} artışına ve bunun sonucunda aktif çapraz köprü sayısındaki artış ile açıklanabilir[85,86]. Konu ile ilgili Literatürde SR Ca^{+2} salınabilme miktarının diyabet tarafından baskılandığı bilgisi karşılaşmaktadır[36]. Ayrıca, diyabetin izole kalp dokusunda alınan

mikrozomal zarda sarkoplazmik retikuluma Ca^{+2} alımını baskıladığı[87] ve SR Ca^{+2}-ATP ase enzim aktivitesini azalttığı bilinmektedir[53]. Bu gözleme dayanılarak diyabetin GLUT-4 taşıyıcı sisteminin translokasyonunu ve kalp kasına glikoz girişini azaltması yoluyla miyokardın kasılma yanıtını bozduğu düşünülmektedir. Diyabette yetersiz insülin salınımı sonucunda kas dokusuna yetersiz glikoz girişi, diyabetin hem temel patofizyolojisi hem de ilk klinik bulgularından birisi olması sebebiyle oldukça önemli bir konudur. Roziglitazon insülin yolakları ile ilişkili bir etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Roziglitazon PPARγ reseptörüne bağlanarak diyabette oluşmuş insülin direncini azaltıp, insülinin duyarlılığını artırmaktadır[8] ve çeşitli iyon kanallarında etkiler yaptığını düşünmekteyiz. Ancak roziglitazonun papiller kalp kasının kasılma kuvveti ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Muhtemelen RZG diyabet grubunda bozulmuş olan $[Ca^{2+}]i$ homeostazını düzenlediğini ve bunun sonucunda aktif çapraz köprü sayısını normale dönüştürerek, kontraktiliteyi düzelttiğini ve papiller kasa ait sarsı kuvvetlerini kontrol değerlerine getirmektedir. Roziglitazonun kontrol grubu sıçanlara verilmesi ile kas kasılma kuvvetinde anlamlı bir artışa neden olması, aktif çapraz köprü sayısında bir artışa neden olabileceğini düşündürmektedir.

D grubunun hem K hemde K+RZG ve D+RZG guruplarına göre kasılma hızı arasında fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). D grubunun kasılma hızı kontrol grubuna göre anlamsız bir düşmüş göstermiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.3). Bulgularımız literatür bilgileri ile uyuşmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda diyabetik papiller kalp kası kasılma hızında negatif inotropik etki gösterdiği, başka çalışmalarda kasılma hızı değişmediği gösterilmiştir. Kasılma hızındaki azalmanın muhtemel nedeni, sarkoplazmik redikulumdan Ca^{+2} salınması için ryanodin Ca^{+2} kanalını tetikleyen içeri Ca^{+2} akımındaki azalmanın yanı sıra, çapraz köprü çevrim hızındaki azalmadan kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Diyabet ryanodin'e duyarlı Ca^{+2} kanal akımını azalttığı açıklanmıştır [55,88]. RZG verdiğimiz D grubunun kasılma hızı kontrol değerine getirmesi muhtemelen D grubunun miyozin hafif zincir izoformlarındaki ATP ase enzim aktivitesinin azalması ile ilişkilendirilebilir[89]. RZG nin insülin duyarlığını artırıp glikozun GLUT 4 lerden glikozun hücreye alınması ile miyozin izoformları için ATP ase enzim aktivitesini artırdığını ve aktif çapraz köprü sayısını artırmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Diyabetin etkisi ile gevşeme hızında kontrol grubuna göre düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Hem RZG verilmiş kontrol ve hemde tedavi uygulanmış D+RZG grubunun gevşeme hızları D grubunun gevşeme hızına göre artışı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Ayrıca K+RZG grubu K grubuna göre gevşeme hızındaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.4).

Literatürde diyabete bağlı kasılma ve gevşeme hızında azalma olduğuna dair veriler bulunmaktadır. Bu azalmanın nedeni, sarkoplazmik redikulumdan Ca^{+2} salınımı için ryanodin Ca^{+2} kanalını tetikleyen içeri Ca^{+2} akımındaki azalma ile gerçekleştiği ifade edilmiştir[90]. Diyabetin; ryanodin reseptörleri ve çapraz köprü sayısını azalttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir[91].

Klinik ve deneysel çalışmalar, diyabetik kalpte ventriküller fonksiyonun zayıfladığını dolayısı ile kasılma kuvveti ve kasılma hızının azaldığını göstermiştir[47]. Kasılma kuvvetindeki azalma, uyarılma-kasılma çiftleniminde kuvvet oluşumunda sorumlu üç temel prosesten herhangi birisinin/üçünün etkilenmiş olması ile açıklanabilir. Bu prosesler sırası ile; 1. Sitozolik $[Ca^{2+}]i$ konsantrasyonu, 2. Miyofilamentlerin kalsiyum duyarlılığı 3. kalsiyum ile aktive edilmiş maksimal kuvvet. Fein ve arkadaşları yaptığı çalışmada, kasılma kuvvetlerindeki azalmadan diyabetli miyositlerde kalsiyum duyarlılığının azalmış olduğunu sorumlu tutmuştur. Diyabetik miyositlerde kasılma hızının azaldığı kasılma ve gevşeme sürelerinin uzamış olması ile ilgili tüm bulgularımız literatür bilgisi ile tam olarak uyum içindedir. Kasılma kuvvetindeki azalmanın bir başka nedeni kronik diyabette intertisyal ortamdaki kollejenin artmış olması ile açıklanmaktadır[92]. Bu biyomekanik değişiklikler miyozin ATPaz enzim aktivitesimdeki azalmayla birlikte olmaktadır.

Kontrol grubuna göre diyabet grubunun kasılma süresinin uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). D grubu ile K+RZG ve D+RZG gruplarının kasılma süreleri arasında fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). Aynı şekilde K+RZG grubu ile D+RZG grubunun kasılma süreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.5).

Diyabetli grubun yarı gevşeme süresi (1/2RT) nin kontrol grubuna göre uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). RZG verilmiş gruplarının 1/2RT leri, D grubu 1/2RT si ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p<0,05$). K+RZG grubunun 1/2RT si K grubunun 1/2RT sine göre istatistiksel olarak

anlamlı uzama olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3, Şekil 4.6). Bulgularımız literatür bilgisi ile uyuşmaktadır. Diyabetik papiller kasta, kasılma ve gevşeme sürelerinin uzadığı bilinmektedir. Diyabetik papiller kasın AP'li sırasında, diyabetik etki ile L-tipi ve T tipi Ca^{+2} kanallarından hücre içine giren Ca^{+2} miktarını ve SR'dan salınan Ca^{+2} miktarını azaltır (Ca^{+2} induced Ca^{+2} release). Salınan ve hücre dışından içeriye giren Ca^{+2} sitoplazmada serbest Ca^{+2} derişimi ([Ca^{+2}]i) miktarında düşme sebebiyle troponin C'ye bağlanmakta gecikme gösterir ve kasılma süresini uzatır[35]. Troponin C-Ca^{+2} kompleksi tropomiyozin ile etkileşerek aktin ve miyozin miyofilamentleri arasındaki aktif bölgelerin açığa çıkmasını ve aktif çapraz köprülerin oluşmasını sağlamada Ca^{+2} önemli rol oynar. Miyositler için gevşeme sürecinin diyabette uzaması ise [Ca^{+2}]i'un SR ma geri alınması, SR Ca^{2+}-ATP az, sarkolemmal Ca^{+2}-ATPaz ve mitokondriyal Ca^{+2}'un tek yönlü (uniport) taşınımındaki yavaşlamaya bağlıdır[84]. Ancak roziglitazon verilmiş diyabet grubunda ise [Ca^{2+}]i homeostazını düzelterek kontraktiliteyi düzelttiğini ve papiller kasa ait sarsı kuvvetlerinin genliklerini artırdığını, kasılma ve gevşeme sürelerini kontrol değerlerine getirdiği gözlenmiştir.

Diyabet grubundaki kasılma süresinin anlamlı oranda uzamış olmasının altında, kasılma esnasında Ca^{+2} salınımı ve geri alınımında gözlenen sürecin uzamasının neden olduğu düşünülmektedir[84]. Buda SR'un Ca^{+2} –ATPaz enzim aktivitesinin etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Rozigltazonun papiller kasının kontraksiyon gücünü artırması (kontraktilitedeki artış) muhtemelen hücre membranındaki Na^{+}/K^{+} ATP'azın inhibisyonu ile buna bağlı olarak intraselüler Ca^{+2} düzeyinin artması ile ilgilidir[51]. Bu enzim; aktif transporttan sorumlu sodyum pompasının esasını oluşturur. Böylece, konsantrasyon gradiyentine karşı Na^{+}'un hücre dışına atılması ve K^{+}'un hücre içine girişi sağlanır. İntraselüler Ca^{+2} düzeyinin siklik değişiklikleri miyosit membranındaki Na^{+}/Ca^{+2} değiş tokuşunun etkilenmesinde önemli rol oynar. Voltaj bağımlı bu mekanizma Na^{+} ve Ca^{+2}'un membran potansiyelinin durumuna göre siklus sırasında iki yönlü hareketine neden olur. Depolarizasyon durumunda bir Ca^{+2} iyonu hücre içine girerken, aksi yönde üç Na^{+} iyonu hareket eder. Sodyum pompasının inhibisyonu sonucu; intraselüler Na^{+} düzeyinin yükselmesi; Ca^{+2}'un girişini artırır. Sonuçta, sitoplazmada serbest Ca^{+2} düzeyi artar. Ayrıca, hücre içi Ca^{+2} düzeyinin yükselmesi pH'yı düşürür. Buna bağlı olarak Na^{+}-H^{+}

değiş tokuşu aktive edilir. H^{+}'nin içeri girişi artar ve bu da intraselüler Ca^{+2} düzeyinin daha da yükselmesine yol açarak apoptozise neden olur.

5.3 NPH-İnsülinin Papiller Kasının Biyomekanik Parametrelerine Etkisi

İnsülin verilmiş diyabet grubunun kasılma kuvveti (Ps), D grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak Ps lerinde anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2). Deneysel hayvan çalışmalarında, diyabet büyük çoğunlukla streptozotocin verilerek oluşturuluyor. STZ verilen sıçanlarda, kalp kasılmasında ki azalma myokardial kalsiyum metabolizmasında değişme ile ilişkilendirildi[93]. Bu değişikliğe neden olmuş/olabilecek diğer mekanizmalar ise SR Ca^{+2} salınımın azalması (SR) Ca^{+}-ATPaz, sarkolemmal Ca^{+}-ATPaz, Na^{+}-Ca^{+2} değişimi, L tipi kalsiyum akımı ve riyanodine duyarlı Ca^{+2} kanalları, çapraz-köprü çevrim oranını azalması gibi etkenler olabilir[84].

İnsülinin kalp kasılma kuvveti üzerine etkileri ile ilgili çeşitli bilgilere rastlanılmaktadır. İnsülinin pozitif inotropik etkisi guinea pig ve tavşan üzerinde yapılan çalışmalarla açıklanmıştır[94]. Çalışmamızda insülin verilmiş diyabet grubu papiller kasında insülin kasılma kuvvetlerini artırmıştır. Ayrıca insülin; karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmalarının çok önemli bir düzenleyicisidir. İnsülin gen ekspresyonunu, iyon akımlarını, hücre büyümesini ve apoptozizi düzenleyen bir hormon olarak bilinir[95]. L tipi kalsiyum akımlarını, Na^{+}-Ca^{+} değişimini stimüle eder, insülin ile subtrat reseptör proteinleri arasındaki ilişkiyi ve SR Ca^{+}-ATP ase'ı aktive eder[96].

D grubu hem K grubu hemde D+İNS gurubuna göre kasılma hızı arasında fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.3). Diyabet grubunda papiller kalp kasının gevşeme hızı kontrol grubunun gevşeme hızına göre diyabetin etkisi ile düşüş göstermiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). İnsülin ile tedavi edilmiş diyabet grubunun gevşeme hızı D grubu gevşeme hızına göre artışı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). (Çizelge 4.2, Şekil 4.4).

İnsulinin kasılma kinetikleri üzerine etkisi literatür bilgisi sınırlı sayıdadır. Diyabetik grupta insülinin kinetik etkisinin olması muhtemelen kronik diyabetin zararlı etkilerinden kaynaklanabilir. Bu etkiler Ca^{+2} bağlanma mekanizması, sarkolemal Ca^{+2}

ATP az, Na/Ca değişimi, L tipi Ca^{+2} akımları, ryanodine duyarlı Ca^{+2} akımları ve çapraz köprü çevrim oranındaki düşüşlerden kaynaklanabilir[80,88,97].

K grubuna göre diyabet grubunun kasılma süresinin uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Öteyandan tedavi grubu D+İNS nin kasılma süresi, diyabet grubunun kasılma süresine göre düşüş göstermesi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.5).

Kontrol grubuna göre diyabetin 1/2RT değerinin uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). İnsülin ile tedavi edilen diyabet grubunun 1/2RT değeri D grubu 1/2RT değeri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.6).

STZ verilerek oluşturulan diyabetin kasılma ve gevşeme sürelerinin uzamış olması, yapılmış çalışmalarla paralellik göstermiştir. Diyabetin negatif inotropik mekanizması; hücresel ve moleküller düzeyde yapılan çalışmalarla açıklanmıştır. İnoropik etkisi; Ca^{+2} bağlanma düzeyinde azalma, L- tipi Ca^{+2} akımlarındaki azalma, SR riyanodin reseptör sayısındaki azalma, mRNA ve SERCA2 protein düzeylerindeki azalmalarla açıklanabilir[98]. İnsülin verilmiş D grubunun kasılma ve gevşeme sürelerinin anlamlı bir şekilde kısalmış olması insülinin iyonik etkileri ile açıklanabilir. Yapılan çalışmalarda insülin sinyalizasyon yolaklarında gerçekleşebilecek bir bozulmanın hücre içi redoks durumunun değişmesine neden olduğu ve bunun hücre içi serbest iyon homeostazının bozulmasında rol oynayabileceği gösterilmiştir[99].

Ayrıca klinik araştırmalarda diyabetli hastalarda gözlenen kardiyomiyopati, sol ventrikül fonksiyon bozukluğu ve kongestif kalp yetmezliği gibi bulguların altında yatan nedenin miyokardiyal hücre fonksiyonuna insülin eksikliğinin doğrudan bir etkisi sonucu olabileceği ileri sürülmektedir[100].

5.4 Roziglitazon ve NPH-İnsülinin Kombine Kasılma Üzerine etkisi

Kontrol (K) grubunun sol papiller kalp kasının kasılma kuvvetine (Ps) göre D grubunun kasılma kuvveti düşmüştür. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi uygulanmamış D grubunun Ps anlamlı olarak azalırken tedavi edilen D+RZG+İNS grubunun Ps ise D grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak Ps lerinde anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2). Diyabet grubuna uygulanmış tedaviler sonucunda, papiller kalp kasının Ps'lerinde iyileşme sağlandığı

görülmüştür. Kontrol grubuna göre tedavi grubu (D+RZG+İNS) Ps ortalamalarındaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). (Şekil 4.2).

Tedavi uygulanmış D+RZG+İNS grubunun kasılma hızı D grubunun kasılma hızına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği saptanmıştır ($p<0,05$). Aynı şekilde D+RZG+İNS grubunun kasılma hızı K grubuna görede kasılma hızı istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.3).

Diyabet grubunun gevşeme hızı K grubuna göre düşmüştür. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). RZG ve İnsülin tedavi uygulanmış (D+RZG+İNS) grubunun gevşeme hızı D grubunun gevşeme hızına göre artışı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). D+RZG+İNS grubunun K grubuna göre gevşeme hızlarındaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.4). Diyabette kasılma ve gevşeme hızlarındaki negatif inotropik etki yaptığı ancak tedavi edilen gruplarda bu etkinin positif inotropik etkiye çevirdiği gözlenmektedir. Bu inotropik etki; beta adrenerjik reseptörlerin (BAR) sempatomimetiklerin kardiyak inotropik etkisinde başrolü oynayan BAR'lerin etkisi G proteinlerin aracılığı ile olur. BAR'e bir agonist ajan bağlanması durumunda guanin difosfata (GDP) bir yüksek enerjili fosfat molekülü gelir ve guanin trifosfat (GTP) oluşur. G proteinin alfa subünitesi GTP ile birleşerek adenil siklaz aktivasyonuna neden olur. G proteinin tarafından aktive olan adenil siklaz, ATP'den cAMP oluşumuna neden olur. BAR aktivasyonunda sekonder aracı molekül olan cAMP intraselüler protein kinaz A'yı aktive eder. Bu enzim sarkolemmal voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının fosforilasyonu ile kalsiyumun aksiyon potansiyeli sırasında hücre içine girişini hızlandırır. BAR aktivasyonu ile artan intraselüler kalsiyum konsantrasyonu pozitif inotropik etkiyi oluşturur. BAR aktivasyonu ve cAMP artışı aynı zamanda diğer bazı protein kinazları aktive eder. Bu protein kinazlar ise troponin I fosforilasyonu ile troponin C'nin kalsiyuma affinitesini azaltır. Ayrıca regülatör protein fosfolambanın fosforilasyonu ile diastolde kalsiyumun sarkoplazmik retikuluma alınması hızlanır. BAR aktivasyonu bu şekilde diastolik relaksasyonu hızlandırır

Diyabet grubuna göre kasılma süresinin uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi grubu D+RZG+İNS kasılma süresi, D grubunun kasılma süresiyle

karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.5).

Kontrol grubuna göre diyabetin 1/2RT sinin uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). RZG ve insülin ile tedavi edilmiş D+RZG+İNS grubun 1/2RT si D grubu 1/2RT si ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.6).

Çalışmada, kalbin temel işlevi olan sarsı kasılma etkinliği sırasında kasılma genliği, kasılma süresi ve gevşeme sürelerinin seviyeleri nasıl değiştiği ve diyabetin bu değişimi nasıl etkilediğine ilişkin olan kısmında yukarıdaki açıklanan mekanizmalara göre diyabetle kasılma sarsı kuvvetlerinin genlik değerlerini kontrol grubu papiller kasa göre düşürdüğü, kasılma süresi ve 1/2RT sürelerinin uzadığı görülmüştür. İnsülinin positif inotropik etki yaptığına dair elde ettiğimiz bulgular, Von Lewinski ve arkadaşları tarafından diyabetli ve diyabetsiz insan miyokardial kas stripleriye yaptıları çalışmayla elde ettikleri bulgularla aynı yöndedir[97]. Daha evvel değişmiş olan kinetik parametreleri anlamaya yönelik yapılan çalışmalarda azalmış (1) ryanodin reseptör proteini[56], (2) SERCA protein miktarı ve aktivitesi, (3) fosfolamban fosforilizasyonu ve (4) SR Ca^{+2} depolama yetisi[55] sonuçları ile açıklamalar ileri sürülmüştür. Çalışmamızda sekiz haftalık roziglitazon ve insülin tedavisi sonunda diyabet grubu papiller kalp kasının uyarılması ile alınan sarsı kuvvetlerine ilişkin hem genliği, hem de kasılma ve gevşeme parametrelerini düzeltmeninin yanında kasılma ve gevşeme hızlarında pozitif inotropik etki tespit edilmiştir. Roziglitazon kontrol grubu hayvanlarına aynı süre ve dozda verilmesi ölçüm yapılan sarsı kuvvetlerinde pozitif inotropik etki yaptığı bulunmuştur. Roziglitazon diyabetli sıçanlara sekiz haftalık uygulaması sonucunda gözlenen iyileştirici etkisinin, diyabetle bozulmuş insülin sinyal iletimin yolaklarında bazı pozitif etkiler ile açıklanabilir (insülin benzeri etki)[81]. Muhtemelen diyabetli grupta azalmış insülinin dişardan NPH-insülin verilmesi ile ortamda insülin eksiliği giderildiği düşünmekteyiz. Roziglitazon ise PPARγ ya bağlanarak diyabete oluşmuş insülin direncini azaltıp insülinin duyarlılığını artırmaktadır. Roziglitazon insülin yolakları ile ilişkili bir etkisinin olabileceği ve artmış insülin duyarlığı insülnin reseptöre bağlanması GLUT-4 taşıyıcı sisteminin translokasyonunu artırır. Kalp kasına glikoz girişinin artması yoluyla miyokardın kasılma yanıtını düzelttiğini düşünülmektedir[10].

5.5 Sol Papiller Kalp Kasının Biyoelektrik Parametreleri

Roziglitazonun Etkileri

STZ ile yapılan deneysel diyabetik hayvan model çalışmaları ilk kez 1980 yılında Fein ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışma diyabetik kardiyomiyopatiye model olabileceği düşünülmüş bir araştırmadır[47]. Çalışmamızda STZ enjeksiyonundan sonra, diyebetes mellitusun beraberinde beklenen bulgular hayvanlarda görüldü. (hiperglisemi, polyuria, polydipsia ve kilo kaybı). Çeşitli araştırmaların bulguları, papiller kalp kası elektrofizyolojik parametrelerin hayvanlarda gözlenen diyabetin şiddetiyle ilişkili olarak değiştiğini düşündürmüştür[40,47]. RZG oral bir antidiyabetik ajandır ve tip 2 diyabet hastalarında insülin duyarlılığını artırır[79]. Bu çalışmanın temel amacı, diyabet oluşturulmuş hayvanlarda mikroelektrot tekniği kullanılarak roziglitazonun papiller kalp kası elektofizyolojik parametrelere etkisini araştırmaktır.

Papiller kalp kasının dinlenim zar potansiyeli D-grubunda kontrole göre farklılık göstermedi. RZG verilen K+RZG ve D+RZG grupları K ve D gruplarıyla karşılaştırıldığında dinlenim zar potansiyelinin depolarize olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). Papiller kalp kası dinlenim zar potansiyelinin diyabetik ve sağlıklı sıçanlarda fark göstermediği daha önce açıklanmıştır[101]. Bizim çalışmamızda RZG verilmiş gruplarda zar potansiyelinin depolarize olmasını, K^+ kanal akımlarının ve Na/K ATP ase pompasının yavaşlamasıyla açıklanabileceğini düşünmekteyiz. Antidiyabetik ajanlardan TZD sınıfının bir üyesi olan roziglitazon (RZG), insülin duyarlılığını artırarak glisemik kontrolü sağlar. Yapılan çalışmalarda RZG'nin vaskuler düz kas hücrelerinde farklı iyon kanallarına etki ettiği gösterilmiştir. Ayrıca vaskuler düz kasta L tipi Ca^{+2} akımları ve voltaj kapılı K^+ kanal akımları için kuvvetli bir inhibitör etkiye sahiptir[102]. Patch klamp tekniği ile yapılmış bir çalışmada RZG'nin Çin hemster Over hücrelerinde Shaker grubu ailesinden Kv 1,3 gecikmiş doğrultucu (deleted rectifier) K^+ kanal akımının amplitüdünü azalttığı ve kanal blokörü gibi davrandığı gösterilmiştir[79].

Sekiz hafta sonunda, papiller kas aksiyon potansiyeli amplitidü; K ve D gruplarından istatistiksel olarak farklılık göstermezken RZG verilen K+RZG ve D+RZG gruplarında, amplitüd artmıştır ($p<0,05$). Bununla birlikte Fein ve arkadaşları, aksiyon potansiyeli amplitüdünün diabetik kalp kasında azaldığını göstermiştir[47].

Diyabetik sıçanlarda depolarizasyon süresi belirgin bir şekilde uzamıştır ($p<0,05$). Bununla beraber RZG ile tedavi edilmiş Diyabet grubunun depolarizasyon süresi D grubuna oranla belirgin bir şekilde kısalmıştır ($p<0.005$). Kontrol ve kontrole RZG verilmiş grupların arasında istatistiksel fark saptanmadı. Yarı repolarizasyon süresi de, depolarizasyon süresine benzer şekilde diabetik farelerde kontrole göre uzadı ($p<0.005$). D+RZG grubu D grubuna oranla düşüş göstermiştir ancak istatistiksel olarak anlamsızdır. K+RZG grubu ise K grubu ile karşılaştırıldığında, yarı repolarizasyon süresi önemsiz bir artış gözlenmiştir. Bulgularımıza benzer şekilde diyabetik sıçan sol ventriküler papiller kası depolarizasyon ve repolarizasyon gecikmeleri daha önceki yapılmış araştırmaların sonuçlarıyla uyuşmaktadır[40,47]. Aksiyon potansiyeli süresinin uzaması ve I_{to} akımının azalması, diyabet oluştuktan 4-6 hafta sonra gözlenmiştir[40,47]. Diğer bir araştırmada benzer elekrtofizyolojik değişiklikler farklı haftalarda tanımlanmıştır[103]. Repolarizasyon ve depolarizasyon süresindeki değişikliklerin ortaya çıkış zamanındaki farklılıkların bazı deneysel şartlardan kaynaklandığı kuvvetle muhtemeldir (STZ dozu, denek farklılığı). Çünkü diyabetik gelişim hayvanın kendi fizyolojik şartlarına bağlı olarak her hayvanda aynı oranda gelişmemiş olabilir. Diyabetli hayvan kalbi serbest duvar miyokardı bölgesinden izole edilen hücrelerden yapılan diğer bir çalışmada[104], AP repolarizasyon süresineki bu uzamadan, zarı repolarize edici K^+ akımlarının sorumlu olduğu gösterilmiştir. Değişik tipleri bulunan bu K^+- akımlarından olan içeri doğrultucu potasyum akımı (I_{K1})'da hiçbir değişiklik gözlenmezken, Ito ve kararlı durum (stady state) potasyum kanal akımı (Iss) akım yoğunluklarının azaldığı gözlenmiştir. Ventriküler repolarizasyonun erken fazının uzaması I_{to} ve I_{K1} K^+ kanal akımlarına, repolarizasyonun son evresinin uzaması ise içeri Na/Ca değiş tokuş (Exchange) akımının artmasına bağlı gibi görünmektedir[105]. Repolarizasyonun erken fazının uzunluğu muhtemelen K akımlarının baskılanmasına bağlıdır[40,41]. Benzer şekilde bu tur bir bulgu, kavak ve arkadaşları tarafındanda saptanmıştır[105]. Repolarizasyonun son evresinin uzaması, diyabetik papiller kasında Ca^{+2} un yükselmesiyle Na/Ca değişim akımının artmasına bağlanabilir[106].

Depolarizasyon ve repolarizasyon hızları (±dp/dt) diyabet grubunda belirgin bir şekilde yavaşlamıştır ($p<0,05$). RZG verilmiş Kontrol ve tedavi edilmiş diyabet grubunun ±dp/dt leri Kontrol ve diyabet grubuna göre istatistiksel olarak hızlanmıştır ($p<0,05$). STZ ile yapılan deneysel diyabetik hayvan model çalışmaları ile ilk kez 1980

yılında Fein ve arkadaşları, toplam AP süresinin uzaması, kasılma ve gevşeme hızlarının (±dT/dtmax) azalması ve ventriküller AP genliğinin azaldığını rapor etmişlerdir. Ancak diğer araştırmacılar diyabetik sıçan ventrikül hücrelerinin dinlenim zar potansiyelinde ve maksimum depolarizasyon hızında bir değişme gösteremezken, AP süresindeki uzamayı gözlemişlerdir[41].

Sonuç olarak bulgularımız, roziglitazonun diyabetik papiller kalp kasını depolarize etmesi ve repolarizasyon süresini uzatmış olması, voltaj kapılı K^+ kanal akımları için kuvvetli bir inhibitör olduğunu göstermektedir. Roziglitazon PPARγ reseptörüne (peroksizom proliferatör tarafından aktive edilen reseptör-gamma) bağlanarak tip 2 diyabette oluşmuş olan insülin direncini azaltıp insülin duyarlılığını artırmasının yanısıra, çeşitli iyon kanallarına etki ederek, temel terapötik etkinliğinden farklı sonuçlara yol açabileceğide gözardı edilmemelidir.

5.6 NPH-İnsülinin Biyoelektrik Parametrelerine Etkisi

Diyabet kaynaklı ölüm nedenleri arasında diyabetik kardiyomiyopati en önemli ikincil nedenler arasındadır. Diyabet süresince kalbin elektriksel olarak yeniden modellenmesinin altında insülin direnci, iyonik akım bozuklukları ve dolayısı ile uzamış AP süresi gibi değişiklilikler yer almaktadır[26,27,105]. Diyabette gözlenen uzamış aksiyon potansiyeli süresi baskılanmış K^+ akımları ile açıklanabilmektedir[27]. Bulgularımızda; K grubuna göre D+İNS grubunun dinlenim zar potansiyelindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). D+İNS grubunun dinlenim zar potansiyeli D grubuna göre istatistiksel fark anlamsızdır ($p>0,05$). (Çizelge 4.4, Şekil 4.7).

Aksiyon potansiyeli genliği; D grubuna göre D+İNS grubunun AP genliklerindeki artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). D grubu K grubuna göre AP genliğinin düşmüş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.8).

Aşma potansiyeli ise D+İNS grubunun aşma potansiyeli K grubunun aşma potansiyeline göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.9).

Depolarizasyon süresi; D grubu, K grubunun depolarizasyon süresine göre istatistiksel olarak anlamlı bir uzama saptanmıştır ($p<0,05$). İnsülin ile tedavi edilmiş

diyabet grubunun depolarizasyon süresi D grubunun depolarizasyon süresine göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak kısalmıştır ($p<0,05$). (Çizelge 4.4, Şekil 4.10).

D grubu 1/2RT si K grubunun 1/2RT sine göre uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). İnsülin tedavisi uygulanmış D+İNS grubunun 1/2RT si D grubunun 1/2RT sine göre istatistiksel olarak düşüş göstermiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.11).

Gruplara ait papiller kalp kası aksiyon poatansiyeli eğrilerinin pozitif ve negatif türevleri alınarak pozitif türevden depolarizasyon hızı, negatif türevden repolarizasyon hızı parametreleri hesaplandı ve bu parametreler Çizelge 4.4.2'de gösterilmektedir. D grubunun K grubuna göre düşüş göstermesi anlamlıdır. Uygulan tedavi D+İNS grubunun D grubunun depolarizasyon hızına göre fark anlamlıdır. Repolarizasyon hızı (-dp/dt); D grubunun -dp/dt si, K grubuna göre düşüş göstermesi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi uygulanmış D+İNS grubunun -dp/dt si D grubuna göre istatistiksel olarak artış göstermiştir ($p<0,05$). (Çizelge 4.5, Şekil 4.12-13).

Çalışmada streptozotocin (STZ) kullanılarak oluşturulan deneysel diyabetik kardiyomiyopatili kalbin elektriksel bulguları literatür bilgileri ile uyuşmaktadır. STZ ile yapılan deneysel diyabetik hayvan model çalışmaları ile ilk kez 1980 yılında Fein ve arkadaşları, toplam AP süresinin uzaması, kasılma ve gevşeme hızlarının ($\pm dT/dtmax$) azalması ve ventriküller AP genliğinin azaldığını rapor etmişlerdir. Ancak diğer araştırmacılar diyabetik sıçan kalp ventrikül hücrelerinin dinlenim zar potansiyelinde ve maksimum depolarizasyon hızında bir değişme gösteremezken, AP süresindeki uzamayı gözlemişlerdir[40]. Ayaz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada AP repolarizasyon süresinin uzamasının altında yatan iyonik mekanizmadan geçici dışarı doğru (Ito) ve steady state (Iss) potasyum akımlarında gerçekleşen azalmanın neden olduğu bulunmuştur[42]. Yapılan diğer araştırmalarda, Tip 1 diyabete aksiyon potansiyelinin biçimi değiştiren iyon kanaları ve akımları araştırılmıştır. Diyabetik sıçan kardiyomiyositlerinde özellikle Ca^{+2} dan bağımsız K^{+} akımı Ito nın değişmesi en önemli bulgulardan biridir. Ito akımının ventriküler epikardiyal bölgede endokardiyal bölgeye oranla daha faza değiştiği gözlenmiştir. Ve aynı zamanda Iss potasyum akımı azalmıştır. Bu değişikliklerin diyabetik elektro kardiyografide Q-T aralığının ve aksiyon potansiyeli süresinin uzamasına neden olduğunu gözlemmişlerdir[50]. Hücresel süreçte insülinin birçok komleks davranışı vardır. Genel olarak iki ayrılır. Birincisi hücre metebolizması

enzim aktivitesinde yer alır. İkincisi ise proteinlerin genetik yapılarının açıklamasında yer alır. İnsülin eksiliği kardiayak enerji metabolizmasını değiştirir. Diyabatin hücresel metabolizmasındaki değişiklikler; İyon kanallarının insülin ile regüle edilmelerinden veya insülinin gen ekspresyonuna etki etmesinden kaynaklanıyor olabilir. Yine aynı çalışmada, tip 2 diyabete Ito akımında bir azalma olmadığı ancak Iss akımının belirgin bir şekilde artığı gözlemlenmiştir. Bu değişimlerin insülinin direk etkisinden kaynaklanıyor olabileceği düşünülüyor. Shimoni ve arkadaşları insülinin K^+ akımları üzerinde tonik etkisi olduğunu bildirmişlerdir[50]. İnsülinin reseptöre bağlanması geniş bir hücresel mekanizmaya sahiptir. İnsülinin farklı genler üzerinde ve enzim davranışlarında farklı görevler yapar. Ayrıca lipit kinaz, fosfoinositol 3- kinaz (IP-3 kinaz) hücre içi metabolizmanın insülin ile düzenlenmesinde önemli bir roller üstlenmişlerdir. Bu enzim K^+ kanallarının işlevlerinin insülin ile etkin rol oynamaktadır.

Diyabet grubunun depolarizasyon sürelerinin sekiz haftalık insülin tedavisi ile bu sürelerin normalize olduğu görülmektedir.

5.7 Roziglitazon ve NPH-İnsülin Kombinasyonun Biyoelektrik Parametrelerine etksi

K grubuna göre D+RZG+İNS grubu dinlenim zar potansiyelindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). D+RZG+İNS gruplarının dinlenim zar potansiyeli D grubuna göre istatistiksel fark anlamsızdır ($p>0,05$). (Çizelge 4.4, Şekil 4.7).

D grubu K grubuna göre AP genliğinin düşmüş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Ayrıca K grubu D+RZG+İNS grubu AP genliği arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). (Çizelge 4.4, Şekil 4.8).

Diyabet grubunun aşma potansiyeli kontrol grubuna göre artmış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). K grubu ile D+RZG+İNS grubuna göre aşma potansiyelleri arasında fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$). (Çizelge 4.4, Şekil 4.9).

RZG ve İNS verilmiş tedavi grubunun depolarizasyon süreleri D grubunun depolarizasyon süresine oranla istatistiksel olarak kısalmıştır ($p<0,05$). (Çizelge 4.4, Şekil 4.10).

D grubunun 1/2RT si K grubunun 1/2RT sine göre uzaması istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi uygulanmış D+RZG+İNS grubunun 1/2RT si D grubunun 1/2RT sine göre istatistiksel olarak düşüş göstermiştir ($p<0,05$). (Çizelge 4.4, Şekil 4.11).

Gruplara ait papiller kalp kası aksiyon potansiyeli eğrilerinin pozitif ve negatif türevleri alınarak pozitif türevden depolarizasyon hızı, negatif türevden repolarizasyon hızı parametreleri hesaplandı ve bu parametreler Çizelge 4.5'de gösterilmektedir. D grubunun K grubuna göre depolarizasyon hızlarının düşmesi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi uygulanmış D+RZG+İNS grubunun D grubunun depolarizasyon hızına göre fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0,05$).

D grubunun repolarizasyon hızı (-dp/dt), K grubuna göre göre düşmesi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tedavi uygulanmış D+RZG+İNS grubunun -dp/dt leri D grubuna göre istatistiksel olarak artış göstermiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.5, Şekil 4.13).

Bu çalışmanın bulgularına göre; Roziglitazon ve insülinin kombine şekilde uygulamasının diyabet sonucu oluşan AP'deki değişiklikler ve kasılma-gevşeme fonksiyonlarında oluşan bozuklukları normale döndürdüğü görülmektedir. Literatürde konu ile ilgili tum bulgularımızı destekleyen benzer çalışmaya rastlanılmadı. Ancak diyabetik bulgularımız literatür bilgisiyle benzer şekildedir. İnsülin uygulaması diyabetle azalmış olan K^+ akımlarının tepe değerlerini kontrol değerlerine yaklaştırmıştır. Shimoni ve ark (1999) tarafından K^+ kanal proteinlerinin regülasyonunun insülin sinyal iletim yolağı ile ilişki içinde olduğunun gösterilmesi ve diyabetik K^+ akım yoğunluğunun insülin inkübasyonu ile normalize edilmesi bulguları[50,51] çalışmamıza ışık tutmaktadır. Çünkü yetersiz insülin salınımı ve zeminde gelişen insülin direnci ile tip 2 diyabet ile karakterizedir. İnsülin ile tedavi edilmiş grupta sistemik dolaşımda artan insülinin ve aynı gruba RZG'nun verilmesi PPARγ gama reseptörüne bağlanarak insülinin duyarlılığını artırmaktadır[10]. K^+ kanal proteinlerinin regülasyonunun insülin sinyal iletim yolağı ile ilişki içinde olduğunun yapılan çalışmalarda gösterilmesi ve diyabetik gruba insülin verilmesi ile K^+ akım yoğunluğunun artması sonucu repolarizasyon süresinin normale döndürdüğünü düşünmekteyiz. Buna ek olarak, çalışmamızda RZG+İNS verilmiş diyabetli grupta kan glikoz düzeyinin diyabetlilere göre daha da düşmesi bu savı doğrulamaktadır. Ancak

etkinin doğrudan insülin reseptörleri üzerine değil PPARγ üzerinden ve başka aşamalarda olabileceğini de düşündürmektedir.

5.8 Plazma Kan Glikozu Düzeyleri

Tip 2 DM 'de metabolik anormallikleri düzeltmek, insülin sekresyonunu artırmak ve/veya insülin direncini azaltmak ile sağlanır. TZD ise insülin duyarlılığını artıran etkinliğini kanıtlamış bir antidiabetikdir [107]. Klinik çalışmalarla TZD ile tedavi edilen tip 2 DM 'lu hastaların kilo aldığı gösterilmiştir. Bununla birlikte kilo almaya rağmen glisemik kontrolün sağlandığı ve pozitif ilişkili olarak HbA_{1c} düzeyinin azaldığı rapor edilmiştir[14]. TZD tedavisini takiben lipit metabolizmasında veya yağ dağılımında değişiklikler olabilir. Roziglitazon tip 2 DM hastalarında artmış kardiovasküler hastalık riskini ortadan kaldırabilecek birçok farmakodinamik etkiye sahiptir[107]. Diğer çalışmalarda tedavi öncesine göre LDL kolesteroldeki artışa rağmen insülin direnci de, LDL kolesterol de daha sonra azaltmaktadır. Anti-aterojenik HDL kolesterol düzeyi ise artırmaktadır. TG düzeylerinde ise sıklıkla klinik açıdan anlamlı olamayan değişiklikler kaydedilmektedir. RZG ile toplam vücut ağırlığı artsa da artışlar visseral değil subkutan yağ depolarında olmaktadır, karaciğer yağı ise azalmaktadır[108]. Diyabet grubumuzun total kolesterol, VLDL ve TG düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı artış sağlarken, LDL ve HDL kolesterol düzeylerinde istatistiksel açıdan anlamı olmayan azalışlar oldu. D+RZG grubu total kolesterol, VLDL ve TG düzeylerinde anlamlı düşüşler saptandı. LDL ve HDL kolesterol düzeylerinde ise etki görülmedi. Roziglitazon, en fazla yağ dokusunda eksprese edilen "nuclear peroxisome proliferator- activated receptor-gamma (PPAR-β)"ya bağlanan ve etkilerini adipogenezisi, adiposit diferansiasyonunu, glikoz ve lipid metabolizmasını etkileyen genlerin transkripsiyonunu aktive ederek gösteren sentetik moleküllerdir. PPAR aktivasyonuyla glikoz regülasyonunda yer alan özel adiposit genlerinin [GLUT 4, lipoprotein (LPL), yağ asit taşıyıcı protein vb.] ekspresyonunun artışı, adipositlerin metabolizmasını değiştirdiğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarında benzer etki göstermektedir. (Çizelge 4.7, Şekil 4.15).

Elde edilen sonuçlardan HbA1c ve homosistein (Hcy) değerlerinin D grubu ile kontrol ve tedavi grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). (Çizelge 4.7, Şekil 4.16-17). Hcy; metiyoninin metaboliti olan sülfürlü bir

aminoasittir. İlk olarak yetmişli yıllarda hiperhomosisteinürililerde prematür AS ve tromboemboli varlığının gösterilmesi üzerine yoğunlaşan vaka kontrollü çalışmalarda hiperhomosisteineminin koroner, serebral ve periferik vasküler hastalıklar için bir risk faktörü olduğu tespit edilmiştir[109]. Sağlıklı kişilerde normal hcy 5-15 µmol/L düzeyinde olup plazma hcy 'de 5 µmol/L'lik artış koroner arter hastalık riskini 1,6 ile 1,8 kat artırmaktadır[110]. Hcy 'nin AS ve tromboemboli riskini arttırdığı ortaya konmuş olmakla beraber mekanizması net olarak açıklanamamıştır. AS başlangıcında endotel hasarı kritik rol üstlenir, hcy direk olarak endotelyal hücreye hasar verdiği gibi endotelyal antikoagulan özelliği prokoagulan özelliğe çevirir beraberinde vasküler düz kas hücresinde proliferasyona yol açar.

Hiperhomosisteinemi ve DM kardiovasküler hastalıklar için birer bağımsız risk faktörleridir. Hoogeveen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada hcy düzeyinde her 5 µmol/L'lik artış ile kardiovasküler hastalık riskini normal bireylerde 1,38 kat, glikoz intoleransı olanlarda 1,55 kat ve diyabetik olgularda 2,33 kat arttığını ortaya koymuşlardır[108]. Drzewoski ve arkadaşlarını yaptığı çalışmada kötü kontrollü tip 2 DM 'li olgularda iyi kontrollü tip 2 DM 'li olgulara ve normal bireylere göre anlamlı yüksek bulmuşlar ve tip 2 DM olgularda AKŞ ve HbA1c ile hcy arasında doğru, plazma insülin düzeyi ile ters ilişki olduğunu bildirmişlerdir[110].

5.9 Elektron Mikroskobik Etkiler

Tüm araştırmacıların bulgularına paralel olarak diyabetik bulgularımızda Papiller kası lifleri kontrol grubuna göre genellikle normal histolojik yapıda izlenirken, bazı alanlarda ise hafif yapısal değişiklikler göstermekteydiler. Bu yapısal değişiklikler sarkoplazmada yer yer elektron lusent vakuollerin varlığı, bazı kas liflerinde sarkozomal matrikste elektron lusent alanların oluşumu (Şekil 4.20), Z-çizgisinde kontrol grubuna göre hafif düzensizlik ile birlikte densite kaybı (Şekil 4.21), Glikojen partikülleri, miyofilamanlar ve sarkozomlar ile yakın yerleşimli olarak sarkoplazma boyunca küçük gruplar halinde bulunmaktaydı. Kalp kası liflerini birbirine bağlayan diskus interkalarisler bazı mikrograflarda normal ultrastrüktürel özelliklerini korurken bazılarında ise hafif düzensizlikler gözlendi (Şekil 4.21). Roziglitazon verilmiş kontrol grubu normal histolojik yapıda olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.23). Roziglitazon ile tedavi edilmiş diyabet grubunda ise diyabet grubuna göre ökromatik çekirdekleri girintili

çıkıntılı olup, belirgin bir çekirdekçik içermekteydi. Sarkoplazmalarının büyük çoğunluğu ince ve kalın miyofilamentler tarafından doldurulmuş olup ince ve kalın miyofilamentlerin oluşturduğu enine çizgilenme normal olarak izlendi. Sarkozomlar normal histolojik özelliklerini göstermekteydiler. Sarkoplazmik retikülüm ve transvers tübülün oluşturduğu dyadlar da normal yapıda izlendi. Özelleşmiş bağlantı bölgeleri olan diskus interkalarisler de normal yapıda izlendi (Şekil 4.23). Yine D+İNS ve D+RZG+İNS gruplarınında normal histolojik yapıda olduğu gözlendi (Şekil.4.22, Şekil 4.24).

Diyabetes mellitus'un çeşitli kardiyak anomalilerle sonuçlandığı klinik ve deneysel çalışmalarla gösterilmiştir[111]. Diyabetik bireylerde kardiyak ölümlerin asıl nedeni koroner atheroskleroza bağlanmaktadır. Ancak yapılan araştırmalar miyokard kontraktil disfonksiyon insidansının, koroner arter hastalıklarına oranla fazla olduğunu göstermektedir. Kardiyomiyopatide miyokartda hipertrofi, fibrozis ve kalp kası hücrelerinde lipid birikimi gözlenmektedir[112]. Bu konuda 1980'li yıllarda diyabet modelleri oluşturmak amaçlı alloksan kullanılmış ve çalışmalarda farklı türlerden erkek denekler kullanılmıştır; tavşanlar ile yapılan bir araştırmada diyabet oluşumunu izleyen [112]. haftada mitokondriyonlarda şişkinlik ve fragmantasyon, mitokondriyal matriks içerisinde elektron yoğun amorf maddelerin varlığı ve kristolizisin varlığı gözlenmiştir. Ek olarak sitoplazmada lipid ve glikojen birikimi olduğu, sarkoplazmik retikulum dilatasyonu ve dilate sarkoplazmik retikulum içerisinde değişik yoğunluktaki madde birikimi gözlenmiştir. Aynı araştırıcılar miyofibrillerde de dejeneratif değişikliklerin olaylandığını belirtmişlerdir[113]. Thompson12, sıçanlarla yaptığı araştırmasında, 12 haftalık diyabette mitokondriyal dejenerasyonun çok belirgin olmadığını vurgulamıştır. Araştırıcı yaptığı incelemesinde, fokal miyofibril kaybı, transfer tübül ve sarkoplazmik retikulumlarda kayıp, interkalat disklerde ayrılmalar gözlemlemiştir. Alloksandan sonra sıklıkla kullanılan bir diğer ajan ise STZ'dir. Araştırıcılar erkek sıçanlar kullanarak STZ enjeksiyonu ile oluşturulan diyabet modellerinde erken dönemden başlayarak geniş bir zaman diliminde kalp kası hücrelerindeki yapısal değişimleri inceleyen bir çok çalışma yapmışlardır[114]. Harackova ve Murphy[114], STZ ile oluşturulan diyabetik sıçanlarda 8-10 haftalık süreçte ventriküler kalp kası hücrelerinde minimal düzeyde değişiklik olduğunu savunmuşlardır. Zhu ve ark.[115], erkek sıçanlarda STZ ile oluşturulan diyabet sonrası 4. haftada ventriküler kalp kası hücrelerine ait mitokondriyonlarda şişkinlik ve

dejenerasyon olduğunu, 8. haftada interkalat disklerde dilatasyon, ve hücre içerisinde glikojen birikimi olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada da diyabeti izleyen 8. haftada interkalat disklerde dejenerasyon bildirilmiştir[116].

Bir diğer araştırmacı ise 60-65 mg/kg STZ enjeksiyonu ile erkek sıçanlarda oluşturduğu diyabet modellerinde 12 hafta sonunda yaptığı elektron mikroskobik incelemede Zhu ve ark.'nın tüm bulgularına ek olarak miyofibrillerde dejeneratif değişiklikler, lipid birikimi ve çekirdekte kromatin kondensasyonu gözlemlemişlerdir[117]. McGrath ve McNeill[118] diyabeti izleyen 12. haftada sarkoplazmik retikuluma komşu alanlarda orta dereceli ödem gözlemlemişlerdir. Başka çalışmalarda diyabeti izleyen 16 ve 24 haftalık erkek sıçanlarda da benzer bulgular gözlemlenmiş ek olarak sitoplazmada vakuollerin şekillendiği ve sarkoplazmik retikulumda azalma izlenmiştir[119].

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diabetes mellitus, uzun yıllardan beri tanınan ve görülme sıklığı oldukça sık olan metabolik bir hastalıktır. Diyabette ikincil gelişen komplikasyonların çeşitli dokularda yapı ve fonksiyon değişikliklerine neden olduğu gösterilmiş olmasına rağmen bu patolojilere yol açan mekanizmalar henüz tam olarak aydınlanamamıştır.

Roziglitazonun 60 gün boyunca tedavi edilen sağlıklı ve diyabetli gruplardaki sıçanlarda kilo kaybına neden olmadığı ve kilo kazandırdığı, oysa diyabetli sıçanların vücut ağırlık kayıp hızını azalttığı ve kan şekerini anlamlı olarak düşürdüğü görüldü.

Diyabetli sıçanların papiller kalp kasının sarsı kasılma kuvveti, normal sıçanlarınkinin yaklaşık %30 u kadar daha düşük bulundu.

Roziglitazonun sağlıklı ve diyabetli sıçanların sol ventrikül papiller kalp kaslarının kasılma kuvvetlerini artırdığı tespit edildi.

Diyabet mikroelektrotla kayıtlanan papiller kalp kası aksiyon potansiyel (AP)nin genliğini ve dinlenim zar potansiyelini değiştirmediğini, fakat repolarizasyon süresini normal sıçanlarınkine göre yaklaşık %40 uzattığını gözlemledik. Roziglitazonun, hem normal hemde diyabetli sıçanların papiller kalp kası APnin genliğini arttırdığını, dinlenim zar potansiyelini depolarize ettiğini, repolarizasyon süresini kontrol kaslarda anlamlı uzatırken, diyabetli sıçanlar fazla değiştirmediğini bulduk.

Roziglitazon, tedavi edilen diyabet grubunun glikoz düzeylerini, Hemoglobin A1c, total kolesterol, trigliserit ve homosistein değerlerini azalttı.

Diyabetik papiller kası lifleri kontrol grubuna göre genellikle normal histolojik yapıda olduğu fakat bazı alanlarda hafif yapısal değişiklikler görülmekteydi. Tedavi edilen gruplarda ise normal histolojik yapıda olduğunu gözlemledik.

Diyabetli deneklerde roziglitazon tedavisi, hastalık tablosunu ortadan tamamen kaldırmadıysa da, kötüye giden tabloyu durdurduğu, istenilen düzeyde olmasa da iyileşme yaptığı gözlenmiştir. Ancak biyomekanik ölçümlerin, kanal düzeyinde elektofizyolojik ölçümlerle ve histolojik olarak da morfometrik çalışmalarla desteklenmesi gerektiği inancındayız.

Bununla birlikte, roziglitazunun diyabetli hayvanların papiller kası üzerindeki optimum pozitif etkisinin belirlenebilmesi için, daha üzün süreli tedavilere ve yapılacak yeni çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. **Altuntaş Y.** Diabetes Mellitusıun Tanımı, Tanısı ve Sınıflaması. Ed. Yenigün M. Her Y.n.yle Diabetes Mellitus. Nobel Tıp Kitapevi. 51-67; **2001**.

2. **Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D.** Diabetes, other risc factors, and 12 year cardovascular mortality for men screened in the Multipl Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *Diabetes Care,* **1993**;16:434-444.

3. **Haffner SM.** Epidemiology of type 2 diabetes: risk factors. *Diabetes Care*. **1998** Dec;21 Suppl 3:C3-6.

4. **Haffner SM, Lehto S, Ronnemaa T, Pyorala K, Laakso M.** Mortality from coronary heart disease in subjects with type-2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* . **1998**; 339:229-234.

5. **DeFronzo RA,** Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care.* **1991**; 14:173-942.

6. **Laaksonen DE, Lakka HM, Niskanen LK, Kaplan GA, Salonen JT, Lakka TA.** Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. *Am J Epidemiol*. **2002**; 156:1070-1077.

7. **Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, Taskinen MR, Groop L.** Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. **2001**; 24:683-689.

8. **Donahue RP, Orchard TG.** Diabetes mellitus and macrovascular complications; An epidemiological perspective. *Diabetes Care* **1992**;15:1141-1155.

9. **Day C.** Thiazolidinediones: a new class of antidiabetic drugs. *Diabet Med* **1999**; 16:179-192.

10. **Schoonjans K, Auwerx J.** Thiazolidinediones: an update. *Lancet* **2000**; 355:1008-1010.

11. **Fonseca VA, Foyt HL.** Whitcomb R. Longterm effects of troglitasone: open-label extension studies in type 2 diabetes patients. *Diabetes Care* **2000**; 23: 354-359.

12. **Suter SL, Nolan JJ, Wallece P, Gumbiner B.** Olefsky JM. Metabolic effect of new oral hypoglyceamic agent cs –045 in NIDDM subjects. **Diabetes Care 1992**;15:193-203.

13. **Maggs DG, Buchanan TA, Burant CF.** Metabolic effects of troglitasone monotherapy in type 2 diabetes mellitus a randomised, double- blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* **1998**;128: 176-185.

14. **Fonseca VA, Valiquett TR, Huang SM, Ghazzi MN, Whitcomb RW.** The Troglitasone Study roup. Troglitasone monotherapy improves glycaemic contral in patients whit type 2 Diabetes mellitus: a randomised, controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* **1998**; 83: 3169-3176.

15. **Sanchez-Margalet V, Valle M, Ruz FJ, Gascon F, Mateo J, Goberna R.** Elevated plasma total homocysteine levels in hyperinsulinemic obese subjects. *J Nutr Biochem*, **2002**; 13: 75-79.

16. **Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, Gooren LJ, Asscheman H, Stehouwer CD.** Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non- obese subjects. *Atherosclerosis*, **1998**; 139: 197-198.

17. **Najib S, Sanchez-Margalet V.** Homocysteine thiolactone inhibits insulin signaling, and glutathione has a protective effect. *J Mol Endocrinol* **2001**; 27: 85-91.

18. **Poddar R, Sivasubramanian N, DiBello PM, Robinson K, Jacobsen DW.** Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic endothelial cells: implications for vascular disease. *Circulation.* **2001** Jun 5;103(22):2717-23.

19. **Patel J, Anderson R.J,** Rappaport rosiglitazone monotherapy improves glycaemic control in patients with type 2 diabetes: a twelwe- week, randomized, placebo-controlled study. *Diabetes Obesity and Metabolism.* 1, **1999**. 165-172.

20. **Raev DC.** Which left ventricular function is impaired earlier in the evolution of diabetic cardiomyopathy? An echocardiographic study of young type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* **1994**; 17: 633-639.

21. **Malhorta A, Reich D, Reich D, Nakouzi A, Sanghi V, Geenen D.L, Buttrick P. M**. Experimental diabetes is associated with functional activation of protein kinase Cε and phosphorylation of troponin I in the heart, which are prevented by angiotensin II receptor blockade. *Circ Res.* **1997;** 81: 1027-1033.

22. **Dhalla N. S., Liu X., Panagia V., Takeda N.** Subcellular remodeling and heart dysfunction in chronic diabetes. *Cardiovasc Res.* **1998**, 40: 239-247.

23. **Hayashi H., Noda N.** Cytosolic Ca^{+2} concentration decreases in diabetic rat myocytes. *Cardiovasc Res*. **1997**, 34: 99-103.

24. **Tsuchida K, Watajima H, Otomo S.** Calcium current in rat diabetic ventricular myocytes. *Am J Physiol*. **1994**, Dec;267(6 Pt 2): H2280-9.

25. **Jourdon P, Feuvray D.** Calcium and potassium currents in ventricular myocytes isolated from diabetic rats. *J Physiol*. **1993** Oct;470:411-29.

26. **Wang D. W, Kiyosue T, Shigematsu S, Arita M.** Abnormalities of K^+ and Ca^{+2} currents ventricular myocytes from rats with chronic diabetes. *Am J Physiol*. **1995**, 269: H1288-H1296.

27. **Shimoni Y.** Protein kinase C regulation of K^+ currents in rat ventricular myocytes and its modification by hormonal status. *J Physiol.* **1999**, 520(2): 439-449.

28. **Wilson JD, Poster DW.** *Williams Textbook of Endocrinology.* 8th .Ed.. Philadephia: W.B. Saunders Company. **1992**.

29. **Mayfield J.** Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: New Criteria. *American Family Phyician*,**1995;**58(6):1355-1362.

30. **Bağnaçık N. Biberlioğlu S, Görpe U, Satman İ, Birsel İ.** *Tip 2 Diyabet Tanı, Komplikasyonlara Yaklaşım, Tedavi*. İstanbul: Nova Nordisk Diyabet Servisi, **1996.**

31. **Smith LH, Thier SO.** *Pathophysiology The Biological Principles of Disease.* 2nd Ed. Philadephia: W.B. Saunders Company. **1985**.

32. **Ivy JL, Zderick TW, Fogt DL.** Prevention and treatment of non-insulin dependent diabetes mellitus. Holloszy J O. *Exerc. Sport. Sci. Rew,* USA. Lippincott Williams and Wilkins. **1999**; 1-36.

33. **Kayaalp O S.** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (Hacettepe-TAŞ 9. Baskı 2000) Cilt 2;S:1252-64.

34. **Berne RM, Levy MN, Koeppen B M, Stanton B A.** *Principles of Physiology*. International student Ed. Wolfe Publishing Ltd., England, **1990:** 154-171.

35. **Ganong WF.** *Tıbbi Fizyoloji* (Çeviri: Türk Fizyolojik Bilimler Derneği), 17. baskı, Cilt 1. İstanbul: Barış Kitabevi/Appleton&Lange **1996;** 345-390.

36. **Ayaz M**. Deneysel Diyabetik Kardiyomiyopatide Hücre İçi Serbest İyon derişimi**.** Doktora, Ankara üniversitesi, Ankara/Türkiye, **2004**.

37. **Wahler, GM.** Muscle and other contractile system section *VI. Academic Press.* **1997.**

38. **Gadsby, DC.** The Na/K pump of cardiac cells. *Annu Rev Biophys Bioeng*. **1984,** 13:373-398. Review.

39. **Bers Dm.** Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature.* **2002,** 415(68): 198-205.Review.

40. **Magyar J, Rusznak Z, Szentesi P, Szucs G, Kovacs L.** Action potentials and potassium currents in rat ventricular muscle during experimental diabetes. *J Mol Cell Cardiol*. **(1992),** 24(8): 841-53.

41. **Shimoni Y, Ewart Hs, Severson D.** Type I and II models of diabetesproduce different modifications of K^+ currents in rat heart: role of insulin. *J Physiol*. **1998,** 507 (Pt 2): 485-96.

42. **Ayaz M, Ozdem_R S, Ugur M, Vassort G, Turan B.** Effects of selenium on altered mechanical and electrical cardiac activities of diabetic rat. *Arch Biochem Biophys*. **2004,** 426(1): 83-90.

43. **Ravens U, Wettwer E, Ohler A, Amos Gj, Mewes T.** Electrophysiology of ion channels of the heart. *Fundom Clin*. *Pharmacol*. **(1996),** 10: 321-28.

44. **Pogwizd SM, Schlotthauer K, Li L, Yuan W, Bers DM.** Arrhythmogenesis and contractile dysfunction in heart failure: Roles of sodium-calcium exchange, inward rectifier potassium current, and residual beta-adrenergic responsiveness. *Circ Res.* **(2001),** 88(11): 1159-67.

45. **Zimmet Pz, Collins VR, Dowse GK, Knight LT.** Hyperinsulinaemia in youth is a predictor of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. **1992** 35(6):534-41.

46. **Szkudelskı, T.** The mechanism of alloxan and streptozotocin action in cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* **2001,** 50**:** 536-546.

47. **Fein FS, Kornstein LB, Strobeck JJ, Capasso JM, Sonnenblick EH.** Altered myocardial mechanics in diabetic rats. *Circ Res*. **1980.** 47(6): 922-33.

48. **Atalay M, Laaksonen DE.** Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *J. Sports Scienc. Med.* **2002.** 1**:** 1-14 Review.

49. **Ozturk Y, Altan VM, Yıldızoglu-Ari.** Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol Rev* **1996**. 48(1): 69-112. Review.

50. **Shimoni Y, Firek L, Severson D, Giles W.** Short-term diabetes alters K^+ currents in rat ventricular myocytes. *Circ Res.* **1994,** 74(4): 620-8.

51. **Shimoni Y, Light PE, French RJ.** Related Articles, Altered ATP sensitivity of ATP-dependent K^+ channels in diabetic rat hearts. *Am J Physiol*. **1998,** 275 (4 Pt 1): E568-76.

52. **Shimoni Y, Ewart HS, Severson D.** Insulin stimulation of rat ventricular K^+ currents depends on the integrity of the cytoskeleton. *J Physiol* **1999**. 514 (Pt 3) :735-45.

53. **Ganguly PK, Pierce GN, Dhalla KS, Dhalla NS.** Defective sarcoplasmic reticular calcium transport in diabetic cardiomyopathy. *Am J Physiol*. **1983** 244(6): E528- 35.

54. **Lopaschuk GD, Katz S, Mcne_Ll JH.** Characterization of cardiac microsomal sarcoplasmic reticulum prepared from control and diabetic rats. *J. Pharmacol Methods* **1983**.10(3): 199-206.

55. **Choi KM, Zhong Y, Hoit BD, Grupp Il, Hahn H, Dilly KW, Guatimosim S, Lederer WJ, Matlib MA.** Defective intracellular Ca^{2+} signaling contributes to cardiomyopathy in Type 1 diabetic rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **2002**. 283 (4): H1398-408.

56. **Netticadan T, Temsah RM, Kent A, Elimban V, Dhalla NS.** Depressed levels of Ca^{2+}-cycling proteins may underlie sarcoplasmic reticulum dysfunction in the diabetic heart. *Diabetes*. **2001** 50(9): 2133-8.

57. **Taegtmeyer H.** Energy metabolism of the heart: from basic concepts to clinical applications. *Curr Probl Cardiol*. **1994**;19:62-101.

58. **Apstein CS, Gravino FN, Haudenschild CC.** Determinants of a protective effect of glucose and insulin on the ischemic myocardium. Effects on contractile function, diastolic compliance, metabolism and ultrastructure during ischemia and reperfusion. *Circ Res* . **1983;** 52 (5):515-526.

59. **Tian R, Abel ED.** Responses of GLUT4-deficient hearts to ischemia underscores the importance of glycolysis. *Circulation*. **2001**;103:2961-2966.

60. **Dubois M, Pattou F, Kerr-Conte J, Gmyr V, Vandewalle B, Desreumaux P, Auwerx J, Schoonjans K,** Expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) in normal human pancreatic islet cells. *Diabetologia* **2000**; 43:1165-1169.

61. **UK Prospective Diabetes Study Group:** Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33*). Lancet* 1998; 352:837-853.

62. **Kannel WB, McGee DL:** Diabetes and cardiovascular disease risk factors: the Framingham Study. *Circulation* **1979**; 59:8-13.

63. **Donnelly R, Emslie-Smith AM, Gardner ID,** Donnelly R, Emslie-Smith AM, Gardner ID, Morris AD. ABC of arterial and venous disease: vascular complications ofdiabetes. *BMJ*. **2000** Apr 15;320(7241):1062-6. Review.

64. **Gregory A. Knock, Santosh K. Mishra, Philip I. Aaronson** Differential effects of insulin-sensitizers troglitazone and rosiglitazone on ion currents in rat vascular myocytes *European Journal of Pharmacology* **1999**; 368;.103–109.

65. **Schoonjans K, Auwerx J:** Thiazolidinediones: an update. *Lancet* **2000**; 355:1008-1010.

66. **DeFronzo R:** Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* **1999**; 131:281-303.

67. **Defronzo R:** Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus (Letter). *Ann Intern Med* **2000**;133:73-74.

68. **Kumar S, Boulton AJM, Beck-Nielsen H, Berthezene F, Muggeo M, Persson B, Spinas GA, Donoghue S, Lettis S, Stewart-Long P.** Troglitazone, an insulin action enhancer, improves metabolic control in NIDDM patients. *Diabetologia* **1996**; 39:701-709.

69. **Inzucchi SE, Maggs DG, Spollett GR, Page SL, Rife FS, Walton V, Shulman GI.** Efficacy and metabolic effects of metformin and troglitazone in type II diabetes mellitus. *N Engl J Med* **1998**; 338:867-872.

70. **Maggs DG, Buchanan TA, Burant CF, Cline G, Gumbiner B, Hsueh WA, Inzucchi S, Kelley D, Nolan J, Olefsky JM, Polonsky KS, Silver D, Valiquett TR, Shulman GI.** Metabolic effects of troglitazone monotherapy in type 2 diabetes mellitus. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* **1998** Feb 1;128(3):176-85.

71. **Ogihara T, Rakugi H, Ikegami H, Mikami H, Masuo K.** Enhancement of insulin sensitivity by troglitazone lowers blood pressure in diabetic hypertensives. *Am J Hypertens* **1995**; 8:316-320.

72. **Ghazzi MN, Perez JE, Antonucci TK, Driscoll JH, Huang SM, Faja BW, Whitcomb RW.** Cardiac and glycemic benefits of troglitazone treatment in NIDDM. the Troglitazone Study Group. *Diabetes* **1997**; 46:433-439.

73. **Claudi T, Starkie M, Frith L, et al:** Troglitazone improves cardiovascular risk profile comparedwith glibencamide. *Diabet Med* **1997**; 14(suppl 4):530.

74. **Imano E, Kanda T, Nakatani Y, Nishida T, Arai K, Motomura M, Kajimoto Y, Yamasaki Y, Hori M** Effect of troglitazone on microalbuminuria in patients with incipient diabetic nephropathy. *Diabetes Care* **1998**; 21:2135-2139.

75. **Kelly IE, Han TS, Walsh K, Lean ME.** Effects of a thiazolidinedione compound on body fat and fat distribution of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* **1999**; 22:288-293.

76. **Mori Y, Murakawa Y, Okada K, Horikoshi H, Yokoyama J, Tajima N, Ikeda Y.** Effect of troglitazone on body fat distribution in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* **1999**; 22:908-912.

77. Brunzell JD, Hokanson JE: Dyslipidemia of central obesity and insulin resistance. *Diabetes Care* **1999**; 22(suppl 3):C10-C13.

78. Cavaghan MK, Ehrmann DA, Byrne MN, Polonsky KS. Treatment with the oral antidiabetic agent troglitazone improves ß-cell responses to glucose in subjects with impaired glucose tolerance. *J Clin Invest* **1997;** 100:530-537.

79. Ahn HS. Kim SE, Jang HJ, Kim MJ, Rhie DJ, Yoon SH, Jo YH, Kim MS, Sung KW, Kim SY, Hahn SJ. Open channel block of Kv1.3 by rosiglitazone and troglitazone: Kv1.3 as the pharmacological target for rosiglitazone. Naunyn Schmiedebergs *Arch Pharmacol.* **2007;** Jan;374(4):305-9. Epub 2006 Nov 21.

80. Sviglerova J, Kuncova J, Stengl M. Negative inotropic effect of insulin in papillary muscles from control and diabetic rats. *Physiol Res.* **2005**;54(6):661-70.

81. Ezaki O. The insulin-like effects of selenate in rat adipocytes. *J Biol Chem.* **1990**; 265(2): 1124-8.

82. Carmona MC, **Louche K**, **Nibbelink M**, **Prunet B**, **Bross A**, **Desbazeille M**, **Dacquet C**, **Renard P**, **Casteilla L**, **Pénicaud L**. Fenofibrate prevents Rosiglitazone-induced body weight gain in ob/ob mice. Int J Obes (Lond). **2005** Jul;29(7):864-71.

83. Jones TA, Sautter M, Van Gal LF. Addition Of Rosiglitazon To Metformin Is Most Effective In Obese, Insulin-Resistant Patients With Type 2 Diabetes. Diabetes, Obesity and Metabolism. **2003,** 5: 163-70.

84. Ishikawa T, Kajiwara H, Kurihara S. Alterations in contractile properties and Ca2+ handling in streptozotocin-induced diabetic rat myocardium. *Am J Physiol*. 1999 Dec;277(6 Pt 2):H2185-94.

85. **Satoh N, Sato T, Shimada M, Yamada K, Kitada Y**. Lusitropic effect of MCC-135 is associated with improvement of sarcoplasmic reticulum function in ventricular muscles of rats with diabetic cardiomyopathy. *J Pharmacol Exp Ther*. **2001**; 298(3): 1161-6.

86. Trost Su, Belke Dd, Bluhm Wf, Meyer M, Swanson E, Dillmann Wh. Overexpression of the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase improves myocardial contractility in diabetic cardiomyopathy. *Diabetes.* **2002**, 51(4): 1166-71.

87. Penpargkul S, Scha_Ble T, Yipintsoi T, Scheuer J. The effect of diabetes on performance and metabolism of rat hearts. *Circ Res.* **1980**; 47(6): 911-21.

88. Teshima Y, Takahasi N, Saikawa T, Hara M,yasunaga S, Hidaka S, Sakata T. Diminished expression of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase and ryanodine sensitive Ca^{2+} Channel mRNA in streptozotocin-induced diabetic rat heart. *J Mol Cell Cardiol*. **2000**; Apr;32(4):655-64.

89. Joseph T, Coirault C, Dubourg O, Lecarpentier Y. Changes in crossbridge mechanical properties in diabetic rat cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol*. 2005 May;100(3):231-9. Epub **2005,** Jan 10.

90. Vadlamudi RV, Rodgers RL, McNeill JH. The effect of chronic alloxan- and streptozotocin-induced diabetes on isolated rat heart performance. Can *J Physiol Pharmacol*. **1982**, Jul;60(7):902-11.

91. David J, Tavernier B, Amour J. Myocardial Effects of Halothane and Sevoflurane in Diabetic Rats. *Anesthesiology*:Volume **2004**, 100(5)May pp 1179-1187.

92. Fein FS, Sonnenblick EH. Diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Drugs Ther*. **1994**, Feb;8(1):65-73. Review.

93. Brown Ra, Anthony Mj, Petrovskı P, Ren J. The influence of gender, diabetes, and acetaldehyde on the intrinsic contractile properties of isolated rat myocardium. *Cardiovasc Toxicol*. **2001**, 1: 35-42.

94. Sethı R, Barwınsky J, Beamısh RE, Dhalla NS. Mechanism of the positive inotropic action of insulin. *J App Cardiol*. **1991**, 6: 199-208.

95. Mayers MGJ, Whıte MF. Insulin signal transduction and the IRS proteins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. **1996**, 36: 615-658.

96. Algenstaedt PM, Antonettı DA, Yaffe MB, Kahn CR. Insulin receptor substrate creates a potential link between tyrosine phosphorylation cascade and the Ca^{2+}-ATPases in muscle and heart. *J Biol Chem* 1997, 272: 23696-23702.

97. Von Lewinski D, Bruns S, Walther S, Kögler H, Pieske B. Insulin causes $[Ca^{2+}]_i$-dependent and [Ca2+]i-independent positive inotropic effects in failing human myocardium. *Circulation*. **2005**, May 24;111(20):2588-95. Epub 2005 May 9.

98. Kım HW, Cho YS, Lee RH, Park SY, Kım YH. Diabetic alteration in cardiac sarcoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase and phospholamban protein expression. *Life Sci* **2001**, 70: 367-379.

99. Jabr RI, Cole WC. Alterations in electrical activity and membrane currents induced by intracellular oxygen-derived free radical stres in Guinea Pig ventricular myocytes. *Circ. Res*. **1993**, 72: 1229-44.

100. Regan TJ, Lyons MM, Ahmed SS, Levinson GE, Oldewurtel HA, Ahmad MR, Haider B. Evidence for cardiomyopathy in familial diabetes mellitus. *J Clin Invest*. **1977**, 60(4): 884-99.

101. Horackova M, Murphy MG. Effects of chronic diabetes mellitus on the electrical and contractile activities, $45Ca^{2+}$ transport, fatty acids profiles and ultrastructure of isolated ventricular myocytes. *Pflugers Arch* **1988**, 411:564–572.

102. Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, Wilson TM, Kliewer SA. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *J Biol Chem* **1995**, 270:12953–12956.

103. Aomine M, Nobe S, Arita M. Increased susceptibility to hypoxia of prolonged action potential duration in ventricular papillary muscles from diabetic rats. *Diabetes* **1990**, 39 1485–1489.

104. Apkon M, Nerbonne JM. Characterization of two distinct depolarization activated K+ currents in adult rat ventricular myocytes. *J Gen Physiol* **1991**, 97:973–1011.

105. Mitchell MR, Powell T, Terrar DA, Twist VW. The effects of ryanodin, EGTA and low-sodium on action potentials in rat and guinea-pig ventricular myocytes: evidence for two inward currents during the plateau. *Br J Pharmacol* **1984**, 81:543–550.

105. Kavak S, Emre M, Tetıker T, Kavak T, Kolcu Z, Günay I. Effects of rosiglitazone on altered electrical left ventricular papillary muscle activities of diabetic rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2008 Feb;376(6):415-421.

106. Lagadic-Gossmann D, Buckler KJ, Prigent KL, Feuvray, D. Altered Ca2+handling in ventricular myocytes isolated from diabetic rats. *Am J Physiol* **1996**, 270:H1529–H1537.

107. Maruyama S, Yanagisawa K, Kanamuro R, Teno S, Iwamoto Y. Serum leptin level as an indicator to predict the clinical efficacy of troglitazone in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* **2001**; 53: 161-164.

108. Viberti GC. Rosiglitazone: potential beneficial impact on cardiovascular disease. *Int J Clin Pract* **2003**; 57: 128-134.

109. Audelin MC, Genest J Jr. Homocysteine and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Atherosclerosis.* **2001**; 159: 497-511.

110. Boushey CJ, Beresford SA, Omen GS, Motulsky AG. A quantative assesment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. JAMA **1995**; 274: 1049-1057.

111. Penpragkul S, Schaible T, Yipinstoi T, Scheuer J. The effects of diyabetes on performance and metabolism of rat hearts. *Circ Res* **1980**; 47: 911-21.

112. Chatham JC, Forder JR. A 13-C NMR study of glucose oxidation in the intact functioning rat heart following diyabetes-induced cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* **1993**; 10: 1203-13.

113. Bhimji S, Godin DV, McNeill JH. Myocardial ultrastructural changes in alloxan-induced diyabetes in rabbits. *Acta Anat* (Basel) **1986**;125:195-200.

114. Harackova M, Murphy MG. Effects of chronic diyabetes mellitus on the electrical and contractile activities, Ca^{2+} transport, fatty acid profiles and ultrastructure of isolated rat ventricular myocytes. *Pflugers Arc* **1988**; 411: 564-72.

115. Zhu XX, Zhou XP, Zhong XL, Zhong CS, Yu YF. Streptozotocin induced cardiomyopathy in diyabetic rats. *Chin Med J* (Engl) **1993**;106:463-6.

116. Seager MJ, Singal PK, Orchard R, Pierce GN, Dhalla NS. Cardiac cell damage: a primary myocardial disease in streptozotocin-induced chronic diyabetes. Br J Exp Path **1984**; 65: 613-23.

117. Cai F. Studies of enzyme histochemistry and ultrastructure of the myocardium in rats with streptozotocin-induced diyabetes. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* **1989**;69:276-8.

118. McGrath GM, McNeill JH. Cardiac ultrastructural changes in streptozotocin-induced diyabetic rats: effects of insulin treatment. *Can J Cardiol* **1986**;2:164-9.

119. Okruhlicova L, Sotnikova R, Stefek M, Tribulova N, Weismann P, Gajdosik A, Gajdosikova A. L-arginine reduces structural remodeling in the diyabetic rat myocardium. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. **2002**; 24:201-7.

8. ÖZGEÇMİŞ

16.01.1975 tarihinde Mardin'de doğdu. İlk öğrenimini Pınardere İlkokulunda, orta öğrenimini Mazıdağı yatılı bölge okulunda ve lise öğrenimin Mardin Lisesi'nde tamamladıktan sonra Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nü 1998 yılında bitirdi. 1998 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalında Yüksek Lisans Eğitimine başladı. 2002 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalında Doktora eğitimine başladı. Halen Biyofizik Anabilim dalında Araştırma Görevlisi kadrosunda çalışmaktadır.