



TİP 2 DİYABET ve DOCA-TUZ HİPERTANSİF SIÇANLARDA APELİNİN ETKİLERİ

Raziye KURŞUNLUOĞLU AKCILAR

**Mart
DENİZLİ - 2012**

**TİP 2 DİYABET ve DOCA-TUZ HİPERTANSİF SIÇANLARDA
APELİNİN ETKİLERİ**

**Pamukkale Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Doktora Tezi
Fizyoloji Anabilim Dalı**

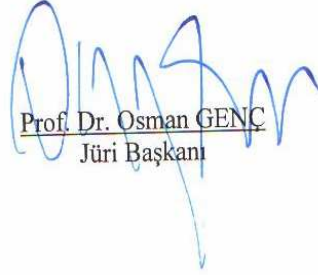
Raziye KURŞUNLUOĞLU AKCILAR

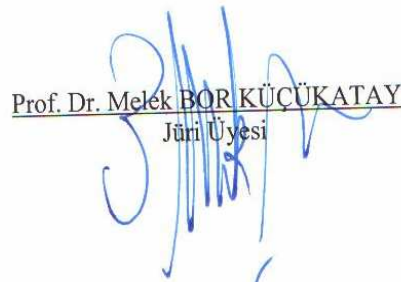
Danışman: Prof. Dr. Sebahat TURGUT

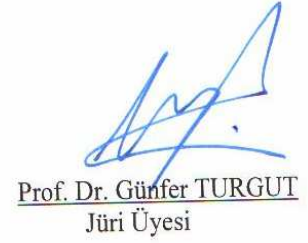
**Mart
DENİZLİ- 2012**

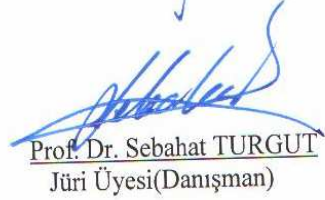
DOKTORA TEZİ ONAY FORMU

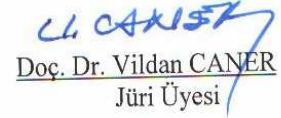
Raziye AKCILAR tarafından, Prof. Dr. Sebahat TURGUT yönetiminde hazırlanan “**Tip 2 Diyabet ve DOCA-tuz Hipertansif Sıçanlarda Apelinin Etkileri**” başlıklı doktora tezi tarafımızdan okunmuş kapsamı ve niteliği açısından bir Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Osman GENÇ
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Melek BOR KÜÇÜKATAY
Jüri Üyesi


Prof. Dr. Günfer TURGUT
Jüri Üyesi


Prof. Dr. Sebahat TURGUT
Jüri Üyesi(Danışman)


Doç. Dr. Vildan CANER
Jüri Üyesi

Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 12.07.2022 tarih ve 12.06.2022 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Z. Melek BOR KÜÇÜKATAY
Müdür

TEŞEKKÜR

Uzun ve zorlu doktora çalışmam boyunca engin bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, çalışmamın her aşamasında bana sabırla yol gösteren, bana her zaman yanımda olduğunu hissettiren ve destekleyen, bana ve bu çalışmaya değerli katkılarda bulunan sevgili danışman hocam **Prof. Dr. Sebahat TURGUT**'a, doktora eğitimim süresince desteklerini benden esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini bana aktaran değerli hocalarım **Prof. Dr. Osman GENÇ**, **Prof. Dr. Günfer TURGUT**, **Prof. Dr. Melek BOR KÜÇÜKATAY**, **Doç. Dr. Vural KÜÇÜKATAY**'a, bu çalışmanın gerçekleşmesindeki katkı ve yardımlarından dolayı Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi hocam **Sayın Doç. Dr. Vildan CANER**'e, çalışmamın deneysel kısmında desteklerini benden esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi **Ceylan AYADA** ve Araştırma görevlisi **Dr. Tonguç Olgun ÖZCAN**'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak hayatımın her aşamasında olduğu gibi, yine bu tez süresince de hiçbir maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, yaşamımın bana verdiği en değerli hediye olan **canım aileme** ve sevgili eşim **Aydın AKCILAR**'a bütün kalbimle sevgilerimi sunarım.

Bu tez, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenen, 2011SBE001 nolu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Bu tezin yapılmasına Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu tarafından onay verilmiştir (2010/026).

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza :
Öğrenci Adı Soyadı : Raziye KURŞUNLUOĞLU AKCILAR

ÖZET

TİP 2 DİYABET ve DOCA-TUZ HİPERTANSİF SIÇANLARDA APELİNİN ETKİLERİ

KURŞUNLUOĞLU AKCILAR, Raziye
Doktora Tezi, Fizyoloji A.D.
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Sebahat Turgut

Mart 2012, 126 sayfa

Adipoz doku başta olmak üzere çeşitli dokularda eksprese edilen apelinin etki ve fonksiyonları hala tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, tip 2 diyabet ve deoksikortikosteron asetat-tuz modeliyle hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda apelinin kronik uygulamasının etkilerini araştırdık. Çalışmamızda, 8-10 haftalık erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A), Diyabet (DM), Diyabet+Apelin (DM+A), Hipertansiyon+Diyabet (HT+DM) ve Hipertansiyon+Diyabet+Apelin (HT+DM) olmak üzere 8 gruba ayrıldı. Deneyin başlangıcı ve sonrası hayvanların kan basınçları, kan glikoz düzeyleri ve vücut ağırlıkları ölçüldü. Çalışmanın sonunda anestezisi altında sıçanlardan doku ve kan örnekleri toplandı. Kalp ve damar doku örneklerinde *apelin* ve *APJ* ekspresyon düzeyleri belirlendi. Plazma örneklerinden apelin, insülin, endotelin-1 (ET-1), ACE 2, anjiotensinojen, ANG II düzeyleri çalışıldı. Elde edilen verilerin analizi için SPSS 10.0 programı kullanılarak istatistiksel değerlendirme yapıldı. K+A grubunda K grubuna göre kan basıncı ve plazma anjiotensinojen düzeylerinde anlamlı azalma saptanırken, total kalp ağırlığı/son vücut ağırlığı (TKA/SVA), plazma ET-1 ve apelin seviyesinde anlamlı artış saptandı. Bu grupta kalp dokusunda *apelin* ve *APJ* ekspresyon düzeyi azalırken, damarda *apelin* ve *APJ* ekspresyon düzeyinin arttığı gözlemlendi. HT+A grubunda HT grubuna göre % vücut ağırlık artışı ve kan basıncı düzeylerinde anlamlı azalma gözlenirken, plazma apelin seviyesinde anlamlı artış görüldü. Bu grupta kalp ve damar dokusunda *apelin* ve *APJ* ekspresyon düzeylerinin arttığı gözlemlendi. DM+A grubunda diyabet grubuna göre kan basıncı, kan glikoz ve plazma insülin düzeylerinde anlamlı azalma gözlemlendi. Bu grupta plazma apelin düzeyinde anlamlı bir fark gözlenmezken kalp ve damar dokusunda *apelin* ekspresyon düzeyinin arttığı ve *APJ* ekspresyon düzeyinin azaldığı saptandı. HT+DM+A grubunda HT+DM grubuna göre kan basıncı, kan glikoz, plazma ANG II, ET-1, anjiotensinojen ve insülin düzeylerinde anlamlı azalma gözlenirken, % VA ve TKA/SVA oranında anlamlı bir artış görüldü. Bu grupta plazma apelin düzeyinde anlamlı bir fark gözlenmezken kalp ve damar dokusunda *apelin* ve *APJ* ekspresyon düzeylerinin azaldığı saptandı. Sonuç olarak; i.p. verilen apelinin kan basıncını düşürdüğü ve diyabetli ve hipertansif diyabetli sıçanlarda plazma insülin ve kan glikoz düzeylerini azalttığını söyleyebiliriz. Hipertansiyon, tip 2 diyabet ve hipertansiyon+tip 2 diyabet gibi durumlarında apelinin tedavide kullanılabilecek aday bir madde olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Apelin, Apelin Reseptör (APJ), Tip 2 Diyabet, Deoksikortikosteron asetat-tuz, Hipertansiyon

ABSTRACT

THE EFFECTS OF APELIN IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND DOCA-SALT HYPERTENSIVE RATS

KURŞUNLUOĞLU AKCILAR, Raziye

Ph D. Thesis in Physiology

Supervisor: Prof. Dr. Sebahat Turgut

March 2012, 126 pages

The effects and functions of apelin expressed in various tissues including adipose tissue are still not known exactly. In this study, we have investigated effects of apelin's chronic application on type 2 diabetes and deoksikortikosteron acetate-salt hypertension rats. In our study, 8-10 week old male rats were used. The rats were divided into 8 groups: Control (C), Control+Apelin (C+A), Hypertension (HT), Hypertension+Apelin (HT+A), Diabetes (DM), Diabetes+Apelin (DM+A), Hypertension+Diabetes (HT+DM) and Hypertension+Diabetes+Apelin (HT+DM+A). The blood pressures, blood glucose levels and body weights of the animals were measured both at beginning and at the end of the study. The tissue and blood samples were collected under anesthesia from rats at the end of the experiment. mRNA analysis was done from heart and vascular tissue samples. Plasma apelin, insulin, endothelin-1 (ET-1), ACE 2, anjiotensinojen, ANG II levels were analyzed. The statistical evaluation was done using SPSS 10.0 programmes. The low levels of the blood pressure and plasma anjiotensinojen were found in C+A group according to Controls, also TKA/SVA, plasma ET-1 ve apelin levels were found high in the same group vs C. At this group, we observed that apelin and APJ mRNA expression was decreased in heart tissue and increased in vascular tissue. Blood pressure and % body weight were found decreased in HT+A group according to HT, while plasma apelin level was observed significantly increased in HT+A. Expressions of apelin and APJ in heart and vascular tissue increased in HT+A vs HT. The plasma insulin, blood glucose, blood pressure levels in DM+A group was found significantly low according to the diabetes group. There was no statistical significant difference in plasma apelin level between these groups, but the difference between the groups for apelin and APJ mRNA expression in heart and vascular tissue was found significant. The blood pressure, blood glucose, plasma ANG II, ET-1, anjiotensinojen and insulin levels in HT+DM+A group were found significantly lower than HT+DM and increased % VA and TKA/SVA were observed in HT+DM+A compared to HT+DM groups. We did not observe significantly difference in plasma apelin level between HT+DM groups but low apelin and APJ mRNA expression were determined in heart and vascular tissue of HT+DM+A according to HT+DM. As a result, we can say that apelin reduce blood pressure in DOCA-salt hypertensive rats and reduce plasma insulin and blood glucose levels in diabetic and DOCA-salt hypertensive+diabetic rats. We think that apelin can be used as a therapeutic agent in the treatment of hypertension, type 2 diabetes and hypertension+type 2 diabetes in the future.

Key words: Apelin, Apelin Receptor (APJ), Type 2 Diabetes, Deoxycorticosterone Acetate-salt Hypertension

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Teşekkür.....	v
Proje Desteği ve Etik İzin.....	vi
Etik sayfası.....	vii
Özet.....	viii
Abstract.....	ix
İçindekiler.....	x
Şekiller Dizini.....	xii
Tablolar Dizini.....	xiv
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR BİLGİLERİ.....	5
2.1. TİP 2 DİABETES MELLİTUS.....	5
2.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus Tanımı.....	5
2.1.2. İnsülin Direnci.....	6
2.1.2.1. İskelet Kasında İnsülin Direnci.....	8
2.1.2.2. Yağ Dokusunda İnsülin Direnci.....	8
2.1.2.3. Karaciğerde İnsülin Direnci.....	8
2.1.3. Tip 2 Diyabet Komplikasyonları ve Organ Patolojisi.....	9
2.1.4. Tip 2 Diyabet ve Endotelin 1.....	11
2.1.5. Tip 2 Diyabet ve Renin Anjiotensin Sistem (RAS).....	11
2.1.6. Deneysel Diyabet Modeli.....	13
2.1.6.1. Alloksan İle Oluşturulan Deneysel Diyabet Modeli.....	13
2.2. HİPERTANSİYON.....	15
2.2.1. Hipertansiyonun Tanımı.....	15
2.2.2. Hipertansiyon Komplikasyonları ve Organ Patolojisi.....	19
2.2.3. Hipertansiyon ve Endotelin 1.....	20
2.2.4. Hipertansiyon ve Renin Anjiotensin Sistem.....	21
2.2.4.1. Hipertansiyon ve Anjiotensinojen.....	21
2.2.4.2. Hipertansiyon ve Anjiotensin Konverting Enzim 2 (ACE 2).....	22
2.2.4.3. Hipertansiyon ve Anjiotensin II.....	23
2.2.5. Hipertansiyon, Tip 2 Diyabet ve İnsülin Direnci.....	23
2.2.6. Deneysel Hipertansiyon Modelleri.....	25
2.2.6.1. Spontan Hipertansif Sıçanlar.....	25
2.2.6.2. Goldblatt Hipertansiyon Modeli.....	26
2.2.6.3. Dahi-Tuz Hipertansiyon Modeli.....	26
2.2.6.4. NOS Blokajıyla Oluşan Hipertansiyon Modeli.....	26
2.2.6.5. DOCA-tuz Hipertansiyon Modeli.....	27
2.3. APELİN.....	28
2.3.1. Tarihçesi.....	28
2.3.2. Apelin Nedir?.....	29
2.3.3. Apelin Geni.....	29
2.3.4. Apelin Reseptörü (APJ).....	31
2.3.5. Apelinerjik Sistemin Etki Mekanizması.....	32
2.3.6. Apelinin Kardiyak Etkileri.....	33
2.3.6.1. Apelinin Vasküler Tonus Üzerine Etkileri.....	33
2.3.6.2. Apelinin Kontraktil Etkileri.....	35
2.3.7. Apelin ve Tip 2 Diyabet.....	36

3. MATERYAL METOD.....	38
3.1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar.....	38
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	38
3.3. Hipertansiyon oluşturma.....	38
3.4. Kan basıncı ölçme yöntemi	39
3.5. Yağ Çözeltisi Hazırlama ve Tip 2 Diyabet Oluşturma.....	39
3.6. Apelin Uygulaması.....	40
3.7. Örneklerin Toplanması.....	40
3.8. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması.....	40
3.8.1. ACE 2, Endotelin 1, Anjiotensinojen, Angiotensin II ELISA Kit Protokolü.....	41
3.8.2. Apelin ELISA Kit Protokolü.....	41
3.8.3. İnsülin ELISA Kit Protokolü.....	42
3.9. Kalp ve Damar Dokularından Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi.....	43
3.9.1. Kalp ve Damar Dokularından Total RNA İzolasyonu.....	43
3.9.2. RNA miktarının ölçümü.....	44
3.9.3. Total RNA Örneklerinden cDNA Sentezi.....	44
3.9.4. mRNA Ekspresyon Analizi (Kantitatif Gerçek-Zamanlı PCR).....	45
3.10. İstatiksel Analiz.....	48
4. BULGULAR.....	49
5. TARTIŞMA.....	70
6. SONUÇ.....	90
KAYNAKLAR.....	92
ÖZGEÇMİŞ.....	111

ŞEKİLLER DİZİNİ

		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1	Tip 2 diyabet patogenezi, insülin direnci ve β hücre disfonksiyonu.....	7
Şekil 2.2	Tuza Bağlı Hipertansiyonun Patogenezi.....	18
Şekil 2.3	Apelin Geni.....	30
Şekil 2.4	Apelinin Vasküler Düz Kas Üzerine Etkileri.....	34
Şekil 2.5	Kardiyak Kas Kontraktilitesinde Apelinin Etkileri.....	36
Şekil 4.1A	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında kan glikoz düzeyleri.....	53
Şekil 4.1B	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında kan glikoz düzeyleri.....	54
Şekil 4.2A	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A) gruplarında; plazma insülin konsantrasyonu.....	54
Şekil 4.2B	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında; plazma insülin konsantrasyonu.....	55
Şekil 4.2C	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma insülin konsantrasyonu.....	55
Şekil 4.3A	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında; plazma ACE2 konsantrasyonu.....	56
Şekil 4.3B	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma ACE2 konsantrasyonu.....	57
Şekil 4.4A	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A) gruplarında; plazma angiotensinojen konsantrasyonu.....	57
Şekil 4.4B	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında; plazma angiotensinojen konsantrasyonu.....	58
Şekil 4.4C	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma angiotensinojen konsantrasyonu.....	59
Şekil 4.5A	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A) gruplarında; plazma angiotensin-II konsantrasyonu.....	59
Şekil 4.5B	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma angiotensin-II konsantrasyonu.....	60
Şekil 4.6A	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A) gruplarında; plazma endotelin-1 konsantrasyonu.	61
Şekil 4.6B	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında; plazma endotelin-1 konsantrasyonu.....	61
Şekil 4.6C	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma endotelin-1 konsantrasyonu.....	62
Şekil 4.7A	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A) gruplarında; plazma apelin konsantrasyonu.....	63
Şekil 4.7B	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında; plazma apelin konsantrasyonu.....	63
Şekil 4.7C	Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma apelin konsantrasyonu.....	64
Şekil 4.8.1	Hipertansiyon grubunda <i>apelin</i> ve β - <i>aktin</i> mRNA'larına özgün amplifikasyon eğrisi.....	64

Şekil 4.8.2	Kalp ve damar dokusunda Kontrol (K), Hipertansiyon (HT), Tip 2 Diyabet (DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM) gruplarında <i>apelin</i> mRNA ekspresyon düzeyleri.....	65
Şekil 4.8.3	Kalp ve damar dokusunda Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Apelin (HT+A), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında <i>apelin</i> mRNA ekspresyon düzeyleri.....	66
Şekil 4.8.4	Kalp ve damar dokusunda Kontrol (K), Hipertansiyon (HT), Tip 2 Diyabet (DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM) gruplarında <i>APJ</i> mRNA ekspresyon düzeyleri.....	66
Şekil 4.8.5	Kalp ve damar dokusunda Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Apelin (HT+A), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında <i>apelin</i> mRNA ekspresyon düzeyleri.....	67
Şekil 4.8.6	Kalp ve damar dokusunda Kontrol (K) grubuna göre Hipertansiyon (HT), Tip 2 Diyabet (DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM) gruplarında <i>apelin</i> mRNA ekspresyon düzeyleri.....	68
Şekil 4.8.7	Kalp ve damar dokusunda Kontrol+Apelin (K+A) grubuna göre Hipertansiyon+Apelin (HT+A), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında <i>apelin</i> mRNA ekspresyon düzeyleri.....	68
Şekil 4.8.8	Kalp ve damar dokusunda Kontrol (K) grubuna göre Hipertansiyon (HT), Tip 2 Diyabet (DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM) gruplarında <i>APJ</i> mRNA ekspresyon düzeyleri.....	69
Şekil 4.8.9	Kalp ve damar dokusunda Kontrol+Apelin (K+A) grubuna göre Hipertansiyon+Apelin (HT+A), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında <i>APJ</i> mRNA ekspresyon düzeyleri.....	69

TABLOLAR DİZİNİ

		Sayfa
Tablo 2.1	ESH/ESC 2007'ye göre Erişkinlerde Kan Basıncı Sınıflandırılması.....	15
Tablo 3.1	APJ, apelin ve β -aktin mRNA ekspresyon analizinde kullanılan özgün problemlerin ve primer setlerinin dizilimleri (5'→3').....	46
Tablo 3.2	APJ, apelin ve β -aktin genlerinin mRNA düzeyinde kantitasyonu amacı ile hazırlanan reaksiyon karışımı.....	46
Tablo 3.3	APJ, apelin ve β -aktin geninin mRNA düzeyinde kantitasyonu amacı ile uygulanan gerçek-zamanlı PCR protokolü.....	47
Tablo 4.1	Kontrol, Kontrol+Apelin, Hipertansiyon ve Hipertansiyon+Apelin gruplarında kan basıncı, % vücut ağırlığı ve kalp ağırlıkları ile ilgili parametrelerinin karşılaştırılması	50
Tablo 4.2	Kontrol, Kontrol+Apelin, Tip 2 Diyabet, Tip 2 Diyabet+Apelin gruplarında kan basıncı, % vücut ağırlığı ve kalp ağırlıkları ile ilgili parametrelerinin karşılaştırılması	51
Tablo 4.3	Kontrol, Kontrol+Apelin, Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet, Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin gruplarında kan basıncı, % vücut ağırlığı ve kalp ağırlıkları ile ilgili parametrelerinin karşılaştırılması.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

atRA	All Trans Retinoik Asit
ANG II	Anjiotensin II
ANG III	Anjiotensin III
AT-1	Anjiotensin II Tip I Reseptörü
AT-2	Anjiotensin II Tip I Reseptörü
ACE	Anjiotensin Konverting Enzim
ACE2	Anjiotensin Konverting Enzim
APJ	Apelin Reseptörü
DOCA-tuz	Deoksikortikosteron Asetat ve Tuz
DOC	11- Deoksikortikosteron
DM	Diyabetes Mellitus
DKB	Diyastolik Kan Basıncı
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
ET-1	Endotelin-1
ET-A	Endotlin Reseptör A
ET-B	Endotelin Reseptör B
PI-3 kinaz	Fosfoditilinositol 3 kinaz
PDE3B	Fosfodiesteraz 3B
P	Fosfolamban
PLC	Fosfolipaz C
GLUT	Glikoz Taşıyıcı Protein
GLP-1	Glukagon Benzeri Peptid-1
INS-1	İnsulinoma
IRS-1	İnsülin reseptör Substratı-1
CCK	Kolesistokinin
L-Ca ²⁺	L-Tipi Kalsiyum Kanalları
LPL	Lipoprotein Lipaz
MAPK	Mitojen Aktive Edici Protein kinaz
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
PAI-1	Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1
SR	Sarkoplazmik Retikulum
SERCA _{2A}	Sarkoplazmik Retikulum Ca ²⁺ Adenozin Trifasfataz
SYA	Serbest Yağ Asitleri
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
SKB	Sistolik Kan Basıncı
NaCl	Sodyum Klorür
(Pyr1) apelin13	Proglutamat apelin-13
RAS	Renin Angiotensin Sistem
RyR	Ryanodin Reseptörü
HDL	Yüksek Dasiteli Lipoprotein

1. GİRİŞ

Diyabetes mellitus (DM) insülin salgısı yokluğuna veya dokuların insüline duyarlılığında azalmaya bağlı karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmalarının bozulmasını kapsayan bir sendromdur. Diyabetes mellitusun 2 tipi vardır.

- 1- Tip 1 diyabet, insülin salgısı yokluğuna bağlıdır. İnsüline bağımlı DM adını da alır.
- 2- Tip 2 diyabet, hedef dokuların insülinin metabolik etkilerine duyarlılıklarının azalmasına bağlı olarak gelişir ve insüline bağımlı olmayan DM adını alır. Bu azalmış duyarlılığa insülin direnci de denir.

Tip 2 diyabet, tip 1'den daha yaygın olup DM vakalarının yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Olguların çoğunda hastalık 30 yaşından sonra sıklıkla 50-60 yaşlarında ortaya çıkar ve yavaş bir şekilde ilerler. Bu nedenle bu sendroma sıklıkla erişkin tipi diyabet adı da verilir. Bununla birlikte son yıllarda 20 yaşından daha küçük, daha genç kişilerde tip 2 diyabette artış olmuştur (Guyton ve Hall 2006).

İnsülin direnci, hedef dokuların (kas, karaciğer ve yağ dokusu) insüline olan cevabının azalmasıdır. İnsülin direncinin, tip 2 diyabet gelişmesinin altında yatan primer defektlerden biri olduğu düşünülmektedir. Tip 2 diyabet hastalarının %85'inde insülin direnci mevcuttur. İnsülin direncinin genetik komponentlere bağlı olduğu da düşünülmektedir. Ancak obezite, yaşlanma ve sedanter yaşam biçimi gibi edinilen faktörlerin, insülin direncinin gelişimine ve sonunda tip 2 diyabete katkıda bulunduğu inanılmaktadır (Caro 1991). İnsülin direnci nedeniyle kasta glikoz kullanımı belirgin olarak bozular ve tokluk plazma glikoz konsantrasyonlarında önemli yükselmeler görülür. Mevcut hiperinsülinemi ise açlık glikoz konsantrasyonlarını ve hepatik glikoz yapımını normal sınırlar içinde tutabilir. Ancak insülin direncinin yeterince ağırlaşmasıyla kompensatuar hiperinsülinemi, açlık glikoz düzeylerini normal sınırlar içinde tutmak için yeterli olmaz. Açlık ve tokluk hipergliseminin gelişmesi β -hücre sekresyonunu daha da stimüle eder ve ortaya çıkan hiperinsülinemi insülin reseptör sayısını azaltarak (down regülasyon) ve postreseptör olaylarda insülinin etkilerini bozarak insülin direncini daha da artırır (DeFronzo vd 1997). Bazı kişilerde daha çok insülin salgılanması için β -hücresinin devamlı uyarılması, beta-hücre fonksiyonunda

bozukluğa yol açar. İnsülin cevabı yetersiz hale gelirse, glikoz-transport sistem aktivitesi ciddi derecede bozulur ve glikoz metabolizmasındaki bazı önemli enzimatik basamaklar baskılanır. Ek olarak, insülinin lipoliz üzerindeki engelleyici etkisi ortadan kalkar. Bu noktada plazma serbest yağ asitleri yükselir ve serbest yağ asidi oksidasyonu artar. Serbest yağ asitlerinin oksidasyonu intrasellüler glikoz kullanımını bozar (Gedik 1996). Serbest yağ asitleri karaciğerde trigliserid birikmesini uyarır. Serbest yağ asitleri hem kas dokusunda glikoz alımını azaltmak hem de karaciğerden glikoz çıkışını arttırmak yönünde insülin karşıtı etkiler sergilerler (Shulman 2000). Bu durumda plazmaya fazla miktarda asetoasetik asit ve β -hidroksibütirik asit gibi keto asitlerin geçişi söz konusudur. Böylece asit fazlalığına ve idrar miktarının artması sonucu gelişen dehidratasyona bağlı olarak, hastada şiddetli metabolik asidoz ortaya çıkar. Tedavi edilmezse hızla diyabetik koma ve ölümlerle sonuçlanır (Guyton ve Hall 2006).

Sonuç olarak insülin yokluğunun veya insülin direncinin glikoz metabolizmasına başlıca etkisi beyin hariç glikozun birçok hücre tarafından alınmasının ve kullanılmasının engellenmesidir. Buna bağlı olarak dokuların glikoz kullanımını giderek azalır ve kan glikoz konsantrasyonu 300-1200 mg/100ml'ye yükselir. Bu artan plazma glikoz düzeyi, vücutta glikozun idrarla kaybına, doku hücrelerinde dehidratasyona, doku hasarına, kan damarlarının işlevlerinin bozulmasına, dokulara giden kan akımının yetersizliği gibi birçok etkilere yol açar (Guyton ve Hall 2006). Ayrıca plazma glikoz düzeyinin artmasıyla obezite, tip 2 diyabet, kalp-damar hastalıkları, hipertansiyon, nefropati, nöropati, retinopati ve ayak ülserleri gibi komplikasyonlar nedeniyle felç, gangren veya koroner hastalıkların meydana gelmesi riskini artmaktadır (Mc Kinlay ve Marceau 1992).

Hipertansiyon sürekli yüksek arteriyel kan basıncı ile kendini gösteren sistemik bir hastalık olup, ciddi komplikasyonlara yol açması ve toplumda sık görülmesi nedeniyle önemli bir sağlık problemidir (Onat vd 1991). İstirahat sırasında, diyastolik arter basıncı 90 mm-Hg ve sistolik arter basıncı 140 mm-Hg'nin üzerinde olursa hipertansif bir değer olarak kabul edilir (Guyton ve Hall 2006). Hipertansiyon günümüzde morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir ve gelecekte halk sağlığı üzerinde daha da büyük etkisi olacağı düşünülmektedir (Murray ve Lope 1996). Doğrudan hipertansiyona bağlanabilecek morbidite ve mortaliteye ek olarak yüksek kan basıncı bireylerin ve

toplumun çeşitli kardiyovasküler hastalıkları geçirme olasılığını artıran güçlü bir risk faktörüdür (Kannel 1996).

Hipertansiyon birçok genetik ve çevresel faktöre bağlı olarak meydana gelebilen kompleks ve multifaktöriyel bir hastalıktır (Sun ve Zhang 2005). Günümüzde hipertansiyon, dünyanın tüm coğrafi bölgelerini etkileyen ve öncelikle erişkin popülasyonu ilgilendiren bir epidemi halini almıştır. Epidemiyolojik veriler, 30'lu yaşlarda %20-25 olan hipertansiyon prevalansının yaşla birlikte belirgin artış göstererek 60 yaş ve üzerinde %50'lere çıktığını göstermiştir (Arıcı ve Çağlar 2002). Hipertansiyonun majör klinik sonuçları, sadece kan basıncı yükselmesinden değil aynı zamanda hipertansiyona karşı patofizyolojik, fonksiyonel ve yapısal yanıtlardan kaynaklanır. Kardiyak hemodinamikte en erken değişiklikler büyük ölçüde kompanse edilmiş hipertansif hastalarda, bunlar çoğunlukla kardiyak yapı ve fonksiyonlarda bozukluğa yol açarlar. Sistolik ve diyastolik kan basıncı yükseldikçe, özellikle koroner arter hastalıkları olmak üzere, kardiyovasküler hastalıkların oluşma riski sürekli olarak artmaktadır (Peggy vd 2000). Sempatik sinir sistemi aktivitesinde artış, endotelin ve tromboksan gibi vazokonstriktörlerin ve sodyum tutucu hormonların aşırı üretimi, potasyum ve kalsiyum alımının yetersiz olması, artmış ve uygunsuz renin sekresyonu, prostoglandinler ve nitrik oksit gibi vazodilatörlerin eksiklikleri, direnç damarlarında konjenital anomaliler, diyabetes mellitus, insülin direnci, obezite, damar büyüme faktörlerinde aktivite artışı ve hücrel iyon transportunda değişme gibi birçok patofizyolojik faktör, hipertansiyon oluşmasında rol oynar (Burt vd 1995).

Hipertansiyon ve diyabet, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar açısından önemli risk faktörleridir. Diyabet ve hipertansiyonda hedef organ hasarı belirgin olarak artar. Diyabetik hastada hipertansiyon, koroner, serebral ve periferik vasküler yatağı etkileyen ateroskleroz hastalık için önemli bir risk faktörüdür. Hipertansiyon, nefropati ve retinopati gibi diyabetik komplikasyonların progresyonunu da hızlandırır (Barnett 1994).

Apelin kalp, akciğerler, testis, ovaryum, meme bezleri, beyin, karaciğer, iskelet kası ve böbrek dahil birçok çeşitli dokularda bulunan (Medhurst vd 2003, Hosoya vd 2000) ve apelin reseptörüne (APJ) yüksek afiniteye bağlanan endojen bir ligand olarak

tanımlanmaktadır (Tatemoto vd 1998). G proteinine bağı olan ve plazma membranında bulunan APJ reseptörü 380 aminoasitten oluşur. Anjiotensin II (ANG II) ve anjiotensin tip 1 reseptöre (AT-1) homolog olan bir reseptördür. Birbirleriyle homolog olmasına rağmen, anjiotensin II, APJ reseptörüne bağlanmaz (O'Dowd vd 1993). Apelin geni Xq25-26.1'de lokalizedir ve 1.726 bp büyüklüğünde olup 3 ekson içermektedir. Apelin gen ürünü 77 aminoasitten oluşan bir preproteindir (Lee vd 2000). Yapılan çalışmalarda, apelinin; apelin 13 (65-77), apelin 17 (61-77), apelin 36 (42-77), proglutamat form apelin 13 [(Pyr1) apelin-13] olarak adlandırılan farklı izoformları bulunmuştur (Ladeiras-Lopes vd 2008). Bu peptidlerin hepsi APJ reseptörüne bağlanır ve ikincil haberci sinyal yollarını aktive eder (Bai vd 2008).

Apelinin, birçok organ sistemlerinde etkili olduğu bildirilmektedir. Özellikle kan basıncı ve vasküler tonusun düzenlenmesi, kardiyak kontraktilite, kalp hızı, anterior hipofiz fonksiyonları, anjiogenez, apoptoz, inflamasyon, glikoz metabolizması, vücut sıvı ve enerji dengesi, açlık ve yemek alımının düzenlenmesi gibi birçok önemli mekanizmalarda rol alan multifonksiyonel bir nöropeptiddir (Taheri vd 2002, Higuchi vd 2007).

Apelinerjik sistem, birçok doku ve organlarda bulunmasına rağmen etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Dünya çapında yaygın olarak görülen kalp yetersizliği, obezite, tip 2 diyabet, miyokardiyal iskemi, ateroskleroz, kanser gibi hastalıkların patolojisinde vücudumuzun homeostazisini düzenleyen major bir sistem olarak bilinmektedir. Ayrıca apelinin, bazı dokularda glikoz kullanımını artırarak kandaki glikoz konsantrasyonunu azalttığı ve insülin direncinin düzenlenmesine katkı sağladığı bilinmektedir. Ancak apelinin tip 2 diyabet ve hipertansiyon üzerindeki etkisi henüz tam olarak netlik kazanmamıştır. Bu bilgiler ışığında apelinin tip 2 diyabet ve hipertansiyonda koruyucu ve tedavi edici bir ajan olabileceğini düşünmekteyiz. Bu çalışma sistemik hipertansiyon ve tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda apelinin etkisinin araştırılacağı ilk çalışmadır. Bu araştırmayla Deoksikortikosteron Asetat ve tuz (DOCA-tuz) hipertansiyon modelinde ve tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda apelinin düzenleyici ve tedavi edici olası etkilerinin aydınlatılmasına katkıda bulunmayı hedeflemekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TİP 2 DİABETES MELLİTUS

2.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus Tanımı:

Tip 2 diyabet sağlığı tehdit eden, gelişebilecek komplikasyonları ile yaşam kalitesini bozan ve yaşam süresini kısaltan ciddi bir hastalıktır. Tip 2 diyabet gerek yaygınlığı gerekse neden olduğu akut ve kronik komplikasyonlardan dolayı günümüzde hala en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Kronik seyretmesi ve ciddi komplikasyonları nedeniyle uzun dönem kaliteli yaşam beklentisi azalmakta ve sağlık sistemlerine önemli bir yük getirmektedir (Türker 2006).

Tip 2 diyabet patogenezinde beta hücre fonksiyon bozukluğu, insülin direnci ve hepatik glikoz üretimi artışı gibi metabolik bozukluklar yer almaktadır. Tip 2 diyabet patogenezinde görülen bu bozuklukların oluşum nedenleri henüz bilinmemektedir. Ancak bunlar üzerinde poligenik yatkınlık ve çevresel faktörlerin ortak rolleri olduğu düşünülmektedir (Yenigün 2001). Asıl nedeni insülin direnci oluşturmaya rağmen son yıllarda pankreastan insülin salgı bozukluğunun da tip 2 diyabetin ortaya çıkışında önemli olduğu bilinmektedir. Bunun yanında yapılan çalışmalarda beta hücre fonksiyon bozukluğu ve insülin direnci arasında karşılıklı bir etkileşimin olduğu ve her ikisinin de patogeneizde birlikte rol aldığı da ileri sürülmektedir (Kahn 1993). Son yıllarda tip 2 diyabetin oluşmasında, primer bozukluğun hiperinsülinemi olduğu ve insülin direncinin hiperinsülinemiye bağlı olarak oluştuğu düşünülmektedir. Buna göre merkezi sinir sisteminde ventromedial hipotalamus, median eminans ve henüz tanımlanamayan bazı alanlardaki değişiklikler gıda alımı, termogenez ve sempatik sinir sistem aktivitesinin düzenlenmesinde rol alan nöropeptid Y ve/veya diğer nöro-regülatör peptidlerin üretimini artırarak vagus sinirini uyarmakta ve bunun da insülin salgısını arttırdığı bilinmektedir. Ayrıca sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalarda kronik fizyolojik öglisemik hiperinsülineminin insülin direncine neden olduğu gösterilmiştir. Hiperinsülineminin kişide glikojen sentezini bozarak tıpkı tip 2 diyabette olduğu gibi insülin direncine yol açabileceği ileri sürülmektedir. Fakat tip 2 diyabetin oluşmasında

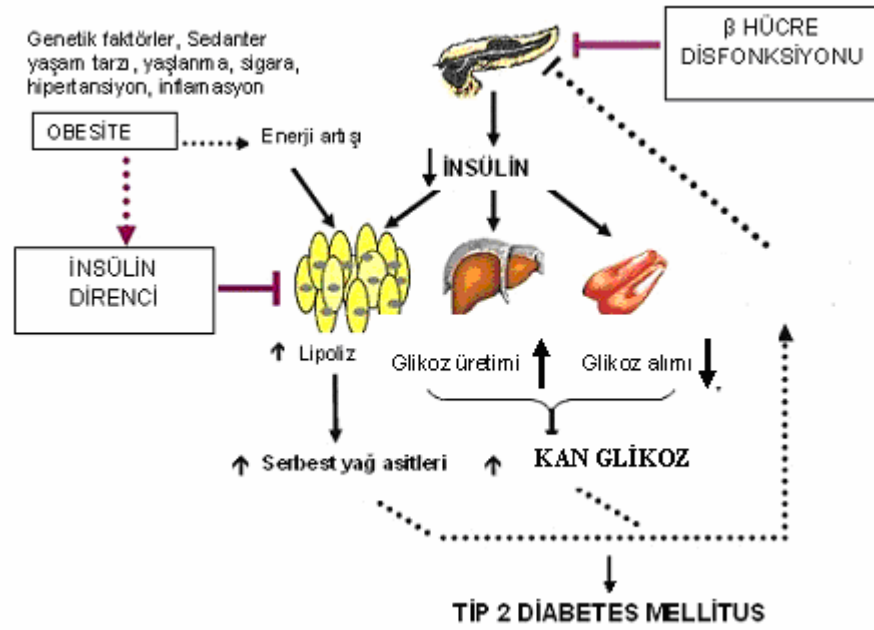
en önemli faktörün insülin eksikliği ve insülin direnci olduğu bilinmektedir (Del Prato 1994).

2.1.2. İnsülin Direnci

İnsülin direnci, glikoz homeostazisinde insülinin beklenen etkisinin bozulması ve insüline verilen yanıtta eksiklik olarak tanımlanabilir (Reaven 1988). Metabolik açıdan insülin direnci, insülinin hücre düzeyindeki metabolik olaylara etkisinin azalması veya hedef dokuların (kas, karaciğer ve yağ dokusu) insüline olan cevabının azalması olarak tarif edilebilir. Klinik açıdan ise kişinin günlük metabolik işlevlerini fizyolojik olarak sürdürebilmesi için pankreastan salgılamak zorunda olduğu insülin miktarından fazla insülin üretmek ya da kullanmak zorunda kalmasıdır (Garvey ve Birnbaum 1993)

Günümüzde insülin direncine zemin hazırlayan birçok edinsel faktör olduğu bilinmektedir. Sanayileşme ve teknolojidaki yeniliklerin beraberinde getirdiği daha sedanter yaşam tarzı, sağlıksız beslenme alışkanlığı ve özellikle bunların zemininde gelişerek çağımızda adeta salgın haline gelen obezite, insülin direncine yol açan en önemli edinsel faktörlerdir. Bu patolojik nedenlerin yanı sıra bazı fizyolojik süreçlerde de insülin direnci gelişebilir (Türker 2006).

Normalde insülin karaciğerde glikoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glikoz üretimini baskılar. Ayrıca glikozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşıyarak burada ya glikojen depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar. İnsülin direncinde insülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki bu etkilerine karşın direnç oluşarak hepatik glikoz supresyonu bozulur. Kas ve yağ dokusunda da insülin aracılığı ile olan glikoz kullanımı azalır (Türker 2006). İnsülin direncinin, tip 2 diyabetin gelişmesinin asıl nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir. Tip 2 diyabet hastalarının yaklaşık %85'inde insülin direnci vardır. Obezite, yaşlanma, sedanter yaşam biçimi ve genetik faktörlerin, insülin direncinin gelişimine ve sonuçta tip 2 diyabet oluşumuna neden oldukları bilinmektedir (Şekil 2.1) (Day ve Bailey 2011).



Şekil 2.1 Tip 2 diyabet patogenezi, insülin direnci ve β hücre disfonksiyonu (Day ve Bailey 2011)

İnsülin direncine reseptör düzeyinde defektler de neden olmaktadır. Bunlar;

1- Pre-reseptör alandaki rezistans nedenleri: Pankreas beta hücrelerinden defektif insülin salınımı, glikozun ve insülinin hedef doku ve organlarında kan akımının yeterli veya uygun olmaması, insülinin hedef dokudaki endotelden taşınmasının bozuk olması şeklinde sıralanabilir. Böylece insülin, insülin reseptörlerine bağlanamaz ve insülin yanıt dizisi başlamaz (Şahinkaya 2008).

2- Reseptör düzeyindeki rezistans nedenleri: İnsülin reseptör sayısında azalma, otofosforilasyonda azalma ve tirozin kinaz aktivitesinde bozukluk, 19. kromozom üzerinde bulunan insülin geninde değişik tipte mutasyonlar ve insülin reseptör antikörlerinin mevcudiyeti olabilir (Şahinkaya 2008).

3- Post-reseptör alandaki rezistans nedenleri: Anormal sinyal transdüksiyonu ile ilişkilidir. Glikozun hücre içine taşınmasını sağlayan glikoz taşıyıcı proteinlerden (GLUT) en önemlisi olan GLUT 4'ün insülin ile aktivasyonunda bozukluk, glikozun hücre içi oksidatif olmayan metabolizmalarında rol oynayan enzim aktivitelerindeki bozukluklardır (Şahinkaya 2008).

2.1.2.1. İskelet Kasında İnsülin Direnci

Sağlıklı insanlarda glikoz kullanımının %75-80'inden iskelet kasının sorumlu olduğu bilinmektedir. Yapılan birçok çalışmada Tip 2 diyabette insülin ile uyarılmış glikoz kullanımındaki bozukluğun en yoğun görüldüğü dokunun iskelet kası olduğu gösterilmiştir. Özellikle beslenme sonrasında insülin direncinin primer yeri iskelet kasıdır (Kahn 1987).

İnsülin sinyal sisteminde çok sayıda defekt tanımlanmasına rağmen, insülin direncinde kastaki primer biyokimyasal defekt hala tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. İnsülin reseptör bağlanması herhangi bir major bozukluk olmaması ve reseptör tirozin kinaz aktivitesinde minör azalmanın olması, reseptörlerdeki bu değişikliklerin muhtemelen sekonder olarak geliştiğini göstermektedir. Bu nedenlerle kastaki insülin direnci post reseptör düzeydedir (Yenigün 2001).

2.1.2.2. Yağ Dokusunda İnsülin Direnci

İnsülin direnci ve yağ dokusunda artış, tip 2 diyabet patogenezinde iş birliği içinde görünmektedir. İnsülin direncinde; bir yandan plazma lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesi azalıp plazma trigliseridleri artarken, bir yandan da karaciğerde LPL aktivitesinin artması nedeniyle yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) yıkımı hızlanır. İnsülin direncinin özelliklerinden biri de artmış plazma serbest yağ asitleri (SYA) konsantrasyonudur. SYA karaciğerde trigliserid birikmesini uyarır. Büyük miktarlarda artan plazma SYA konsantrasyonları insülin ile uyarılmış glikoz tutulumunu azaltmaktadır. Üstelik kronik olarak yükselmiş bu esterleşmemiş yağ asidi düzeyleri beta hücrelerinin insülin salgılama kapasitesi üzerine olumsuz etkiye bulunmaktadır (Yenigün 2001).

2.1.2.3. Karaciğerde İnsülin Direnci

Karaciğer açlık durumunda insülin direncinin primer bölgesidir. Hepatik glikoz üretimindeki artış açlık kan şekerinin artmasına yol açar. Hatta açlık hiperglisemisinin tamamının karaciğer glikoz yapımındaki artışa bağlı olduğu kabul edilmektedir. Karaciğerden glikoz yapımı glikojenoliz veya glikoneogenez yoluyla gerçekleşir.

Hepatik glikoneogenezdeki artışın kesin mekanizması bilinmemekle beraber hiperglukagonemi ve laktat, alanin ve gliserol gibi glikoneojenik prekürsörlerin artışı söz konusudur. Hepatik glikoz üretimi çok bariz bir şekilde yükselmekte ve özellikle, hafif-orta derecedeki hiperglisemili hastalardaki açlık hiperglisemisini tek başına açıklayamamaktadır. Ancak, ağır hiperglisemili vakalarda hepatik glikoz çıkışında orta derecedeki artışlar kandaki glikozun yükselmesine neden olur; çünkü üretilen glikoz özellikle normal olarak periferik dokular tarafından kullanılamamaktadır. Ayrıca Tip 2 diyabetik hastalarda hepatik glikoz çıkışının normal olması karaciğerin normal metabolik fonksiyon gösterdiği anlamına gelmez; çünkü hiperglisemi sağlıklı kişilerde hepatik glikoz üretimini baskılar (Yenigün 2001).

2.1.3. Tip 2 Diyabet Komplikasyonları ve Organ Patolojisi

Gerek tip-1 gerekse tip-2 diyabette akut ve kronik dönem komplikasyonları gözükmetedir. Diyabetin akut dönemdeki en önemli komplikasyonları hiperglisemi ile hipoglisemi ve bunlara bağlı olarak koma durumlarıdır. Akut hipoglisemi de otonomik sendromlar (terleme, titreme, çarpıntı, açlık gibi) veya nöroglikopenik sendromlar (koordinasyon ve konsantrasyon zorluğu gibi) gelişmektedir. Diyabetik ketoasidoz 20 yaşın altındaki hastalarda ölümcül olabilir. Diyabetik ketoasidoz klinikte susama, poliüri, mide bulantısı, kusma, dehidroksi, asidotik nefes, hipotermi işaretleriyle eşlik eden abdominal ağrıyla karakterizedir. Hiperosmolar non-ketoasidotik durum, genellikle insüline bağımlı olmayan diyabette görülür; glikozu fazla içecekler, diüretik tedavisi ve enfeksiyon bu durumun oluşmasını hızlandırmaktadır (Scobie 1998).

Kronik dönemin komplikasyonları ise birçok sistemi etkilemektedir. Bunları kısaca özetlersek; sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, sindirim sistemi, boşaltım sistemi, solunum sistemi, üreme sistemi komplikasyonları, biyokimyasal, hematolojik komplikasyonlar ve farmakokinetik ile ilaç metabolizmasına ilişkin komplikasyonlardır (Öztürk vd 1996).

Diyabetik nöropati, kronik dönemde en sık görülen komplikasyonlardan biridir. Diyabetik nöropati, mononöropati ve polinöropati olarak sınıflandırılmaktadır. Mononöropati periferik ve kranial sinirleri etkilemektedir. Polinöropati ise duyu, motor ve otonom sinir sistemini etkilemektedir. Ayrıca diyabetik otonomik nöropati gelişimi,

kardiyovasküler, gastrointestinal ve ürogenital komplikasyonların oluşumunu hızlandırması nedeniyle son derece önemli bir klinik tablodur (Ward 1989).

Kardiyovasküler komplikasyonlar diyabette en ciddi gelişen komplikasyonlardan biridir. Diyabetik hastalarda kardiyak hastalıkların ve ölümün artmasının en önemli nedeni kardiyopatinin meydana gelmesidir (Irlbeck ve Zimmer 1996). Yapılan bazı deneysel çalışmalarda; alloksan ve streptozotosin diyabetik sıçanlarda miyokardın α -adrenerjik agonistlere verdiği yanıtı azalttığı bildirilmiştir (Ramanadham 1986, Karasu vd 1990). Bu yanıt azalmasının nedeni, kalpteki α -adrenerjik reseptör sayısının deneysel diyabete bağlı olarak azalmasıdır (Williams 1983) Kalpteki α -adrenerjik yanıtlardaki bu azalma deneysel tip 2 diyabetik sıçanlarda da görülmektedir (Özüarı 1993). Miyokardın kalsiyuma verdiği inotropik yanıtlar da azalmaktadır. Buna neden olarak, kalp kası hücresi sarkoplazmik retikulumunun kalsiyumu yeterince alamaması ileri sürülmektedir (McNeil 1986). Ayrıca diyabetik sıçan atriyumunun α 1-adrenerjik cevapları kontrole göre artmaktadır ve adenozin yanıtları da değişmektedir (Lafçı 1994).

Endotel fonksiyon bozukluklarının diyabetik damar hastalıklarının patogeneğinde anahtar rol oynadığı ve bunun birçok nedeni olabileceği bildirilmiştir (De Vriese vd 2000). Yapılan bir çalışmada diyabetin serebral arteriyollerin ve baziler arterlerin genişlemesini zayıflattığı gösterilmiştir. Muskarinik reseptörlerin aktivasyonuna bağlı olarak serebral kan akımındaki artış da diyabet ile zayıflamaktadır. Bazı deneysel çalışmalarda ise nitrik oksit (NO) üretiminin diyabette normal olduğu gösterilmiştir. Son çalışmalarda da hipergliseminin endotelial NO mRNA seviyesini, protein ve enzim aktivitesini değiştirmedeği bildirilmiştir. Bu durumda belki endotele bağlı gevşeticilerin etkisi reaktif oksijen türlerinin fazla oluşmasıyla zayıflamaktadır (Faraci ve Heistad 1998).

Diyabetik hastalarda, hastalığın uzun süreli devamında kronik renal bozukluklar olabilmektedir. Bu etkileme hem idrar kesesi hem de böbreklerde ortaya çıkmaktadır. Ayrıca diyabetik sıçanlarda diyabete bağlı olarak alınan sıvı miktarı, miksiyon sıklığı ve her miksiyonda çıkan idrar volümünde artışlar gözlenmiştir (Longhurst vd 1991).

Sindirim sistemi organ ve dokuları da diyabetten etkilenmektedir. Alloksan diyabetik sıçanlarda yapılan deneysel çalışmalarda, diyabete bağlı olarak hem bazal hem de

histamin ile oluşturulan gastrik asid sekresyonlarının azaldığı saptanmıştır (Özçelikay vd 1993). Uygulanan gelişmiş biyoistatistik yöntemler sayesinde, histamin ile sıçanlarda oluşan gastrik asid salınımının direkt etki ve vagal refleks olmak üzere iki komponentin de diyabete bağlı olarak azaldığı saptanmıştır (Özçelikay vd 1990, Öztürk 1991).

Özetle, tip 2 diyabet yıllarca farkedilmeden devam edebilir çünkü görünen hastalık semptomları genellikle ya hafiftir, ya hiç semptom yoktur ya da çok seyrek ve genellikle hiç ketoasidoz nöbeti görülmez. Ancak, farkına varılmayan tip 2 diyabet, diyabetik nefropati sebebiyle böbrek yetmezliğine, çeşitli damar hastalıklarına (koroner arter hastalığı dahil), diyabetik retinopati sebebiyle görme kaybına, diyabetik nöropati sebebiyle duyu ve ağrı hissinin azalmasına, non alkolik steatohepatit sebebiyle karaciğer hasarına ve diyabetik kardiyomiyopati sebebiyle de kalp yetmezliğine yol açabilir (Mc Kinlay ve Marceau 1992).

2.1.4. Tip 2 Diyabet ve Endotelin 1

Endotelin-1 (ET-1) endotelden insülin ve diğer agonistlere yanıt olarak salgılanan potent bir vazokonstriktör peptittir. Kültüre edilmiş adipositlerde endotelinin glikoz alınımını inhibe ettiği görülmüştür. İnsan ve hayvan çalışmalarında ekzojen olarak verilen endotelinin insülin direnci gelişimini uyardığı bulunmuştur. Moleküler seviyede ET-1 molekülünün fosfotidilinositol-3 (PI-3) kinaz yolunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Jiang vd 1999). Hiperinsülinemi endotel hücresinden ET-1 sentezini arttırmakta, artan ET-1 düzeyi ile insülin direnci ağırlaşmakta ve endotel fonksiyonları bozulmaktadır. İnsülin direncinde NO ve endotelin salınımında dengesizlik vardır (Ak vd 2001).

2.1.5. Tip 2 Diyabet ve Renin Anjiotensin Sistem (RAS)

Renin-anjiotensin sistemi komponentlerinin adipoz doku ve vasküler endotelde ekspresyonun gösterilmesi bu sistemin endokrin ve parakrin şekilde vasküler disfonksiyona katkıda bulunduğunu düşündürmüştür. Hayvan deneylerinde anjiotensin II infüzyonunun insülin reseptör substratı-1 (IRS-1) ve fosfotidilinositol-3 (PI-3) kinaz arasındaki etkileşimi bozarak insülin direncine neden olduğu gösterilmiştir. İnsan çalışmalarında ise anjiotensin II (ANG II) infüzyonu ile insülin duyarlılığında önemli bir değişiklik gözlenmezken, RAS blokajı ile insülin duyarlılığının arttığı gösterilmiştir.

Anjiotensin II vazokonstriktör özelliklerinin yanında endotelden endotelin salınımını uyarmakta ve vasküler NADPH oksidaz yoluyla süperoksit üretimini arttırmaktadır. Ayrıca anjiotensin II, mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) yolunu uyarmakta ve insülinin hücre proliferasyonu ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) ekspresyonu üzerindeki etkisini güçlendirmektedir (Zeng vd 2004). ANG II, insülin direnci ve pankreas β hücrelerinde inhibitör etki ile insülin salınımını baskılayarak glikoz intoleransına ve diyabetes mellitus patogenezine de katkıda bulunur (Rakugi vd 2002). İnsülin direncinde, postranskripsiyonal mekanizmalarla, anjiotensin reseptörü 1 (AT-1) upregülasyonu ve ANG II üretim ve etkinliğinde artış meydana gelir (Sowers 2004). ANG II'nin, insüline bağlı oluşan vazodilatasyonu ve glikoz transportunu inhibe ettiğini gösteren pek çok kanıt vardır (Begum vd 2000). İnsülin direnci-hiperinsülinemi-AT-1 aracılı artmış doku RAS aktivitesi etkileşimleri sonrası, hipertansiyon ve glikoz metabolizmasında bozulma ortaya çıkar. Bahsedildiği üzere, RAS-insülin arasındaki ilişki, AT-1 üzerinden gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalarda anjiotensin reseptör 2 (AT-2) aktivasyonunun kan basıncı ve insülin etkinliği üzerine olumlu etkilere yol açtığı gösterilmiştir. AT-2 stimülasyonu, AT-1 uyarısıyla oluşan MAPK yolağının aktivasyonunu zayıflatır, insülin tarafından uyarılan vasküler düz kas proliferasyonunu azaltır, ayrıca bu hücrelerde vazodilatatör etki gösteren bradikinin ve NO üretimini indükler. Bu açıdan AT-1 ve AT-2 reseptörlerinin; insülin duyarlılığı, glikoz metabolizması ve kan basıncı üzerine birbirine zıt etki yaptığı söylenebilir (Suzuki vd 2002).

Diyabetli hastalar üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda ise %24 ile %40'lık bir bölümünde anjiotensin konverting enzim (ACE) düzeylerinde artış kaydedildiği gözlenmiştir (Lieberman ve Aariona 1980). Marre ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada, diyabetik nefropati ve retinopatisi olan hastaların ACE aktivitesi retinopati ve nefropatisi olmayan hastalara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (Marre vd 1994). Yine başka bir çalışmada da diyabetle birlikte retinopatisi olan hastaların ACE düzeyi retinopatisi olmayan diyabetiklere oranla daha yüksek bulunmuştur (Letizia vd 1992).

2.1.6. Deneysel Diyabet Modelleri

Diyabet kronik bir hastalık olup, uzun dönem incelemeler veri toplama açısından çok vakit alacağından; hayvan modelleri üzerinde çalışılmaktadır. Çok çeşitli diyabet modelleri vardır. Bunlardan hayvan diyabet modelleri genelde insan diyabet modellerine benzer yönlerle sähipse de, kesinlikle tıpatıp aynı değildir. Bunlar; kimyasal diyabet, cerrahi diyabet, spontan diyabet, viral diyabet, transgenik diyabettir (Pickup ve William 2002). En çok tercih edilen yöntem kimyasal diyabettir. Deneysel çalışmalarda kullanılan çeşitli kimyasallar ve ilaçlar, diyabet benzeri tabloya neden olurlar. Bunlardan streptozotosin ve alloksan en spesifik kullanıma sahip kimyasallardır (İrer ve Alper 2004). Streptozotosin ve alloksan pankreatik β hücrelerine spesifik toksisiteleri nedeniyle diyabetojenik ajan olarak kabul edilmektedirler. Her iki ajan da kan şekeri seviyesinde üç fazlı etki oluşturmaktadır. Maddenin kullanımını izleyen 2 saat içinde kan şekeri karaciğer glikojeninin ani yıkımı nedeniyle yükselir. İkinci faz ölümlü sonuçlanabilecek hipoglisemik fazdır. Bu sırada hasara uğrayan β hücrelerinden hızla salıverilen insülinin plazma seviyesi hızla yükselir. Üçüncü faz, kalıcı hiperglisemik fazdır. Bu noktadan başlayarak insülin seviyeleri, kullanılan diyabetojenik ajanın dozu ile ilişkili olarak düşer ve kan şekeri yükselir (Harrison 2004).

2.1.6.1. Alloksan İle Oluşturulan Deneysel Diyabet Modeli

Alloksan (2,4,5,6 Tetraokzoheksahidropirimidin), ürik asit türevidir, antineoplastik bir ajandır. Genellikle monohidrat tuzu şeklinde bulunur. Suda kolayca erir, toz hali 2-8 °C'de, solüsyon hali ise 4 °C'nin altında saklanmalıdır (Bell ve Hye 1983). Alloksan, intravenöz, intraperitoneal veya subkutan olarak verildiği zaman diyabetojenik etki gösterir. Uzun süreli diyabet oluşturulması ve kronik komplikasyonların izlenmesi gerektiğinde alloksan diyabeti daha avantajlıdır. Diyabet oluşturmak için gerekli olan alloksan miktarı, hayvan türleri, beslenme durumu ve veriliş şekline bağlıdır (Boylan vd 1992).

Alloksanın toksik etkisi özellikle pankreas β hücrelerine özgüdür. Glikozla uyarılan insülin salınımını inhibe eder; yüksek dozları ise β hücre nekrozu yapar. Alloksan glikoz transport mekanizması ve glukoreseptörler üzerinden etki eder (Bell ve Hye 1983). β hücre fonksiyonu için gerekli olan heksokinaz, protein kinaz ve sülfidril

enzimleri ile etkileşir; özellikle glukokinaz alloksan inhibisyonuna diğerlerinden daha duyarlıdır. Glukokinazın sülfidril grupları alloksanın primer intrasellüler hedefi olabilir ve bu yolla β hücre toksisitesine yol açabilir (Watkins vd 1979).

Alloksanın bir diğer etki mekanizması da mitokondriyal transport sistemlerini inhibe ederek hücre içi pH'ın yükselmesine ve hücre ölümüne yol açmasıdır. Alloksanın ayrıca serbest radikal hasarı oluşturan etkisi de bulunmaktadır. Alloksanın *in vivo* dezavantajları; fizyolojik pH'da stabil olmayışı, diyetteki şekerlerin alloksanın etkisine karşı koruyucu olabilmesi, yaş ve türe göre geniş bir doz varyasyonu bulunması ve yüksek dozlarda pankreas dışı diğer organlarda da toksik etkili oluşudur (Bell ve Hye 1983).

Bazı çalışmalarda sıçanlara alloksan verilerek yapılan çeşitli deneysel diyabet modelleri gösterilmiştir. Distile su veya serum fizyolojik içerisinde çözülmüş alloksan, sıçanlara intraperitonel olarak 120 mg/kg dozunda üç gün üstüste uygulanır. Son alloksan uygulamasından üç gün sonra sıçanlar bir gece önce aç bırakılarak sabahleyin açlık kan şekerleri ölçülür. Kan şekeri düzeyi 250 mg/dL'nin üzerinde olanlar diyabetli kabul edilir (Jaouhari vd 2000). Deneysel diyabet oluşturmada kullanılan başka bir yöntemde göre serum fizyolojik solüsyonunda çözülmüş alloksan, 150 mg/kg dozunda intraperitonel olarak bir kez uygulanır. Alloksan uygulamasına bağlı olarak pankreastan yoğun insülin salgılanmaktadır. Bundan dolayı letal (öldürücü) hipoglisemi gelişmesi olasılığı vardır. Bunu önlemek için sıçanlara 4-6 saat sonra 15-20 mL kadar %20'lik glikoz solüsyonu periton içi yolla uygulanır. Bundan sonra sıçanlara hipoglisemiyi önlemek amacıyla 24 saat süreyle %5 glikoz solüsyonu (içme suyuna katılarak) verilir. İki hafta sonra açlık kan şekeri ölçümü yapılır ve kan şekeri düzeyi 200-260 mg/dL olanlar çalışmaya alınır (Prince vd 1998). Alloksanla oluşturulan başka bir deneysel tip 2 diyabet modeline göre, sıçanlar 10 gün boyunca özel hazırlanmış yağ çözeltisi (10 ml/kg) ile beslenir (Jing vd 2005) ve daha sonra distile su veya serum fizyolojik içerisinde çözülmüş alloksan, intraperitonel olarak 120 mg/kg dozunda 11 ve 12. günlerde sıçanlara uygulanır. 17. günde kan şekeri ölçümü yapılır ve kan şekerleri 300 mg/dl ve üstünde olan sıçanlar tip 2 diyabetik olarak değerlendirilir (Shu-Xiang vd 2010).

2.2. HİPERTANSİYON

2.2.1. Hipertansiyonun Tanımı

Sistemik arteriyel kan basıncının kalıcı olarak yüksek değerlerde seyretmesi hipertansiyon olarak tanımlanır. Kabul edilen normal kan basıncı değerleri sistolik kan basıncı (SKB) için 120 mmHg ve diyastolik kan basıncı (DKB) için 80 mmHg'dır. Kısaca SKB için 140 mmHg'dan, DKB için de 90 mmHg'dan yüksek değerler yüksek kan basıncı değerleri olarak kabul edilir. Hem SKB hem de DKB'nin arttığı durum kombine hipertansiyon olarak tanımlanırken, DKB'nin 90 mmHg altında olduğu fakat sadece SKB'nin yüksek olduğu (SKB>140 mmHg) duruma ise izole sistolik hipertansiyon denir (Kaplan 1998).

Hipertansiyonla ilgili kılavuzlarda tanım ve sınıflama bakımından yıllar içinde sürekli değişiklikler olmuştur. 2007 yılında yayınlanan ESH/ESC kılavuzunda (Joint National Committee; JNC VII)'de önerilen hipertansiyon sınıflaması Tablo 2.1'de gösterilmiştir (Mancia vd 2007).

Tablo 2.1 ESH/ESC 2007'ye göre Erişkinlerde Kan Basıncı Sınıflandırılması (Mancia vd 2007)

Kan Basıncı sınıfı	Sistolik Kan Basıncı mmHg	Diyastolik Kan Basıncı mmHg
Optimal	<120	<80
Normal	120-129	80-84
Prehipertansiyon	130-139	85-89
Evre 1 Hipertansiyon	140-159	90-99
Evre 2 Hipertansiyon	160-179	100-109
Evre 3 Hipertansiyon	≥ 180	≥110

Hipertansiyon, kardiyovasküler patolojiler içerisinde en sık rastlanan ve toplum sağlığını önemli derecede tehdit eden, tedavi maliyeti açısından ise ekonomilere büyük yük getiren bir hastalıktır. Hipertansiyon ve hipertansiyona bağlı kardiyovasküler hastalıklar birçok ülkede ölüm sebepleri arasında birinci sıradadır. Hipertansiyonda

nörohumoral ve metabolik değişikliklerin önemli rolü bulunmaktadır. Hipertansiyon birçok genetik ve çevresel faktöre bağlı olarak meydana gelebilen kompleks ve multifaktöryel bir hastalıktır (Sun ve Zhang 2005).

Klinik ve etiyolojik olarak kalıcı kan basıncı yükselmesiyle karakterize olan hipertansiyon primer ve sekonder hipertansiyon olarak iki bölüme ayrılır.

1- Primer hipertansiyon, kesin nedeni belirlenemeyen hipertansiyon türüdür ve hipertansif hastaların yaklaşık %95'inde görülür. Kan basıncı artışı sistemik damar direncindeki kalıcı artışa bağlıdır ve bunun için öne sürülen pek çok neden vardır. Kalp debisi artışı (Kaplan 1998), periferik direnç artışı (Ross 1990), sıvı ve kan hacmi artışı (Cooke ve Dzau 1997), stres ve aşırı sempatik aktivite gibi (Kornitzer vd 1999) etkileri barındıran mekanizmaların yanında renin-anjiyotensin sisteminin katkısı da üzerinde durulan bir diğer konudur (Kaplan 1998, Ross 1990). Bunun yanında endotel dokusunun işlevindeki bozulma da esansiyel hipertansiyonun nedenleri arasında sayılabilir. Endotelden salgılanan vazoaaktif maddeler lokal kan akımı kontrolünde önemlidir (Kornitzer vd 1999). Bunlardan biri olan NO'nun azalması veya eksikliği de hipertansiyon oluşumuna katkıda bulunan etkenlerden biridir (DeArtinano ve Gonzales 1999).

2- Sekonder hipertansiyon ise başka bir hastalığa ikincil olarak gelişen kalıcı kan basıncı artışı olup tüm hipertansiyon olgularının %5'ini oluşturur. Başlıca nedenleri arasında renal, endokrin ve damar anomalileri sayılabilir. Gençlerde veya hipertansiyon hikâyesi olmayan yetişkinlerde hızlı kan basıncı artışı gözleendiğinde ön plana geçen ihtimal sekonder hipertansiyon varlığıdır. Ayrıca antihipertansif tedaviye çok zayıf cevap veren hipertansiyonlu bireylerde de bu ihtimal düşünülür (Kaplan 1998).

Basit bir hastalık olmayan hipertansiyon pek çok patolojik sürecin başlamasına yol açar. Toplumlara göre ve toplumdaki yaş gruplarına göre görülme sıklığı farklıdır. Yaşla birlikte hipertansiyon riskinin artmasına rağmen ileri yaş grupları arasında göze çarpan aşırı farklar yoktur. Buna göre 40 yaşın üzerindeki için hipertansiyon sıklığı %15'in üzerindeyken 65 yaşından sonra %20 değerini aşar. Erkekler için hipertansiyon riski kadınlara göre fazlayken ileri yaştaki kadınlarda, aynı yaştaki erkeklere göre daha önemli bir sağlık sorunu olarak görülür. Ayrıca siyah ırktaki insanlarda, incelenen diğer

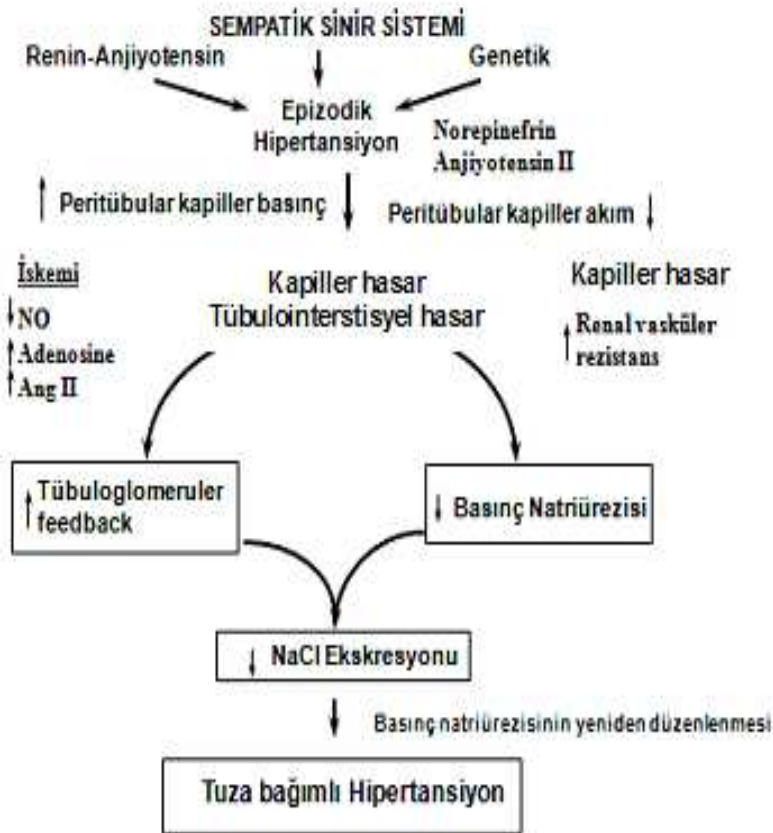
toplumlara göre hipertansiyon görülme sıklığının yaklaşık iki kat olduğu belirlenmiştir (Kornitzer vd 1999). Erişkin dönemde hem kadınlar hem de erkeklerde sistolik kan basıncı kademeli olarak yükselme eğilimi göstermektedir. Erken yetişkinlik döneminde, sistolik kan basıncının ortalama değerleri kadınlarda erkeklerden daha düşüktür. Ancak, daha sonraki kan basıncında artış, kadınlarda erkeklerdekinden daha yüksek orandadır. Sonuç olarak, yaş ve ırk/etnik yapıya göre kadınların ortalama sistolik kan basıncı oranları erkekler için karşılık gelen değerler kadar yüksek ya da daha yüksektir (Burt vd 1995).

Hipertansiyon tıbbi ve toplumsal önemi giderek artan bir hastalık haline gelmektedir. Bunun en önemli nedenlerinden birisi nüfusun giderek yaşlanmasıdır. Her yaşta rastlanabilen bir hastalık olmasına karşılık hipertansiyonun sıklığı yaşla birlikte artar. 60-69 yaş grubundaki kişilerin yarısı ve 70 yaş üzerindeki de yaklaşık dörtte üçü hipertansiyonludur (Burt vd 1995). Üstelik hipertansiyon yaşlılıkta sadece bir hastalık değil, ayrıca koroner kalp hastalığı, inme, kalp yetersizliği ve atrial fibrilasyon için de en önemli risk faktörüdür. Yaşla birlikte sistolik kan basıncının artmaya devam etmesine karşılık, diyastolik kan basıncı aynı artışı göstermemekte, aksine 50 yaş ve üzerinde düşmeye başlamaktadır. Buna karşılık, yaşla artan kan basıncı, kardiyovasküler morbidite ve mortalitedeki artışı da beraberinde getirmektedir. Hatta daha yüksek yaş, aynı kan basıncı düzeyinde daha yüksek risk anlamına gelmektedir. Genel olarak 115/75 mmHg düzeyinden itibaren sistolik kan basıncının her 20 ve diastolik kan basıncının 10 mmHg artması kardiyovasküler riski iki katına çıkarır (Lewington vd 2002).

Hipertansiyon bir kan basıncı regülasyonu rahatsızlığıdır ve birçok nedenden dolayı ortaya çıkar. Kan basıncının kontrolü böbrekler, santral sinir sistemi, periferik sinir sistemi ve vasküler endotel arasındaki kompleks bir ilişkiyle sağlanır. Adrenal bez ve hipofiz de buna katkıda bulunur. Kalp bu sistemler tarafından yapılan değişimlerin çoğuna yanıt veren organdır. Ayrıca diğer yerlerde üretilen maddelerle etkileşen lokal ve sistemik etkili hormonlar da salgılayarak kan basıncının kontrolüne yardım eder. Genetik olarak hipertansiyona yatkın olanlarda, kan basıncını düzenleyen sistemler arasında dengesizlik oluşur. Sempatik sinir sistemi, renin-angiotensin-aldosteron sistemi, vazopressin, nitrik oksit ve kalp ile diğer farklı hücrelerden (endotel ve vasküler düz kas hücreleri gibi) üretilen peptidler ve endotelin, adrenomedullin gibi vazoaktif

peptidler hep birlikte sistemlerin yanıtını düzenleyerek kan basıncını optimum fiziksel ve mental durum için gerekli sınırlarda tutar. Bu sistemler böbreği etkileyerek Na ve su tutulmasına yol açar ve kan basıncının primer kontrolü bu yolla sağlanmaktadır (Guyton ve Hall 2006).

Yaş ve cinsiyet etkenleri dışında genetik, psikososyal ve metabolik faktörler de kalıcı kan basıncı yükselmesine neden olabilir. Genetik ön koşullar aynı ailedeki hipertansiyon gelişim riskini genelde artırır ve kalıtsal geçiş söz konusudur. Şişmanlık, aşırı tuz alımı, insulin direnci ve uzun süreli alkol tüketimi gibi şartlar metabolik etkenler arasında sayılabilir. Bu etkenler normal damar tonusunun düzenlenmesini bozarak periferik direnç artışına yol açabilirler. Hipertansiyon gelişimine katkıda bulunan diğer durumlar ise sedanter hayat tarzı, devamlı çevresel, sosyal stres ve sempatik sinir sistemi aktivitesinin artması olarak sayılabilir (Kornitzer vd 1999). Sempatik sinir sistemi aktivitesinde artış veya renin anjiyotensin sistem aktivasyonu, genetik faktörler tarafından oluşan hipertansiyon, epizodiktir ve renal tuz kullanımı normaldir (Johnson ve Schreiner 1997).



Şekil 2.2 Tuza Bağlı Hipertansiyonun Patogenezi (Johnson ve Schreiner 1997)

2.2.2. Hipertansiyon Komplikasyonları ve Organ Patolojisi

Kalıcı kan basıncı yüksekliği kalpte ve sistemik damarlarda çeşitli patolojilere neden olur. Retinal ve renal glomerüler arterioller hipertansif vasküler dejenerasyona özellikle duyarlıdır. Artan kan basıncıyla arterlerde de hasar oluşabilir ve bundan sorumlu olaylar endotelyal hücre değişiklikleri, düz kas hücrelerinin büyümesi ve yeniden yapılanmasıdır (Kaplan 1997). Endotel hücrelerindeki değişikliklerin hipertansiyonda meydana gelen intimal kalınlaşmaya ve ateroskleroz gelişimine katkısı olabilir. Aterosklerozun uyarılması hipertansiyondaki patolojik sonuçlardan sadece biridir. Bu patolojinin yaşlı normotansif insanlarda da gözlenmesine rağmen hipertansiyonda daha sık rastlanan damar lezyonları farklılık gösterebilir. Genel olarak, büyük damarlarda intimada düz kas hücrelerinin birikimiyle aterosklerotik plak oluşur, küçük damarlarda ise mediada hipertrofi, hiperplazi ve fibroz doku artışı gözlenir. Hipertansiyonla uyarılan bu olumsuz süreçler sonuçta damar iç çapında daralmaya ve iskemi, damarda yırtılma, anevrizmal genişleme gibi olaylara neden olur. Dolaşım sisteminin çeşitli yerlerindeki damarsal hipertrofi ve koroner hastalık, hipertansif kişilerde daha fazla görülür. Tedavi edilmeyen hipertansiyon aynı zamanda sol ventrikül hipertrofisi, konjestif kalp yetmezliği ve koroner arter hastalığı gibi patolojilerin gelişmesine yol açabilir (Ross 1990). Bunun yanında aort anevrizması ve aortik diseksiyon gibi tehlikeli büyük damar anomalilerine neden olabilir. Beyin dolaşımının elastik yapısı bozulduğundan tedavi edilmeyen hipertansiyonda inme riski belirgin olarak artar (Kaplan 1997).

Hipertansiyondan olumsuz etkilenen diğer bir organ da böbrektir. Hipertansif hastaların, doku ve organlarında yapısal ve işlevsel bozuklukların sık görüldüğü öne sürülür, fakat bazı araştırmacılar bunu altta yatan primer bir böbrek hastalığına bağlar. Orta dereceli hipertansiyonda hipertansif nefroskleroz olarak tanımlanan patoloji afferent arteriollerin duvarındaki hiyalinizasyon ve skleroz şeklinde ortaya çıkar. Yine hipertansiyonda gözlenen mikroalbuminüri progresif böbrek hasarının bir göstergesi olabilir (Kaplan 1997).

Hipertansiyonun serebral arterlerde önemli değişiklikler oluşturduğu ve bunun sonucunda da önemli komplikasyonlara yol açtığı bilinmektedir. Akut ve kronik hipertansiyonda intrakranial damarlarda aterosklerozun hızlanmasına ek olarak küçük

arterlerde ortaya çıkan dejenerasyon sonucu laküner infarktlar, büyük arterlerde oluşan aterosklerotik ve trombotik tıkanmalar sonucunda geniş serebral infarktlar meydana gelmektedir. Klinikle ilişkili diğer durumlar geçici iskemik ataklar, intraserebral hemoraji, hipertansif ensefalopati, vasküler demans ve vasküler parkinsonizmdir (Kaplan 1998). Hipertansiyonun neden olduğu organ hasarı uzun bir sürede gelişir. Aşamalı kan basıncı artışları tolere edilebildiğinden bu süreç gizli olarak başlar. Bu yüzden hipertansiyonun erken dönemde tesbit edilip tedaviye başlanması büyük önem taşır (Kılbaş 2006).

2.2.3. Hipertansiyon ve Endotelin 1

Endotel hücreleri tarafından salınan 21 aminoasitlik peptid olan endotelin 1 (ET-1) bilinen en güçlü vazokonstriktör ajandır. Dolaşımında çok küçük konsantrasyonda (nanomolar/pikomolar) bulunur (Sneider vd 2000). Endotelin reseptörleri G protein reseptör ailesinden olup endotelin A (ET-A) ve endotelin B (ET-B) olmak üzere iki izoformu mevcuttur. ET-A reseptörleri, düz kas hücreleri ve kalp hücrelerinde, ET-B ise daha çok damar endotelinde, az bir kısmı ise düz kas hücrelerinde bulunur. Düz kas hücrelerinde ET-A ve ET-B reseptörlerinin etkinleşmesi vazokonstriksiyon, hücre proliferasyonu ve hipertrofiye neden olurken endotel hücrelerindeki ET-B reseptörlerinin uyarılması nitrik oksit, prostasiklin gibi vazodilatatörlerin salınmasını sağlayarak vazodilatasyona ve hiperproliferasyonun baskılanmasına yol açarak, ET-1'in zararlı etkilerini dengeleyebilir (D'Orleans-Juste vd 2002, Bohm vd 2003). Hipertansif hastalarda yapılan bir çalışmada damarlarda vazokonstriktör cevabın arttığı ve bunun nedeni de ET-1 seviyesindeki artışa bağlanmıştır (Schiffrin vd 1997). Orta ve aşırı hipertansif hastalarda küçük arter endotelinde prepro ET-1 mRNA ekspresyonu belirgin olarak artış göstermektedir (Rossi vd 1999). Bu durum hipertansiyonda küçük arterlerdeki hipertrofik yeniden yapılanmada ve dolayısıyla kan basıncı yüksekliğinde ET-1'in rol oynadığını göstermektedir (Elijovich vd 2001). Bir çalışmada tuz duyarlı hipertansiflerde genellikle plazma renin aktivitesinin daha düşük olduğu ve bunlara sodyum yüklemesi yapıldığında plazma katekolamin seviyesi ile birlikte endotelin cevabında daha çok artış olduğu görülmüştür (Deedwania 2000). Bu durumda sempatik sistem, sodyum sensivitesi, endotelin cevabı ve kan basıncı yüksekliği arasında bir ilişki ortaya çıkmaktadır. Özet olarak şiddetli yüksek hipertansiyonda ve tuz duyarlı hipertansiyonda endotelin sistem aktivasyonu önemlidir (Sneider vd 2000). Schiffrin

ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada spontan hipertansif ratlarda ET-1 gen ekspresyonunun artmadığı ve ET-1'in vasküler hipertrofi belirleyicisi olmadığı gösterilmiştir. Ancak DOCA-tuz yüklenmesiyle (spontan hipertansiyona) malign hipertansiyonla birlikte damarlarda vasküler hipertrofi ve ET-1'in aşırı yapımı ortaya çıkmıştır (Schiffrin vd 1995).

2.2.4. Hipertansiyon ve Renin Anjiotensin Sistemi (RAS)

Renin-anjiotensin sistemi kan basıncı ve elektrolit metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynar. Renin salgılanmasının iki önemli düzenleyicisi böbreğin kan basıncında ve kan hacminde azalmadır. Böbrek kan basıncında azalma jukstaglomerüler aparatı bulunan baroreseptörlerle hissedilir ve hemen renin salgılanır. Kanama veya kan hacminde azalma kalbe gelen venöz basınçta azalmaya bu da kalbin atrial duvarındaki reseptörlerin uyarılmasına yol açar. Bu uyarı kranial sinirler ile medulla oblongatadaki vazomotor merkeze, adrenerjik sinirlerle jukstaglomerüler hücrelere ulaşarak renin salgılanır (Kılbaş 2006). Jukstaglomerüler aparatı salgılanan renin, majör kaynağı karaciğer olan anjiyotensinojene dönüşür. Anjiyotensinojen ise, aktif olmayan decapeptid yapısındaki anjiotensin I'e dönüşür. Anjiotensin I ise karboksipeptidaz yapısındaki anjiotensin dönüştürücü enzim ile RAS'nin etkin molekülü olan oktapeptid yapısındaki anjiotensin II (ANG II)'ye çevrilir. Vazokonstriktör etkiye sahip olan ANG II, sürrenal bezden aldosteron salgılamasına yol açarak renal proksimal tubulustan belirgin sodyum ve su reabsorpsiyonu yapar, potasyum atılımını artırır. İnsanlarda ANG II, Anjiotensin III (ANG III) 'e çevrilir. ANG III, aldosteron oluşumunun güçlü bir uyarıcısıdır, ANG II düzeyi ANG III'den 4 kat fazladır (Kılbaş 2006).

2.2.4.1. Hipertansiyon ve Anjiotensinojen

RAS, komponentlerinin çoğu hipertansiyonun potansiyel belirleyicisidir. Anjiotensinojenin plazma seviyesi, bu anlamda birkaç nedene bağlı özel önem taşımaktadır. Bazı hastalarda, plazma seviyesi ile diyastolik kan basıncı arasında korelasyon, bazı ailelerde ise plazma seviyesi ile hipertansiyon arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Anjiotensinojen ile hipertansiyon arasındaki bu ilişki *anjiotensinojen* genindeki varyasyonların esansiyel hipertansiyona yatkınlığı etkileyebileceğini

düşündürmüştür. Kanın plazmasında bulunan ve normalde kanda dolaştığı halde hiçbir şekilde etkisi olmayan bir protein olan anjiotensinojen büyük oranda karaciğerde sentez edilir ve birçok dokuda anjiotensinojenin mRNA düzeyinde eksprese edilmektedir. Kan basıncı ve elektrolit homeostasisinde görevli ANG II'nin öncü maddesidir (Fruhbeck 2001).

2.2.4.2. Hipertansiyon ve Anjiotensin Dönüştürücü Enzim 2 (ACE 2)

RAS'ın bir parçası olan anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE), kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir ve anjiotensin I'i güçlü bir vazokonstriktör olan anjiotensin II'ye dönüştürür. Bu enzimin inhibisyonu antihipertansif bir etkiye neden olur. ACE; Kininase II ya da peptidil dipeptidaz A olarak da adlandırılan yüksek molekül ağırlığına sahip yapısında fruktoz, galaktoz, mannoz ve sialik asit bulunduran bir enzimdir. Bir çinko metalopeptidaz olan ACE 2'nin iki formu vardır: Endotel, epitelyum ve nöronal hücrelerde bulunan yüksek molekül ağırlıklı formu (170 kDA), germinal hücrelerde bulunan düşük molekül ağırlıklı formu (90 kDA). Akciğerler başta olmak üzere beyin, testis, böbrek vb. dokularda; plazma, semen gibi fizyolojik sıvıların yanı sıra, makrofajlar ile kan damarlarında önemli oranda bulunur (Bernstein vd 1992). ACE'nin ancak %10 luk kısmı plazmada bulunurken %90'nı dokulardadır. Kalpde en fazla sağ atriumda bulunmaktadır. ACE'nin akut etkilerinden plazma ACE aktivitesi, kronik etkilerinden ise doku ACE aktivitesi sorumludur. Doku ACE aktivitesi damarda; vazodilatasyon ve vazokontstrüksiyon, büyümenin uyarılması ve önlenmesi, pro ve antiinflamatuvar faktörler, trombotik ve fibrinolitik dengenin sağlanmasında gibi çeşitli etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Kurusaki vd 2005). ACE 2 ve bradikinin damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunu özer ve nitrik oksit, prostasiklin gibi vazodilatatörlerin endotelden salınmasını inhibe eder (Pelc vd 1991). ACE, vazodilatatör bradikinin inaktivasyonunda primer rol oynadığı için ve bu olayın kan basıncı ile elektrolit homeostazisindeki önemi nedeniyle, ACE inhibisyonunun hipertansiyon ve konjestif kalp yetmezliği tedavisinde önemli olduğu bilinmektedir. Tüm bunların neticesinde ACE kardiyovasküler sistemin ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir (Turgut 2005).

2.2.4.3. Hipertansiyon ve Anjiotensin II

Kan basıncı birçok karmaşık ve iç içe geçmiş biyolojik sistemlerin kontrolü altındadır. Anjiotensin II, RAS'nin etkin bir hormonudur. Hipertansiyon gelişiminde vasküler tonusu, sıvı hacmini ve elektrolit dengesini düzenleyerek önemli rol oynamaktadır. ANG II sentezi, karaciğerde bir alfa 2 globulin olan anjiotensinojenin üretimi ile başlar. ANG II, AT-1 ve AT-2 olarak adlandırılan iki tip reseptörlere bağlanarak etki eder. ANG II'nin fizyolojik etkileri çoğunlukla AT-1 üzerinden gerçekleşmektedir. Bu etkiler vazokonstriksiyon, aldosteron salınımı, antidiüretik hormon sentezi, sempatik aktivasyon ve böbrek tübüllerinden tuz emilimi olarak sayılabilir. Tüm bu etkiler hipertansiyon gelişimine neden olmaktadır (Unger 2000). Hipertansiyon gelişiminde en önemli etki, anjiotensin II'nin arteriyel düz kaslar üzerindeki direkt kontraksiyon etkisidir. Bunlara ek olarak kalp üzerindeki pozitif inotropik etkisi, az da olsa kan basıncının yükselmesine katkıda bulunmaktadır. Anjiotensin II, aynı zamanda endotel hücrelerinde düzensizlik, medial hipertrofi ve bağ dokusunda artışa sebep olarak ateroskleroza neden olur. ANG II, kalp kasında miyozitlerde büyümeye, sol ventrikül hipertrofisine ve kalp yetmezliği gelişimine sebep olur (Unger 2000).

2.2.5. Hipertansiyon, Tip 2 Diyabet ve İnsülin Direnci

İnsüline bağımlı olmayan Tip 2 diyabet, hipertansiyon ve obezite sıklıkla bir arada bulunan ve birbiriyle ilişkili görünen, toplumda sık rastlanan hastalıklardır. Neden oldukları renal ve kardiyovasküler komplikasyonlardan ötürü çok ciddi morbidite ve mortalite artışını beraberinde getirmekle kalmayıp, tedavileri sırasında ortaya çıkan önemli bir ekonomik gider yükünü de toplumun sırtına bindiren bu önemli ve yaygın hastalıkları birbiriyle ilişkili kılan bağ ise insülin direncidir. Tip 2 diyabet hastalarında hipertansiyonun da bulunması, kardiyovasküler komplikasyonları ve mortalite riskini daha da artırmaktadır (Goa vd 1997) Tüm dünyada, özellikle de sanayileşmiş batı toplumlarında ileri yaşla orantılı olarak hipertansiyon ve Tip 2 diyabetin prevalansı giderek artmaktadır (Arauz-Pacheco vd 2002).

Hipertansiyon, tüm diyabetli hastaların %20-60'ını etkiler ve %30 oranında dislipidemi ve obezite buna eşlik eder. Diyabetik hastalarda hipertansiyon sıklığı

sağlıklı kişilere göre 2-3 kat daha fazladır. Tip 2 diyabetik hastaların en az %70'inde hipertansiyon gelişmektedir. Tip 2 diyabete eşlik eden hipertansiyonla ilgili bu oran ve sayılar toplumun etnik yapısı ve gelişmişlik düzeyine göre de bir miktar değişmektedir. Bu iki hastalığın birlikteliğinin ciddiyeti ve hastalar için söz konusu riskleri son yıllarda daha iyi anlaşılmıştır. Diyabetik yaşlıların neredeyse %86'sının ölüm nedeni sadece kardiyovasküler hastalıkların komplikasyonlarıdır (Wingart 1995). Hipertansiyon ve diyabet birlikteliği, inme ve kardiyovasküler ölüm riskini 2 kat artırır. Hipertansiyon nedeniyle ölenlerin %4,4'ünde diyabet, diğer yandan diyabet nedeniyle ölenlerin %10'unda hipertansiyon tespit edilmiştir (Goa vd 1997).

Hipertansif hastalarda özellikle glikoz intoleransı ve vasküler hastalıklarla eş zamanlı olarak koagülasyon ve fibrinolitik sistem bozulmuştur. Diyabetik ve hipertansif hastalarda yüksek okside düşük dansiteli lipoprotein (LDL), düşük HDL seviyesi ve hipertrigliseridemi ile karakterize dislipidemi de siktir. Ayrıca platelet aktivasyon, agregasyon ve adezyonunda bozulmuştur (Carretero ve Oparil 2000).

Tip 2 diyabetik hipertansiflerde nabız basıncında artış daha sık görülür ve bu basınç artışı kardiyovasküler mortalitede artış ile direkt ilişkilidir. Yine bu grup hastalarda noktürnal hipertansiyon daha sık görülür. Bu durum, kardiyovasküler ve renal hastalık prevalansında artışa neden olmaktadır. Ayrıca, bu hastalar ortostatik hipotansiyon ataklarına daha yatkındır ki bu durum hastaların tansiyonlarını kontrol altına almayı güçleştirmektedir. Yine egzersiz esnasında bu hastaların tansiyonu daha çok yükselmektedir. Kan basıncının otoregülasyonu bu hastalarda bozulmuştur (Brenner 2002).

Tip 2 diyabette gelişen hipertansiyonun patogenezinde temel olarak insülin direnci ve hiperinsülinemi rol oynamaktadır (Cooper 2003). Sorumlu olduğuna inanılan mekanizmalardan birisi artmış sempatik aktivitedir. Japonya'da yapılan bir çalışmada esansiyel hipertansiyonu olan ve olmayan iki grup, insülin direnci ile kardiyak sempatik aktivite ilişkisi açısından karşılaştırılmış ve anlamlı sonuçlar elde edilmiş; hipertansif hastalarda insülin direncinin sempatik aktiviteyi artırdığı görülmüştür (Watanabe vd 1999). Hiperinsülineminin sempatovagal denge ve kan basıncı üzerine olan etkileri hala hipergliseminin etkisinden tam anlamıyla ayırt edilebilmiş değildir. Bu nedenle tip 2 diyabetiklerin birinci derece yakınlarından obez ve diyabetik olmayan; fakat insülin

dirençli olanlar üzerinde bir çalışma yapılmış ve bu kişilerde sempatik aktivitenin artmış olduğu görülmüştür (Frontoni vd 2005). Ayrıca hipertansif hayvan modellerinde yapılan çalışmalar neticesinde hipertansiyonun asla insülin direncine yol açmadığı; insülin direncinin sempatik aktivite artışı üzerinden hipertansiyona yol açtığı düşünülmüştür (Ruggeri vd 2006). Sonuç olarak insülin direnci ve sempatik aktivite artışının hipertansiyondan önce geliştiği düşünülmektedir (Frontoni vd 2005). Normalde insülinin vazokonstriktör ve vazodilatör etkileri dolaşımında dengededir. Ancak; hipertansiyonda ve obezitede bu denge vazokonstriksiyon lehine değişir. Sonuçta volüm genişler ve vasküler rezistans artar. Tip 2 diyabet ve hipertansiyon birlikteliği çoğu kez insülin direnci zemininde gelişmekte ve ciddi anlamda artmış kardiyovasküler riskleri de beraberinde getirmektedir (Frontoni vd 2005, Ruggeri vd 2006).

2.2.6. Deneysel Hipertansiyon Modelleri

Hipertansiyonun etkilediği populasyon yüzdesi ve uzun vadedeki mortalite ve morbiditeye etkisi göz önüne alınarak, bu konuda yapılan birçok araştırma olduğu bilinmektedir. Hipertansiyonun mekanizmasını ve tedavisini aydınlatmak için yapılan araştırmalarda çok farklı yaklaşımlar uygulanmaktadır. Hipertansiyon araştırmalarında yüksek kan basıncı değerleri olan insanların yanında kendiliğinden hipertansif sıçanlar veya hipertansif hale getirilen deney hayvanları da fizyopatolojik ve tedaviye yönelik araştırmalarda kullanılmaktadır (Kılbaş 2006).

2.2.6.1. Spontan Hipertansif Sıçanlar

Bu hayvanlar normalin üzerinde kan basıncı değerlerine sahip sıçanların en az birkaç nesil boyunca kendi aralarında çiftleştirilmesiyle elde edilir. Böylece, başta normotansif olmalarına karşın yaşı arttıkça sistolik kan basınçları 190 mmHg üzerine çıkan hayvanlar üretilebilir (DeArtinano vd 1999). Genetik predispozisyon nedeniyle kendiliğinden gelişen sıçanlardaki bu hipertansiyon, insanlardaki esansiyel hipertansiyon oluşumunu andırır (Kulics vd 1999).

2.2.6.2. Goldblatt Hipertansiyon Modeli

Sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılan diğer bir yöntem gümüş bir klips yardımıyla böbrek arterlerine yapılan girişimlerdir. Her iki böbrek sağlamken bir renal arter klipsle daraltılırsa "iki böbrek bir klips" modeli olarak adlandırılır (Volpe vd 1986). Bununla birlikte böbreklerden birinin alınması ve kalan böbreğin arterine klips yerleştirilmesiyle "bir böbrek bir klips" modeline uyan hayvanlar elde edilir ve bunlarda da kan basıncı artar (Yu vd 1993).

2.2.6.3. Dahi-Tuz Hipertansiyon Modeli

Dahi ve ark. tarafından, genetik özellikleri farklı iki ayrı sıçan soyu geliştirilmiştir. Bunlar tuza dirençli ve tuza duyarlı alt türlerdir. Tuza duyarlı olan sıçanlarda normalin üzerinde tuz alımı hipertansiyon oluşumunu uyarır (Chandler ve Dicarrio 1998).

2.2.6.4. Nitrik Oksit Sentez (NOS) Blokajıyla Oluşan Hipertansiyon Modeli

İlk defa 1992 yılında iki ayrı araştırma grubu kronik nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonunun yeni bir arterial hipertansiyon modeli olarak kullanılabileceğini bildirmiştir (Roberto ve Baylis 1998). Bu bulgu, nitrik oksitin kan basıncının uzun dönem düzenlenmesinde gerekli olduğu verileriyle uyumludur. Sıçanlarda farklı dozlarda verilen NOS inhibitörünün hipertansiyona yol açmasının yanında yüksek dozları daha ağır hipertansiyona ve böbrek hasarına neden olur (Roberto ve Baylis 1998). Bu verilerin değişik araştırmacılar tarafından doğrulanması kronik NOS inhibisyonunun yeni bir arterial hipertansiyon modeli olarak yerleşmesini sağlamıştır. Sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılan ilk NOS inhibitörü bir L-arginin analogu olan L-NAME'dir (Gardiner vd 1992). L-NAME'nin suda çözünmesi ve içme suyuyla kolayca hayvanlara verilebilmesi takip eden yıllarda bu modelin yaygın olarak kullanılmasına yol açtı. Bunun dışında L-NAME'nin intraperitoneal enjeksiyonuyla da sıçanlarda hipertansiyon oluşturulabilir (Sakuma vd 1994).

2.2.6.5. DOCA-tuz Hipertansiyon Modeli

11-Deoksikortikosteron (veya Deoksikortikosteron veya 21-hidroksiprogesteron), elektrik ve su metabolizmasını etkileyen mineralokortikoid aktiviteye sahip, adrenal korteksin zona fasciculata tabakasından sentez edilen steroid bir hormondur. Aldosteronun yaklaşık %5'i kadar etki gösterir. İsminden de anlaşıldığı gibi progesteronun 21-hidroksi değişkeni ya da kortikosteronun 11-deoksi değişkeni olarak bilinmektedir. Progesterondan oluşan 11-deoksikortikosteron (DOC), sürrenal kortekste hem kortikosteronun hem de aldosteronun ön maddesidir. Önemli glukokortikoid aktiviteye sahip değildir. 11-Deoksikortikosteron, aldosteron üretimi için bir prekürsör moleküldür (Kathlenn 2005). DOC yaklaşık aldosteron ile aynı oranda salınmakla birlikte kortizola benzer şekilde yaklaşık tümü kortikosteroid bağlayıcı globüline bağlanır, ancak %5 kadarı serbest formda bulunur. Karaciğerde tetra hidrodeoksikortikosterona dönüştürülür, glukouronik asitle konjuge edilir ve idrarla atılır. İdrarda serbest olarak DOC hemen hemen saptanamayacak düzeydedir. Aldosteron ve DOC mineralokortikoid reseptörler için eşit affiniteye sahiptirler, kabaca eşit konsantrasyonlarda bulunurlar, ancak aldosteron çok daha fazla öneme sahiptir. Bunun nedeni aldosteronun çok daha fazla serbest halde bulunmasıdır (Edwards 2001).

DOCA-tuz hipertansiyonu farmakolojik olarak oluşturulan hipertansiyon modelinin tipik bir örneğidir. DOCA-tuz hipertansiyon modeli deneysel hipertansiyon modelleri arasında nörohumoral ve metabolik değişiklikleri taklit edebilen elverişli bir yöntemdir. Deney hayvanında DOCA-tuz hipertansiyon modelinin oluşum süreci kronik malignant bir patoloji oluşturmakta ve bu süreç içerisinde özellikle damarlarda fonksiyon bozukluklarına yol açmaktadır (Sun 2005).

DOCA-tuz modeli, hipervolemiye yol açan renal kitle azalması ve yüksek tuz alımına bağlı olan diğer deneysel modellerle aynıdır. DOCA miktarının artması, distal tübülde sodyum ve suyun geri emiliminin artması nedeniyle renal sodyum kullanımında bir dengesizliğe neden olmaktadır. Bu durum ekstraselüler sıvı ve plazma hacminde bir artışa yol açan renal kitlenin azaltılması veya aşırı tuz alımı ile artış göstermektedir (Haack vd 1977)

DOCA-tuz hipertansiyonu düşük reninli ve hacim yüklemeli bir hipertansiyon örneğidir. Hipertansiyonlu hastaların %20'sinde düşük renin aktivitesi saptanmaktadır. Düşük renin aktivitesi klinik olarak kan basıncının tuza duyarlı olduğunu ve diüretik tedaviye cevap alınacağını ifade etmektedir. Bu hastalar hipokalemik olmamakla beraber artmış ekstrasellüler sıvı hacmine sahiptirler. Bu hastalarda tedaviye cevap normal ya da yüksek renin aktiviteli hipertansiyona göre daha iyidir (Altındal 2006).

DOCA-tuz hipertansiyonunun oluşum ve gelişiminde vazopresinin rolü olduğuna dair kanıtlar bildirilmiştir. Artmış sempatik sinir aktivitesinin renal sinirler yoluyla renal fonksiyonları etkileyebileceği, böbreğin denervasyonunun hipertansiyonun başlangıcını geciktirdiği ve hastalığın şiddetini azaltabileceği bildirilmektedir (Sun 2005).

Hayvanlarda hipertansiyon oluşturmak için DOCA-tuz hipertansiyon modeliyle yapılan çeşitli metod ve çalışmalar vardır. Yapılan bir metoda göre yaklaşık 100 g ağırlığındaki sıçanlara 10 mg/kg DOCA, susam yağı içinde çözündürülerek haftada iki kez subkutan olarak 43 gün boyunca verilerek ve aynı zamanda içme sularında %1'lik sodyum klorür (NaCl) konularak hipertansiyon oluşturulabilmektedir (Rathod 1997). Yapılan diğer bir DOCA hipertansiyon modeli ise, unilateral nefrektomi yapılan sıçanlara 25 mg/kg DOCA, pamuk tohumu yağı içinde çözündürülerek haftada iki kez subkutan olarak 5 hafta boyunca verilerek yapılmaktadır (Katholi ve Naftilon 1980). Bunun yanında nefrektomi yapılan sıçanlara silikon kauçuk içeren DOCA pelletleri (200 mg) deri altına yerleştirilerek de hipertansiyon elde edilebilmektedir (Ammarguella vd 2001).

2.3. APELİN

2.3.1. Tarihçesi

1993'te O'Dowd ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, yedi transmembran domaini içeren G-proteinine bağlı reseptöre ve Angiotensin II tip 1 reseptörüne (AT-1) homolog olan bir gen tanımlandı (O'Dowd vd 1993). *Apelin reseptörü* (APJ) olarak adlandırılan bu gen, 1998'e kadar 'orphan' olarak tanımlandı ve Tatamoto ve ark. tarafından yapılan çalışmada selektif endojen bir ligandı olan apelin isimli peptid keşfedildi (Tatamoto vd 1998).

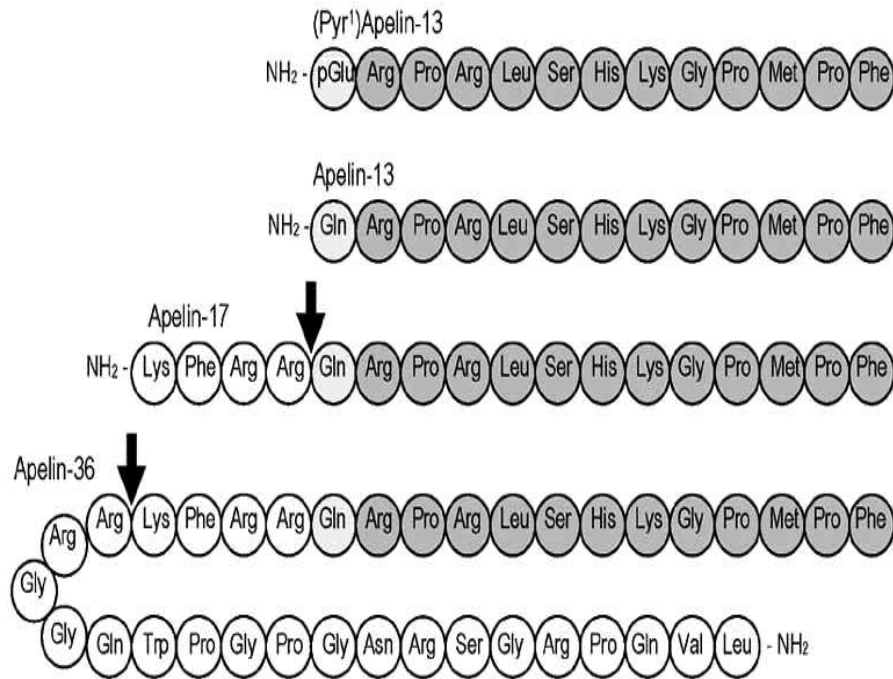
2.3.2. Apelin Nedir?

Apelin, G-proteinine bağı apelin reseptörüne yüksek afinite ile bağlanan endojen bir ligand ve büyüme faktörü olan bir peptiddir. Apelin 1998'de ilk kez inek mide dokusundan izole edilmiştir (Tatemoto vd 1998). Apelin insan ve farelerde izole edilen, olgun adipositler tarafından sekrete edilen ve üretilen yeni bir adipositokin olarak tanımlanmaktadır (Rayalam vd 2008).

Apelin mRNA'sı kalp, karaciğer, akciğerler, testis, ovaryum, böbrek adipoz doku gibi periferel sıçan dokularında (Habata vd 1999) ve spinal kord, hipokampus, hipotalamus, pineal bez, hipofiz bezi ve serebral korteks gibi sıçan merkezi sinir sisteminin çeşitli bölgelerinde eksprese edilmektedir (Medhurst vd 2003). İnsanda kaudat nükleus, hipokampus, amigdala, hipotalamus, talamus, bazal ön beyin, frontal korteks, substansiya nigra, spinal kord, korpus kallosum gibi santral sinir sisteminin (Lee vd 2000) yanısıra kalp, akciğerler, böbrek, testis, plesanta, uterus, iskelet kası gibi çeşitli periferel doku ve organlarda da *apelinin* mRNA düzeyinde eksprese edildiği bilinmektedir (Medhurst vd 2003).

2.3.3. Apelin Geni

Apelin geni Xq25–26.1'de lokalizedir ve 1.726 bp büyüklüğünde olup, 3 ekson içermektedir. Apelin gen ürünü 77 aminoasitten oluşan bir pre-proproteindir. Apelin geni, 77 aminoasitten oluşan bir pre-proprotein kodlar ve bu pre-proproteinin N terminal bölgesinde sinyal peptidi bulunur. Endoplazmik retikulumda parçalanarak, 55 aminoasitten oluşan bir pro-proteine dönüşür (Tatemoto vd 1998). Bu pro-proteinin biyolojik etkinliğinden C terminal bölgesinde yer alan 13 a.a'lik bölümün sorumlu olduğu düşünülmektedir (Kawamata vd 2001). Endojen apelin reseptör agonistlerinin amino asit dizisi apelin-36, apelin-17, (Pyr1) apelin-13 ve apelin-13 peptidleridir. Şekil 2.3'de görüldüğü gibi a.a. dizilimleri verilen bu peptidlerdeki gri renkli olan bölgeler, tüm peptidlerde aynıdır (Şekil 2.3) (Pitkin vd 2010). Bu peptidlerin hepsi APJ reseptörüne bağlanırlar ve ikinci haberci sinyal yolaklarını aktive ederler (Tatemoto vd 1998). Ayrıca bu peptidler, N terminal bölgede ligand reseptör etkilişiminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynarlar (Hosoya vd 2000).



Şekil 2.3 Apelin Geni (Pitkin vd 2010)

Apelin-13 peptidi, apelin geninin en aktif izoformlarından biridir ve APJ sinyalinin tam aktivasyonunu sağlamada yeterlidir. *Apelin* geninin uzun izoformlarının fizyolojik önemi tam olarak bilinmemektedir. Kurbağa *apelin* geninde uzun apelin-17 ve apelin-36 peptidleri farklıyken, apelin-13 peptidinin değişmeden kaldığı gösterilmiştir. Uzun izoformlarla ortak olan değişmeyen aminoasit kısımları proteolitik bölünme parçaları olarak bilinmektedir. Bu yüzden apelin-13, fizyolojik olarak apelin geninin önemli başlıca protein ürünüdür. Evrimsel korunmanın olmadığı göz önüne alındığında, apelin-13 aktif hale gelene kadar apelin-36, bazı biyolojik aktivitelerde fonksiyon yapabilir (Kälin vd 2007). Apelin-36 ve apelin-13 çeşitli fonksiyonların düzenlenmesinde farklı özelliklere ve etkilere sahiptir. Apelin-36, biyolojik aktiviteyi sınırlayan bir öncül peptid olarak rol oynamaktadır. Apelin-13 ise, biyolojik fonksiyonları korur ve enzim düşüşünü önler ve çok etkili biyolojik form olduğu bilinmektedir (Kleinz ve Davenport 2005). Plazmada bulunan ana apelin peptidleri apelin-13 ve daha az olarak apelin-17'dir (Beltowski 2006). Ağırlıklı olarak kalp ve akciğerlerde görülmekle birlikte vücudun her yerinde yaygın olarak bulunsalar da henüz fonksiyonları tam olarak anlaşılamamıştır. Düz kas üzerine doğrudan etki ederek vazokonstrüksiyon ve pozitif inotropi yaptığı, endotele bağımlı olarak da vazodilatasyon yaptığı bilinmektedir. Kalp kontraktilitesinin bilinen en güçlü stimülatörlerinden birisidir (Falcao-Pires 2005, Chen vd 2003). Apelinin uzun formu olan apelin-36, HIV enfeksiyonunun inhibisyonunda çok

etkiliyken, apelin-13 gibi kısa peptidler kardiyovasküler fonksiyonlarının düzenlenmesini sağlarlar. Yemek ve su alımının kontrolü yanında (Sunter vd 2003) apelinin, kardiyovasküler sistemin santral ve periferik düzenlenmesi, hormon ve nöropeptidlerin salınması (Reaux vd 2001), immun fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rollere sahip olduğu bildirilmektedir (Horiuchi vd 2003).

2.3.4. Apelin Reseptörü (APJ)

Apelin reseptörü (APJ reseptörü), apelin bağlayan, G protein eşlikli bir reseptördür. Plazma membranında bulunan APJ reseptörü 380 aminoasitten oluşur. Anjiotensin II tip 1 reseptöre (AT-1) homolog olan bir reseptördür. APJ reseptörü ve AT-1 reseptörü arasında homolog benzerlik, total bölgenin %30'unda 115 aminoasit, transmembran bölgenin %54'ünde 86 aminoasit içermesidir. Bu nedenle apelin, APJ reseptörüne bağlanan endojen bir ligandır ve anjiotensin II - AT-1 reseptörüne bağlanmaz. APJ ve AT-1 birbirleriyle homolog olmasına rağmen, anjiotensin II de APJ reseptörüne bağlanmaz (O'Dowd vd 1993). İnsanda APJ reseptörü ile ilişkili genler sıçan, fare, maymun, balık ve kurbağalarda tanımlanmıştır. Bu gen, erkeklerde 11. kromozomun 11q12.1 bandında lokalizedir. Molekül ağırlığı 42,660 kDa'dur (Kleinz 2005).

İnsanda *APJ* mRNA'sı, dalak, timus, prostat, testis, ovaryum, barsak ve beyin gibi birçok santral ve periferik dokularda eksprese edilmektedir (Edinger vd 1998). Ratlarda *APJ* mRNA'sı, akciğerler ve kalp gibi periferik dokularda yüksek seviyelerde bulunurken (Hosoya vd 2000), böbrek, hipofiz bezi, ovaryum ve iskelet kasında düşük seviyelerde bulunmaktadır (O'Carroll vd 2000). APJ reseptörü, serebral korteks, hipokampus, hipofiz bezi, hipotalamus (özellikle hipotalamusun paraventriküler ve supraoptik nüklusu), serebellum, striatum gibi santral dokulardan eksprese edilmektedir (Lee vd 2000). Ayrıca insan beyinde, APJ reseptör ekspresyonu nöronlar, oligodentrositler ve astrositlerde gösterilirken, makrofaj ve mikroglia gibi hücrelerde gösterilememiştir (Choe vd 2000).

APJ reseptör etkinliği, protein kinaz C (PKC) yoluyla ekstraselüler düzenleyici kinazların (ERKs) Ras bağımsız aktivasyonu ile sağlanır. APJ reseptörüne apelinin bağlanması, hücresel sinyal yollarının akışını etkilemez (Reaux vd 2001). Aktivasyonu, adenilat siklaz inhibisyonu (Habata vd 1999), intraselüler kalsiyum artışı (Choe vd

2000) ve ekstraselüler sinyal düzenleyici kinazların aktivasyonu gibi çeşitli intraselüler efektörlerin düzenlenmesine bağlıdır (Masri vd 2006). Endotel hücrelerde eksprese edilen APJ reseptörünün, endotel hücreleri üzerine çeşitli etkileri bildirilmiştir (Devic vd 1999). Endotel hücrelerden nitrik oksit gibi vazodilatatör maddeleri serbestlemesiyle endotelyum bağlı vazodilatasyona sebep olması (Tatemoto vd 2001) yanında angiogenik bir faktör olarak rol oynar (Cox vd 2006).

2.3.5. Apelinerjik Sistemin Etki Mekanizması

Apelin ve APJ reseptörü santral sinir sistemi, akciğerler, beyin, kalp, meme bezi ve gastrointestinal sistem dâhil kemirgen ve insan dokularında yaygın bir şekilde eksprese edilmektedir (Medhurst vd 2003). Apelin ve APJ reseptör sistemi, birçok organ sistemlerinde kan basıncı ve vasküler tonusun düzenlenmesi, kardiyak kontraktilite, kalp hızı, anterior hipofiz fonksiyonlar, anjiogenez, apoptoz, inflamasyon, glikoz metabolizması, vücut sıvı ve enerji dengesi, açlık ve yemek alımının düzenlenmesi gibi çeşitli etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Taheri vd 2002). Apelinerjik sistem kardiyovasküler patofizyoloji rol alan nörohumoral bir sistemdir. Kardiyovasküler sistemde, apelin endotel-bağımlı, nitrik oksit aracılığıyla gelişen vazodilatasyonu sağlar ve arteriyel kan basıncını azaltır. Ayrıca, apelin, güçlü ve uzun ömürlü pozitif inotropik aktivite sergiler (Chandrasekaran vd 2008).

Beyinde apelin ve APJ reseptör sistemi, vücut sıvı homeostasisi ve hipotalamustan vasopressin salınımının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (De Mota vd 2004). Anjiogenik rolü vardır. Vazopressini inhibe ederek diüretik etki gösterir (Kralisch vd 2005). APJ reseptörü, sıvı ve elektrolit dengesinin düzenlenmesinde rol alan beyin nükleuslarında bulunduğu gibi aynı zamanda vazopressin gibi mediatörler yoluyla böbrek aktivitesinin düzenlenmesinde etkili olabilir (Kleinz ve Davenport 2005).

Gastrik hücre proliferasyonu ve kolesistokinin (CCK) salınımını sağlar (Berköz vd 2008). Mide de apelin reseptörü, azalan gastrik asit sekresyonu stimüle edici enterokromaffin hücrelerinde eksprese edilir (Lambrecht vd 2001). Apelin reseptörü kolonda epitelyal gelişimi düzenleyebilir (Han vd 2007). Pankreas ve iskelet kasında apelin reseptör ekspresyonu, insülin plazma seviyeleri ve glikoz alımının düzenlenmesine bağlıdır (Sörhede Winzell vd 2005). Apelin sinyali osteoblast üretimini

(Xie vd 2007) ve T lenfositleri tarafından sitokin ekspresyonunu artırır (Habata vd 1999). Apelinerjik sistem etkileri, hipertansiyon, kalp yetersizliği, obesite, glikoz intolerans, tip 2 diyabet, HIV infeksiyonu, gastrik ülser, osteoporosis gibi patolojik şartlarda gösterilmektedir (Masri vd 2005).

2.3.6. Apelinin Kardiyak Etkileri

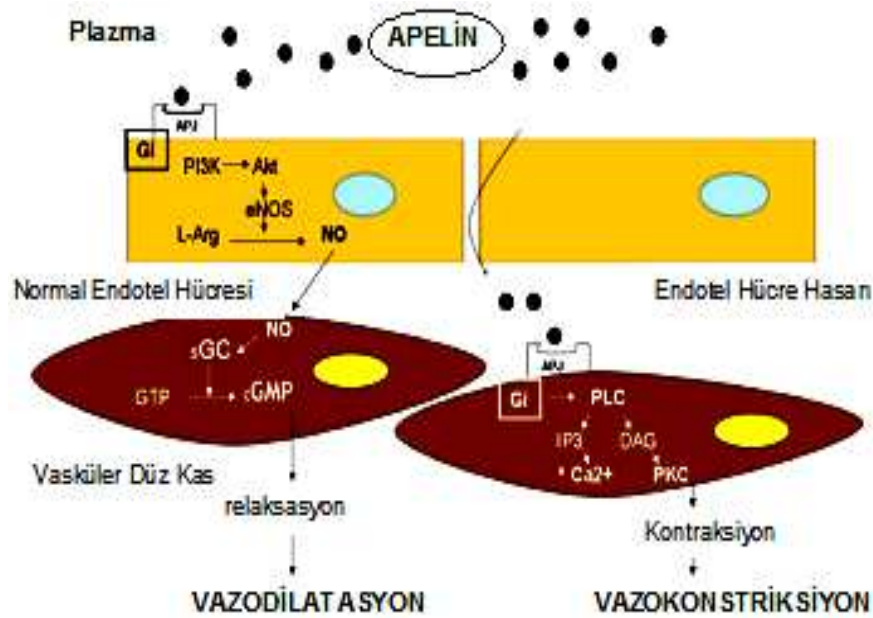
Kalpte, APJ reseptörü yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır ve kardiyomiyositlerde (Kleinz ve Skepper 2005), endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde eksprese edilir (Kleinz ve Davenport 2004). Apelin reseptörü kalbin embriyonik formasyonu sırasında eksprese edilmektedir (Scott vd 2007). Ekspresyonları yetişkinlerin kardiyomiyositlerinde de bulunmuştur. Kardiyak kontraktilitenin en güçlü stimülatörü olarak bilinmektedir ve kardiyak doku değişikliğinde önemli rol oynamaktadır (Berry vd 2004). Yaşlı knockout farelerde, apelinin, kardiyak kontraktilitenin zayıflamasına sebep olduğu gösterilmiştir (Kuba vd 2007). Apelin, kan basıncı ve kan akımı dâhil kardiyovasküler kontrolün bir mediatörü olarak görev yapmaktadır. Apelin seviyeleri kronik kalp yetersizliği olan hastaların sol ventriküllerinde, ayrıca kronik karaciğer hastalığı olan kişilerde ve obezlerde de artmaktadır (Principe vd 2008).

2.3.6.1. Apelinin Vasküler Tonus Üzerine Etkileri

Apelin, vasküler tonusun düzenlenmesinde, kardiyak kontraktıl fonksiyonu ve sıvı dengesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. *In vivo* olarak apelin venöz ve arteriyel dilatatördür. Ayrıca sıçanlar üzerine yapılan bir çalışmada intravenöz olarak enjekte edilen apelinin ortalama arteriyel basıncı azalttığı ve kalp hızını arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca apelin bu ratlarda hafif taşikardiye de sebep olmaktadır ve bunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak vagal etkinin azalması ya da sempatik aktivasyon yoluyla oluşabileceği düşünülmektedir (Cheng vd 2003).

Apelin, endotelial hücrelerden nitrik oksit gibi vazodilatatör maddeleri serbestlemesiyle endotelium bağlı vazodilatasyona sebep olmaktadır. Apelin, endotelial nitrik oksit sentazın aktivasyonu ve fosforilasyonunu sağlar. NO, siklik guanozin monofosfat (cGMP) miktarını arttırarak vasküler düz kas hücrelerinde

guanilat siklazı aktive eder ve dilatasyona neden olur. Endotel hücre fonksiyon yokluğunda, apelin direkt olarak vasküler düz kas üzerindeki APJ reseptörüne bağlanarak reseptörü aktive eder ve vazokonstriksiyona neden olur (Şekil 2.4) (Ladeiras-Lopes vd 2008).



Şekil 2.4 Apelinin Vasküler Düz Kas Üzerine Etkileri (Ladeiras-Lopes R, 2008).

Vasküler tonus üzerine apelinin etkileri, apelin ve APJ reseptör sistemi ve angiotensinogen-AT-1 arasında dinamik etkileşime bağlı olabilir. Hipertansif sıçanlarda, G protein reseptör sinyalinin düzenleyeni all trans retinoik asit (atRA), kan basıncını azaltır ve aortada APJ reseptörü-apelin ekspresyonunu artırır (Zhong vd 2005). Bu, NO sentezinde artma ve AT-1 ekspresyonunda azalmayla ilişkilidir. Apelin sıçan portal venlerinde tonusu direkt olarak etkilemez. Böylece endotelium varlığına bakılmaksızın apelin, NO bağımlı mekanizma yoluyla ANG II'ye bağlı vazokonstriktör cevabı ortadan kaldırır (Gurzu vd 2006). Hastalık durumunda, apelin ve ANG II arasındaki normal etkileşimdeki değişim vasküler hastalığa sebep olabilir. Diyabetik db/db farelerin aort dokusunda apelin ve APJ reseptörünün mRNA ve protein düzeyinde ekspresyonlarının azaldığı ve fareler apelinle tedavi edildiğinde aort dokusunda Akt ve NOS enzim fosforilasyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca apelin, NO sentezinin aktivasyonu sebebiyle diyabetik db/db farelerin aortunda ANG II'nin vazokonstriktör cevaptaki artışını azalttığı ve bozulan endotelial bağımlı vazodilatasyonu düzenlediği yapılan bu çalışmada gösterilmiştir (Grisk 2007).

Vasküler tonusun düzenlenmesinde apelinin rolü, kan basıncının santral düzenlenmesindeki etkileriyle ilişkili olabilir (Kagiyama vd 2005). Apelinin etkilerinin, vasküler yatağın yeri, parça uzunluğu ve tipine de bağlı olabileceği bildirilmektedir (Seyedabadi vd 2002).

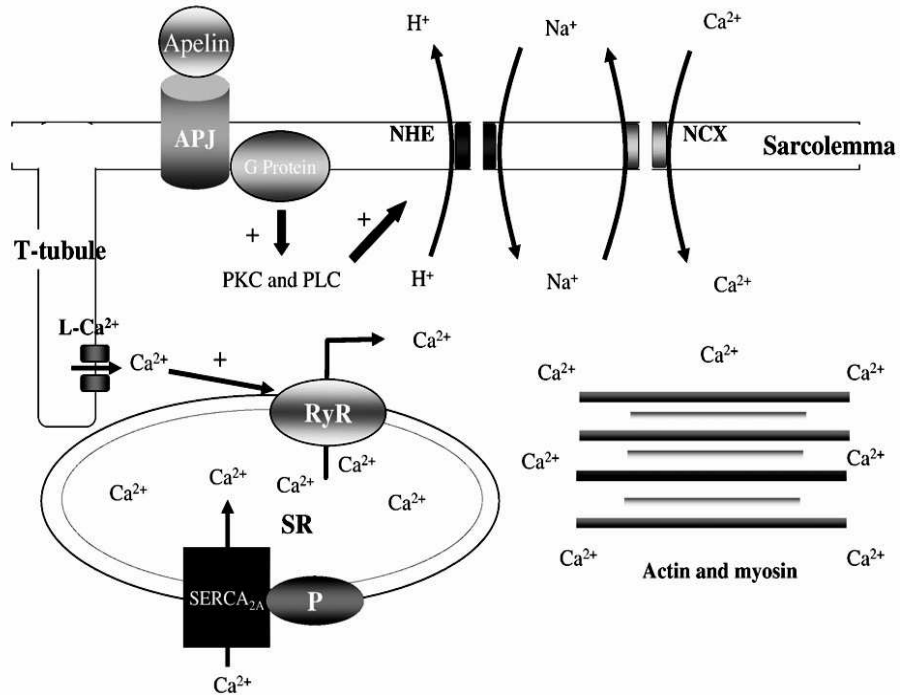
Reseptörün vasküler ekspresyonu kan basıncının kontrolünde önemlidir ve aktivasyonları yeni kan damarlarının oluşumunu sağlar (Cox vd 2006). Apelinin hipotansif etkileri, endotel hücrelerin yüzeylerinde eksprese edilen reseptörünün aktivasyonu ile sağlanır (Devic vd 1999). Bu aktivasyon, arteriyel duvarın düz kas hücrelerinin gevşemesini sağlayan güçlü bir vazodilatatör olan NO'nin serbestlenmesiyle gerçekleşir (Tatemoto vd 2001).

2.3.6.2. Apelinin Kontraktıl Etkileri

Apelin güçlü inotropik etkiye sahiptir. *In vivo* olarak apelin, sağlıklı normal farelerde ventriküler hipertrofiye neden olmaksızın kardiyak output'u arttırmaktadır (Ashley vd 2005). Kalp yetersizliğinde apelin infüzyonu kardiyak kontraktilitenin gelişimini sağlar ve kalp yetersizliğinin tedavisinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Berry vd 2004). Apelinin inotropik etkileri nitrik oksit sentazın inhibisyonu, adrenerjik sinyalin antogonizmi ya da endotelin reseptörlerinin blokajından etkilenmez ve kardiyak innervasyona da bağlı değildir. Apelinin inotropik etkileri, miyofilamentlerin kalsiyuma duyarlılığının artmasından ziyade intraselüler kalsiyum konsantrasyonunun artmasına bağlıdır. Kontraktilitedeki bu artış miyokardiyum yetersizliğinde çok etkili olabilir (Dai vd 2006).

Kalsiyum L-tipi kalsiyum kanalları (L-Ca⁺²) yoluyla hücreye girer ve ryanodin reseptörünün (RyR) aktivasyonu ile sarkoplazmik retikulumdan (SR) Ca⁺² salınımı başlar. Bu Ca⁺² serbestlenmesi kontraktıl süreçleri başlatır. Kas gevşemesi sırasında Ca⁺² geri alımı, enerji gerektiren sarkoendoplazmik retikulum Ca⁺²-adenozin trifosfataz (SERCA_{2A}) ve fosfolamban (P) yoluyla sağlanır. Apelin, serkolemma üzerinde görev alan protein kinaz C (PKC) and fosfolipaz C (PLC)'i aktive eder ve Na⁺-H⁺ değiştiricisi (NHE) yoluyla intraselüler Na⁺ konsantrasyonu artırır. Na⁺-Ca²⁺ değiştiricisi (NCX) yoluyla Na⁺ hücre dışına çıkarken kalsiyum hücre içine girer ve intraselüler Ca⁺²

konsantrasyonu artır. Bu mekanizma kardiyak kontraktilitesi için sitosolik Ca^{+2} 'da artma sağlar (Şekil 2.5) (Szokodi vd 2002).



Şekil 2.5 Kardiyak Kas Kontraktilitesinde Apelinin Etkileri (Szokodi 2002).

2.3.7. Apelin ve Tip 2 Diyabet

Apelin, insulin hormonu ve obezitenin regüle ettiği ve adipositlerden salınan bir adipokinindir. Adiposit farklılaşmasında ekspresyonu artar. Buna göre, plazma apelin seviyeleri obezitede insülin direnci ve hiperinsülinemi ile bağlantılı olarak artmaktadır (Beltowski vd 2006).

Apelin, obez ve hiperinsülinemik insan ve farelerde artan yeni bir adipokin olarak tanımlanmaktadır (Boucher vd 2005). Plazma apelin seviyeleri ve vücut kitle indeksi arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktadır (Heinonen vd 2005). Apelin farelerde insülin sekresyonunu inhibe eder ve apelinin glikoz homeostasisin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Ancak insülin sekresyonu üzerine apelinin inhibitör etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Sörhede vd 2005).

Dolaşımdaki apelin konsantrasyonu direkt olarak insülin tarafından artırılırken glukokortikoidler tarafından azaltılmaktadır (Boucher vd 2005). İnsülin apelin üretimini

stimüle etmek için direkt olarak adipositler üzerine etki eder (Sörhede vd 2005). Apelin ve insülin sekresyonu arasında güçlü bir bağlantı bulunmaktadır. İnsulinoma (INS-1) hücrelerinde glikoz stimüle eden insülin sekresyonu üzerine apelinin inhibitör etkileri bulunmaktadır ve pankreatik β hücrelerinde apelinin direkt etkileri bulunmaktadır. Apelinin konsantrasyon etkileri bifaziktir. Apelinin yüksek konsantrasyonu insülin sekresyonunda daha az etkilidir (Guo vd 2009).

Apelin, INS-1 hücrelerinden insülin sekresyonunda etkili olan glukagon-benzeri peptit-1'i (GLP-1) inhibe eder. Apelin, artmış intraselüler siklik adenozin monofosfatı (cAMP) baskılayarak insülin sekresyonunu inhibe eder (Guo vd 2009). Fosfodiesteraz 3B (PDE3B), pankreatik β hücrelerinde plasma membranında bulunmaktadır ve cAMP arttıran GLP-1 gibi faktörler tarafından etkili hale getirilen insülin sekresyonunu düzenlemektedir. PDE3B aktivitesi apelin tarafından arttırılır (Härndahl vd 2002). Apelin tarafından insülin sekresyonunun azalması PDE3B'nin fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3-kinaz) bağımlı aktivasyonu sebebiyle olduğu bilinmektedir. PDE3B ya da PI3-kinazın inhibitörleri, apelinin bu etkilerini bloke edeceği düşünülmektedir. Bu inhibitörler, apelinin sebep olduğu cAMP'deki azalmayı da önler. Apelin tarafından insülin sekresyonu ve intraselüler cAMP'nin azalması, adenilat siklazın inhibisyonundan ziyade PDE3B'ün aktivasyonu sebebiyle olduğu bilinmektedir (Guo vd 2009).

3. MATERYAL- METOD

3.1. Deneyde Kullanılan Hayvanlar:

Çalışmada Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Biriminden sağlanan 2 aylık, 180–300 gr ağılığında 80 adet, Wistar cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar çalışma süresince standart şartlar altında havalandırılmalı, sabit ısı odalarda, %50±5 nem ortamında, 12 saatlik aydınlık–karanlık siklusu bulunan laboratuvar koşullarında barındırıldı. Sıçanlar veteriner hekim kontrolü altında bakıldı ve özel hazırlanmış kafeslerde tutuldu. Tüm deney prosedürlerinde “Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu” prensiplerine titizlikle uyuldu.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması:

Sıçanlar rastgele seçilerek sekiz ayrı çalışma grubu oluşturuldu.

Grup 1: Normal kontrol sıçanlar (K), (n=10),

Grup 2: Apelin verilen kontrol sıçanlar (Kontrol+Apelin= K+A), (n=10),

Grup 3: DOCA-tuz verilerek oluşturulan hipertansif sıçanlar (HT), (n=9),

Grup 4: Apelin verilen DOCA-tuz Hipertansif sıçanlar (HT+A), (n=8),

Grup 5: Tip 2 Diyabetik sıçanlar (DM), (n=9),

Grup 6: Apelin verilen Tip 2 Diyabetik sıçanlar (DM+A), (n=8),

Grup 7: Tip 2 Diyabetik ve DOCA-tuz Hipertansif sıçanlar (HT+DM), (n=9),

Grup 8: Apelin verilen Tip 2 Diyabetik ve DOCA-tuz Hipertansif sıçanlar (HT+DM+A) (n=9)

3.3. Hipertansiyon oluşturma:

Sıçanlarda hipertansiyon, deoksikortikosteron asetat ve tuz (DOCA-tuz) hipertansiyon modeli kullanılarak oluşturuldu. Sıçanlara 25 mg/kg DOCA 0.4 ml dimethylformamide içinde çözülürerek haftada iki kez subkutan olarak dört hafta süresince verildi. Aynı zamanda içme sularına %1’lik sodyum klorür (NaCl) çözeltisi konuldu (Bhatia vd 2011). Hipertansiyon oluşturulmayacak hayvanlara içme suyu

olarak normal çeşme suyu verildi ve subkutan olarak 4 hafta boyunca 0.4 ml serum fizyolojik enjekte edildi.

3.4. Kan basıncı ölçme yöntemi:

Kan basıncı ölçümleri, sıçanların bilinci açık iken Powerlab/8SP veri kayıt cihazı kullanılarak kuyruktan indirekt kuyruk manşonu yöntemi ile yapıldı. Sıçanların kan basıncı ölçümleri DOCA uygulamaya başlamadan önce (0.gün) ve DOCA uygulamaya başladıktan sonra 14, 21, 28. günlerde 3 hafta süreyle ölçüldü. Her bir denek tek başına olarak muhafaza edici bir kutuya kondu ve sonra deneğin kuyruğuna tail-cuff cihazının cuff ve sensörü yerleştirildi. Sıçanların kuyrukları düzenli sinyal sesi ve pulse (atım) alana kadar 37 °C'de 10-20 dakika süreyle ısıtıldı. Ölçümler sessiz ve sakin laboratuvar ortamında sıçanların rahat ve sakin olduğu, düzenli sinyal sesinin alındığı anda yapıldı ve değerler bilgisayara kaydedildi. Her bir, sıçandan en az 5 ölçüm alınıp bu değerlerden en yüksek ve en düşük olanları çıkarılarak geri kalan 3 değerlerin ortalamaları alınarak kan basıncı hesaplandı.

3.5. Yağ Çözültisi Hazırlama ve Tip 2 Diyabet Oluşturma:

20 g tereyağı, 1 g thyreostat, 5 g kolesterol, 1 g sodyum glutamat, 5 g sükröz, 5 g sakkaroz, 20 ml Tween 80, 30 ml propylene glikol içeren 100 ml yağ çözültisi distile suya eklenerek hazırlandı ve kullanılacak zamana kadar +4 °C'de saklandı (Jing vd 2005).

Diyabet oluşturulacak olan hayvanlar daha önceden hazırlanmış olan ve oral olarak verilen yağ çözültisi (10 ml/kg) ile on gün boyunca beslenmeleri sağlandı. Daha sonra 11 ve 12. günlerde hayvanlara intraperitoneal (i.p.) olarak 120 mg/kg Alloxan enjekte edildi (Shu-Xiang vd 2010). Kontrol grubu ise normal besinlerle beslendi ve i.p. 1 ml % 0.9'luk serum fizyolojik enjekte edildi. On yedinci gün sonunda kan glikoz düzeyleri sıçanların kuyrukları kesilerek alınan kanda glukometrede glukostix stripleri kullanarak ölçüldü. Kan şekerleri 300 mg/dl ve üstünde olan sıçanlar tip 2 diyabetik olarak değerlendirildi ve bu kan şekeri değerine ulaşmayan sıçanlar ise deneye alınmadı.

3.6. Apelin Uygulaması:

Tip 2 diyabet, hipertansiyon ve hem diyabet hem hipertansiyon olan sıçanlara, günde bir kez $200 \mu\text{g.kg}^{-1}$ olmak üzere 17 gün boyunca proglutamat apelin13 [Pyr-AP13] peptidi i.p. olarak uygulandı (Falcao-Pires vd 2007).

3.7. Örneklerin Toplanması:

Deneyin başında ve sonrasında tüm sıçanların ağırlıkları, kan basınçları ve kan glikoz düzeyleri ölçüldü. Tüm deneysel periyodun sonunda Ketamin HCl/Xylazine HCl (75 mg/kg/10 mg/kg) anestezisi uygulanan sıçanların abdominal aortalarından alınarak etilendiamin tetra-asetik asit içeren tüplere konulan venöz kan örnekleri, $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 5,000 rpm'de 15 dakika spin edilerek plazmalarına ayrıldı. Bu plazmalar analiz edilinceye kadar $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de donduruldu. Bütün plazma örnekleri ELISA plate reader kullanarak okundu. Bu plazma örnekleri analizin yapılacağı zamana kadar $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklandı. Sıçanların kanları alındıktan hemen sonra her bir sıçanın kalp ve damar dokusu etraf bağ ve yağ dokulardan temizlenip standart bir şekilde total olarak çıkarıldı ve ağırlıkları tartıldı. Kalbin interventriküler septumu düzgün olacak şekilde kesilerek sağ ve sol ventriküle ayrıldı ve bunların ağırlıkları tartıldı. Tüm bu işlemler sonrasında kalp ve damar doku örnekleri alınarak serum fizyolojik ile yıkandı. Çıkarılan bu taze kalp ve aort doku örneklerinden aynı gün içersinde total RNA izolasyonları ve cDNA sentezleri yapıldı.

3.8. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması:

Etilendiamin tetra-asetik asit içeren tüplere konulan venöz kan örnekleri, $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 5,000 rpm'de 15 dakika spin edilerek plazmalarına ayrıldı. Bu plazmalar analiz edilinceye kadar $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de donduruldu. Bütün plazma örnekleri ELISA okuyucu kullanılarak okundu.

Apelin (Raybiotech, Cat No EIA-APC-1), Anjiotensin konverting enzim 2 (ACE2) aktivitesi (Cusabio Biotech, Cat No CSB-E14308r), insülin (SPI Bio, Cat No A05105), endotelin 1 (Cusabio Biotech, Cat No CSB-E15034r), anjiotensinojen (Cusabio Biotech,

Cat No CSB-E08565r) ve angiotensin 2 (Cusabio Biotech, Cat No CSB-E04494r) plazma düzeyleri uygun ELISA kitleri kullanılarak ölçüldü.

3.8.1. ACE2, Endotelin 1, Anjiotensinojen, Angiotensin 2 ELISA Kit Protokolü:

- ACE 2, Endotelin 1 ve Angiotensin 2 plazma düzeylerinin ölçümü için plazma örnekleri çalışılacak parametreye uygun dilüsyon solüsyonu ile 10 kat dilüe edildi. Anjiotensinojen ELISA için ise plazma örnekleri örnek dilüent kullanılarak ile 400 kat dilüe edildi. Bundan sonraki basamaklar, ACE 2, Endotelin 1, Angiotensin 2 ve Anjiotensinojen ELISA'da birbirleriyle aynıdır.
- Her bir ELISA için uygun olan standartlar hazırlandı.
- Mikropleytin ilk kuyularına hazırlanan bu standartlardan 100 µl eklendi. Diğer kuyulara ise 100 µl dilüe edilen plazma örnekleri koyuldu. Pleyt, pleyt kapatıcı ile kapatılarak 37 °C'de 2 saat boyunca inkübe edildi.
- Yıkama yapmadan her bir kuyuya 100 µl "Biotin Antikor" çalışma solüsyonu eklendi. 37 °C'de 1 saat boyunca inkübe edildi.
- Her bir kuyu, 200 µl "Yıkama Tamponu" ile 3 kez yıkandı.
- Her bir kuyuya 100 µl "HRP-avidin" çalışma solüsyonu eklendi ve 37 °C'de 1 saat boyunca inkübe edildi.
- Her bir kuyu, 200 µl "Yıkama Tamponu" ile 5 kez yıkandı.
- Her bir kuyuya 90 µl "TMB substrat" eklendi ve 37 °C'de 30 dakika karanlıkta inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası her bir kuyuya 50 µl "Stop solüsyonu" eklendi. Bu solüsyonun eklenmesiyle kuyudaki açık mavi renk sarı renge dönüştü. 15 dakika bekletildi.
- Bir mikroplate reader yardımıyla her bir kuyunun optik dansite (OD) değeri 450 nm dalga boyunda okutuldu.

3.8.2. Apelin ELISA Kit Protokolü:

- Apelin plazma düzeyi ölçümü için, plazma örnekleri kitle sağlanan "Assay Dilüent A" ile 4 kat dilüe edildi.

- Her bir kuyuya 100 µl “anti-Apelin C Terminus Antikoru” eklendi ve 1-2 devir/sn sallayarak 1.5 saat oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Her bir kuyu, 200 µl “Yıkama Tamponu” ile 5 kez yıkandı.
- Protokolde belirtilen pleyt üzerindeki kuyulara 100 µl standart, 100 µl pozitif kontrol, 100 µl plazma örnekleri eklendi. Üzeri pleyt kapatıcı ile kapatılarak 4 °C’de gece boyunca inkübe edildi.
- Her bir kuyu, 200 µl “Yıkama Tamponu” ile 4 kez yıkandı.
- Her bir kuyuya, 100 µl “HRP-Streptavidin” solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında 45 dakika inkübe edildi.
- Her bir kuyu, 200 µl “Yıkama Tamponu” ile 5 kez yıkandı.
- Her bir kuyuya, 100 µl “TMB One-step Substrat Reagent” eklendi ve karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
- Her bir kuyuya, 50 µl “Stop solüsyonu” eklendi ve 15 dakika bekletildi.
- Mikroplate reader yardımıyla her bir kuyunun optik dansite (OD) değeri 450 nm dalga boyunda okutuldu.

3.8.3. İnsülin ELISA Kit Protokolü:

- Plazma insülin düzeyi ölçümü için kitle birlikte verilen pleytte özel olarak adlandırılan belirli kuyulara özellikle protokolde belirtilen non-specific binding kuyusuna 100 µl, Max. binding kuyusuna 50 µl “EIA Buffer” eklendi.
- Standart kuyusuna, 50 µl standart eklendi.
- Kalite kontrol ve sample kuyularına, 50 µl “Kalite kontrol” ve plazma örnekleri eklendi.
- Blank kuyusu hariç her bir kuyuya 50 µl “rat insülin AChe tracer” eklendi.
- Blank kuyusu ve non-specific binding kuyusu hariç her bir kuyuya 50 µl “rat insülin antiserum” eklendi. Pleyt üzeri pleyt kapatıcı ile kapatılarak 4 °C’de 16-20 saat inkübe edildi.
- Her bir kuyu, 300 µl “Yıkama Tamponu” ile 5 kez yıkandı.
- Her bir kuyuya, 200 µl “Ellman’s reagent” ilave edildi ve alüminyum folyo ile pleyt kapatıldı. Orbital bir karıştırıcı ile karıştırıldı ve oda sıcaklığında karanlıkta gece boyunca inkübe edildi.

- Bir mikropate reader yardımıyla her bir kuyunun değeri 405 nm dalga boyunda okutuldu.

3.9. Kalp ve Damar Dokularından Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

3.9.1. Kalp ve Damar Dokularından Total RNA İzolasyonu

Çalışmaya dâhil edilen kalp ve aortr doku örneklerinden total RNA izolasyonu ticari kit (RNeasy Mini kit, Cat No 74104, Qiagen) yardımı ile yapıldı. Total RNA izolasyonu için uygulanan protokolde temel basamaklar aşağıda verilmiştir:

- 1- Doku örnekleri (her biri en fazla 30 mg) alındıktan hemen sonra, kitle birlikte sağlanan 600 µl “RLT tamponunda (β-merkaptöanol eklenmiş)” homojenizatör (rotor-stator homogenizer) yardımı ile maksimum hızda 90-120 sn lize ve homojenize edilerek, steril, RNaz-free ependorf tüplerine aktarıldı.
- 2- Homojenize edilen bu doku örneklerinin üzerine 590 µl RNaz-free su ve 10 µl proteinaz K ilave edilerek, 55°C’de 10 dk inkübe edildi.
- 3- Ependorf tüpündeki bu karışım 14.000 rpm’de 3 dk santrifüj edildi ve üsteki sıvı pipetle alınıp, yeni bir steril ependorf tüpe aktarıldı.
- 4- Bu tüpe, toplam hacim kadar %70’lik etanol ilave edildi ve mikropipet yardımı ile homojenize edildi.
- 5- Bu karışımdan 700 µl alındı ve 2 ml’lik toplama tüpüne yerleştirilmiş olan spin kolona aktarıldı ve 11.000 rpm’de 15 sn santrifüj edildikten sonra toplama tüpü değiştirildi.
- 6- Spin kolona 350 µl “Tampon RW1” ilave edildi ve 11.000 rpm’de 15 sn satrifuj edildikten sonra toplama tüpü yeniden değiştirildi.
- 7- Her bir örnek için 80 µl “DNase I karışımı” (Her bir örnek için 70 µl “RDD Tampon” ve 10 µl “DNaz I stok solüsyonu” eklenerek 80 µl Dnaz I karışımı elde edildi) tüm kolona kaplayacak şekilde spin kolona eklendi ve oda sıcaklığında 15 dk inkübe edildi.
- 8- Her bir spin kolona 350 µl “Tampon RW1” ilave edildi ve 11.000 rpm’de 15 sn satrifuj edildikten sonra, toplama tüpü değiştirildi.
- 9- Her bir spin kolona 500 µl “RPE Tamponu” ilave edildi ve 11.000 rpm’de 15 sn satrifuj edildikten sonra, toplama tüpü değiştirildi.

- 10- Her bir spin kolona 500 µl “RPE buffer” tekrar eklendi ve 11.000 rpm de 2 dk santrifuj edildi. Toplama tüpü yeniden değiştirildi.
- 11- Alternatif olarak, her spin kolon tekrar 14.000 rpm’de 1 dk santrifuj edildi. Her bir spin kolon steril, RNaz-free 1.5 ml’lik ependorf tüpüne yerleştirildi ve üzerine 50 µl RNaz-free su eklenerek, 11.000 rpm’de 1 dk santrifuj edildi.
- 12- Elde edilen total RNA örnekleri, aynı gün cDNA sentezinde kullanıldı.

3.9.2. Total RNA Konsantrasyonlarının ve Saflık Derecelerinin Belirlenmesi

Çalışma grubuna ait 72 adet kalp ve 72 adet damar doku örnekleri olmak üzere, toplam 144 adet dokudan izole edilen total RNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflıkları, spektrofotometrik yöntemle (Biophotometer, Eppendorf) belirlendi. Ölçümler sırasında disposable spektrofotometre küvetleri (Eppendorf) kullanıldı.

Konsantrasyon ölçümü yapılmadan önce, 0.5 ml’lik mikrosantrifüj tüplerinde total RNA örneklerinin 1/50 oranında sulandırmaları hazırlandı. Daha sonra, 1/50 oranında sulandırılan RNA örnekleri, disposable spektrofotometre küvetlerine aktarıldı ve spektrofotometrenin ssRNA programında konsantrasyon ve saflık dereceleri belirlendi. Tüm örneklerin “Konsantrasyon, A260, A280, A260/280 oranı” değerleri kaydedildi ve her bir örneğin “stok konsantrasyonları” hesaplandı.

3.9.3. Total RNA Örneklerinden cDNA Sentezi

İzole edilen total RNA örneklerinden cDNA sentezi, ticari kit (QuantiTect Reverse Transcription Kit, Qiagen) yardımı ile yapıldı. cDNA sentezi için uygulanan protokolda temel basamaklar aşağıda verildi:

1. Genomik DNA’nın eliminasyonu amacıyla, her örnek için aşağıdaki reaksiyon karışımı hazırlandı:

Komponent	Miktar
gDNA wipeout tamponu	2 µl
Template RNA	1 µg (her örnek için 3.9.2.'de belirtildiği şekilde stok konsantrasyonu hesaplandı)
RNase-free su	x µl (her örnek için hesaplandı)
Toplam hacim	14 µl

2. Hazırlanan reaksiyon karışımı 42 °C'de 2 dk inkübe edildi.
3. Reverse transkripsiyon amacıyla, her örnek için aşağıdaki reaksiyon karışımı hazırlandı:

Komponent	Miktar
Reverse transkriptaz (RT)	1 µl
RT tamponu	4 µl
RT primer karışımı	1 µl
Template RNA	14 µl (bir önceki basamaktan elde edilen)
Toplam hacim	20 µl

4. Hazırlanan reaksiyon karışımı 42 °C'de 15 dk inkübe edildi.
5. Reverse transkriptazı inaktive etmek için, örnekler 95 °C'de 3 dk inkübe edildi.
6. Bu aşamaların sonunda 20 µl miktarında cDNA elde edildi.
7. Örnekler, gerçek-zamanlı PCR ile analiz edilmek üzere -20 °C'de saklandı.

3.9.4. Gerçek-zamanlı Kantitatif PCR

APJ (hedef gen), *apelin* (hedef gen) ve *β-aktin* (referans gen) için relatif kantitasyon analizi, gerçek-zamanlı PCR sistemi (LightCycler 480 Gerçek-zamanlı PCR Sistemi, Roche Diagnostics) kullanılarak yapıldı. Hedef genlerin mRNA düzeyinde ekspresyon analizi için kullanılan primer setlerinin dizaynı yapıldı ve sentezletildi. Hedef genlerin mRNA düzeyinde ekspresyon analizi için kullanılan problemlerinin dizilimleri, “Universal Probe Library (UPL)”den (Roche) seçildi. Referans gen için, hem özgün probu hem de primer setini içeren “Mouse β-aktin Single Assay” (Assay ID: 500152, Roche)

kullanıldı. Gerçek-zamanlı kantitatif PCR analizinde kullanılan hedef ve referans genlere özgün prob numaraları ve primer setlerinin dizilimleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1 *APJ*, *apelin* ve β -*aktin* mRNA ekspresyon analizinde kullanılan özgün problemlerinin ve primer setlerinin dizilimleri (5’ →3’)

APJ	
Primer seti	5’- CACCAAGACCCAGTGCTACAT -3’ (Forward) 5’- AGGCCCACTCTGAGTTTGAA -3’ (Reverse)
UPL numarası	Probe no: #49 (04 688 104 001)
Apelin	
Primer seti	5’- CTATGTTGACTGGGCCCTTG -3’(Forward) 5’-CCACTCTCCTTCCTTTCTTCG -3’ (Reverse)
UPL numarası	Probe no: #58 (04 688 554 001)
β-aktin	
Single assay	ID: 500 152 (Cat. REF. 05 532 957 001)

APJ ve *apelinin* mRNA düzeyinde ekspresyonlarını kantite etmek için, her iki hedef gen için de optimize edilen gerçek-zamanlı PCR karışımı ve protokolü uygulandı (Tablo 3.2 ve 3.3). Her bir hedef gene ait PCR protokolü aynı zamanda referans gen için de uygulandı. Şekil 1’de çalışmada kullanılan örneklere özgün, bir pleyt örneği verilmiştir.

Tablo 3.2 *APJ*, *apelin* ve β -*aktin* genlerinin mRNA düzeyinde kantitasyonu amacı ile hazırlanan reaksiyon karışımı

APJ ve Apelin			
	İçerik	Hacim	Final konsantrasyon
	Forward primer	0.5 μ l	0.5 μ M
	Reverse primer	0.5 μ l	0.5 μ M
	UPL probu	0.2 μ l	0.2 μ M
	Master karışımı*	10 μ l	2x
	PCR-grade su	4.8 μ l	-
	cDNA örneği	4 μ l	-
β-Aktin			
	Single assay	1 μ l	-
	Master karışımı*	10 μ l	2x
	PCR-grade su	5 μ l	-
	cDNA örneği	4 μ l	-

*: Master karışımı olarak, “LightCycler 480 Probes Master” kiti kullanıldı.

Tablo 3.3 *APJ*, *apelin* ve *β -aktin* geninin mRNA düzeyinde kantitasyonu amacı ile uygulanan gerçek-zamanlı PCR protokolü*

Analiz Modu	Döngü	Segment	Isı	Süre	Isı artışı	Kazanım Modu
Pre-inkübasyon						
	1		95°C	10 dk	4.4	-
Amplifikasyon						
	45	Denatürasyon	95°C	10 sn	4.4	-
		Annealing	60°C	30 sn	2.2	-
		Ekstensiyon	72°C	1 sn	4.4	Tek okuma
Soğutma						
	1		40°C	30 sn	2.2	-

*: Gerçek-zamanlı PCR Protokolü; **Pre-inkübasyon**: Enzim aktivasyonu ve kalıp cDNA'nın denatürasyonu, **Amplifikasyon**: Hedef bölgenin primerler yardımı ile çoğaltılması ve özgün problemler yardımı ile ürünün belirlenmesi, **Soğutma**: Sistemde yer alan rotorun soğutulması basamaklarını içermektedir.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	KK1 1	KK2 2	KK3 3	KK4 4	KK1 5	KK2 6	KK3 7	KK4 8	KK1 9	KK2 10	KK3 11	KK4 12
B	KK5 13	KK6 14	KK7 15	KK8 16	KK5 17	KK6 18	KK7 19	KK8 20	KK5 21	KK6 22	KK7 23	KK8 24
C	KK9 25	KD1 26	KD2 27	KD3 28	KK9 29	KD1 30	KD2 31	KD3 32	KK9 33	KD1 34	KD2 35	KD3 36
D	KD4 37	KD5 38	KD6 39	KD7 40	KD4 41	KD5 42	KD6 43	KD7 44	KD4 45	KD5 46	KD6 47	KD7 48
E	KD8 49	KD9 50	HK1 51	HK2 52	KD8 53	KD9 54	HK1 55	HK2 56	KD8 57	KD9 58	HK1 59	HK2 60
F	HK3 61	HK4 62	HK5 63	HK6 64	HK3 65	HK4 66	HK5 67	HK6 68	HK3 69	HK4 70	HK5 71	HK6 72
G	HK7 73	HK8 74	HK9 75	HD1 76	HK7 77	HK8 78	HK9 79	HD1 80	HK7 81	HK8 82	HK9 83	HD1 84
H	HD2 85	HD3 86	HD4 87	NTC 88	HD2 89	HD3 90	HD4 91	NTC 92	HD2 93	HD3 94	HD4 95	NTC 96

Şekil 3.1 Hedef genlerin mRNA ekspresyonlarının kantitatif analizlerinde kullanılan bir pleyt örneği (**Kırmızı**: 31 adet doku örneğine ait *APJ* hedef geni için reaksiyon karışımı, **Eflatun**: 31 adet doku örneğine ait *Apelin* hedef geni için reaksiyon karışımı, **Yeşil**: 31 adet doku örneğine ait *β -aktin* referans geni için reaksiyon karışımı; KK: Kontrol grubu kalp doku örneği, KD: Kontrol grubu damar doku örneği, HK: Hipertansiyon grubu kalp doku örneği, HD: Hipertansiyon grubu damar doku örneği, NTC: Negatif template kontrol (cDNA örneği yerine PCR-grade su kullanılmıştır).

Optimize edilen protokollerle örneklerin gerçek-zamanlı PCR aşamaları tamamlandı ve “relatif kantitatif” olarak örneklerin ekspresyon düzeyleri belirlendi. Bu amaçla, her bir örneğin hedef gene ait mRNA ekspresyon düzeyi, aynı örneğin referans gen olan β -*aktin* (aynı zamanda, relatif kantitasyonda eksternal standart) ekspresyon düzeyi gerçek-zamanlı PCR sisteminde varolan yazılım programı (LightCycler Relatif Kantitasyon Yazılım Programı) kullanılarak hesaplandı ve relatif olarak kantite edildi. Eksternal standart, aynı zamanda gerçek-zamanlı PCR ile kantitasyon sırasında hedef ve referans cDNA miktarları arasındaki farklılığı, örnek yüklemdeki varyasyonları ve PCR inhibitörlerinin etkisini dengelemede yardımcı olması amacı ile de seçildi.

3.10. İstatiksel Analiz:

İstatiksel değerlendirmeler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 10.0 paket programı kullanarak yapılmıştır. Bütün değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. İki den fazla gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi ile, ikili grupların karşılaştırılması ise Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır, $p < 0,05$ 'den küçük değerler istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Bunun yanında gruplar arasında korelasyon olup olmadığını anlamak için Pearson korelasyon testi yapılmıştır.

4. BULGULAR

Hipertansiyon, Tip 2 diyabet ve Hipertansiyon+Tip 2 diyabetli sıçanlarda apelinin etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, grupların % vücut ağırlıkları (%VA), kan basınçları (KB), total kalp ağırlığı/son vücut ağırlığı (TKA/SVA), sol ventrikül ağırlığı/son vücut ağırlığı (LVA/SVA) düzeyleri arasındaki farklılıklar karşılaştırıldı. K, K+A, HT ve HT+A gruplarına ait sonuçlar Tablo 4.1’de, DM ve DM+A gruplarının sonuçları Tablo 4.2’de, HT+DM ve HT+DM+A gruplarının sonuçları ise Tablo 4.3’de verildi.

Kontrol, K+A, HT ve HT+A gruplarının % vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p=0.033$) (Tablo 4.1). Ayrıca ikili karşılaştırmalarda, K grubunda K+A grubuna göre % vücut ağırlıklarında anlamlı bir değişim gözlenmezken, HT+A grubunda K grubuna göre % vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı düşüş görüldü ($p=0.009$). HT+A grubunu K+A grubuyla karşılaştırıldığında HT+A grubunda % vücut ağırlığındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.027$). HT ile HT+A grupları % vücut ağırlığı açısından karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.046$) (Tablo 4.1).

Kontrol, K+A, HT ve HT+A grupları, TKA/SVA, LVA/SVA bakımından birbirleriyle karşılaştırıldığında, gruplar arasında sadece TKA/SVA düzeyi açısından anlamlı fark bulundu ($p=0.000$). TKA/SVA düzeyleri bakımından gruplar ikili olarak karşılaştırıldığında, K+A, HT ve HT+A gruplarında K grubuna göre TKA/SVA düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu, bu anlamlılıklar sırasıyla ($p=0.000$, $p=0.000$ ve $p=0.016$) şeklindedir. Bunun yanında K+A grubuna göre, HT ve HT+A gruplarının TKA/SVA düzeylerinin anlamlı olarak düşük olduğu görüldü (sırasıyla $p=0.043$ ve $p=0.004$) (Tablo 4.1). Aynı şekilde K ile karşılaştırılan K+A, HT ve HT+A grupları arasında LVA/SVA oranları açısından anlamlılık görülmezken, HT+A grubunda, LVA/SVA değerinin, HT grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu gözlemlendi ($p=0.01$).

Yaptığımız çalışmada, deneye başlamadan önce tüm gruplardaki hayvanların kan basınçlarını ölçtük ve aralarında anlamlı bir fark gözlemedik. Deneyin sonunda kontrol, K+A, HT ve HT+A gruplarının kan basınçları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

olduğu gözlemlendi ($p=0.000$). İkili karşılaştırmalarda, K ve K+A gruplarına göre, HT ve HT+A gruplarının kan basıncı değerlerinin daha yüksek olduğu görüldü ($p=0.000$). Bunun yanında K+A grubunun kan basıncında, K grubuna göre anlamlı düşüş olduğu gözlemlendi ($p=0.043$). Aynı şekilde apelin verilen hipertansiyon grubunda kan basıncının, HT grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı ($p=0.000$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Kontrol, Kontrol+Apelin, Hipertansiyon ve Hipertansiyon+Apelin gruplarında kan basıncı, % vücut ağırlığı ve kalp ağırlıkları ile ilgili parametrelerinin karşılaştırılması

Gruplar	K (n=10)	K+A (n=10)	HT (n=9)	HT+A (n=8)	P
% VA	28.8 ± 4.60 ^a	27.2 ± 6.47 ^b	26.2 ± 4.93 ^c	19.1 ± 6.85 ^{abc}	0.033
TKA/SVA (mg/g)	2.70 ± 0.16 ^{ab}	3.41 ± 0.63 ^{ab}	3.06 ± 0.15 ^a	2.91 ± 0.15 ^b	0.000
LVA/SVA (mg/g)	2.15 ± 2.65	1.28 ± 0.29	1.53 ± 0.23 ^a	1.25 ± 0.14 ^a	0.103
KB (mm-Hg)	122.4 ± 4.45 ^a	115.9 ± 6.84 ^a	176.3 ± 2.31 ^a	148.4 ± 1.97 ^a	0.000

p: Gruplar arasındaki anlamlılığı ifade eder (Kruskal Wallis).

^{a,b,c}; Aynı satırda, aynı harfi taşıyanlar arasındaki istatistiksel fark $p<0.05$ düzeyinde anlamlıdır (Mann Whitney U test).

TKA/SVA: Total Kalp Ağırlığı/Son Vücut Ağırlığı, LVA/SVA: Sol Vetrükül Ağırlığı/Son Vücut Ağırlığı

Kontrol, K+A, DM, DM+A grupları arasında % vücut ağırlıkları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p=0.000$) (Tablo 4.2). İkili karşılaştırmalarda K grubuna göre, DM ve DM+A gruplarının % vücut ağırlığında anlamlı bir düşme bulundu (sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.001$). Aynı şekilde DM ve DM+A gruplarının K+A grubuna göre % vücut ağırlığındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi (sırasıyla $p=0.001$ ve $p=0.003$) (Tablo 4.2).

Kontrol, K+A, DM ve DM+A grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında, TKA/SVA, LVA/SVA düzeyleri aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ($p=0.003$ ve $p=0.002$). İkili karşılaştırmalarda kontrol grubu ile DM grubu arasında, TKA/SVA düzeyleri bakımından anlamlı bir fark yokken, DM grubunda LVA/SVA düzeyinde, K grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p=0.001$) DM+A grubunda, K grubuna göre TKA/SVA düzeyi, anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.000$) (Tablo 4.2).

Kontrol grupları ve Tip 2 diyabet gruplarının karşılaştırılmasında kan basınçları açısından aralarında anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi ($p=0.026$). Ayrıca K grubu ile DM ve DM+A gruplar arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda kan basıncı düzeylerinde herhangi bir değişme gözlemlenmedi. Ancak K+A ile DM grupları arasında karşılaştırıldığında DM grubunun K+A grubuna göre kan basıncında anlamlı bir artış görüldü ($p=0.008$). Aynı şekilde DM grubuna göre DM+A grubunun kan basıncına istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ($p=0.011$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 Kontrol, Kontrol+Apelin, Tip 2 Diyabet, Tip 2 Diyabet+Apelin gruplarında kan basıncı, % vücut ağırlığı ve kalp ağırlıkları ile ilgili parametrelerinin karşılaştırılması

Gruplar	K (n=10)	K+A (n=10)	DM (n=9)	DM+A (n=8)	P
% VA	28.8 ± 4.60 ^{ab}	27.2 ± 6.47 ^{cd}	15.1 ± 5.61 ^{ac}	11.9 ± 10.14 ^{bd}	0.000
TKA/SVA (mg/g)	2.70 ± 0.16 ^{ab}	3.41 ± 0.63 ^a	2.90 ± 1.17	3.36 ± 0.33 ^b	0.003
LVA/SVA (mg/g)	2.15 ± 2.65 ^a	1.28 ± 0.29	1.01 ± 0.16 ^{ab}	1.49 ± 0.21 ^b	0.002
KB (mm-Hg)	122.4±4.45 ^a	115.9± 6.84 ^{ab}	123.4 ± 1.80 ^{bc}	119.3 ± 5.29 ^c	0.000

p: Gruplar arasındaki anlamlılığı ifade eder (Kruskal Wallis).

^{a,b,c,d}; Aynı satırda, aynı harfi taşıyanlar arasındaki istatistiksel fark $p<0.05$ düzeyinde anlamlıdır (Mann Whitney U test).

TKA/SVA: Total Kalp Ağırlığı/Son Vücut Ağırlığı, LVA/SVA: Sol Ventrkül Ağırlığı/Son Vücut Ağırlığı

Yaptığımız bu çalışmada, K, K+A, HT+DM ve HT+DM+A gruplarını % vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık gözlemlendi ($p=0.001$) (Tablo 4.3). İkili karşılaştırmalarda HT+DM ve HT+DM+A gruplarında K grubuna göre % vücut ağırlıklarında anlamlı bir azalma gözlemlendi (sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.035$). Aynı şekilde HT+DM grubunda K+A grubuna göre % vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ($p=0.000$) (Tablo 4.3).

Kontrol, K+A, HT+DM ve HT+DM+A grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında, TKA/SVA, LVA/SVA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu (sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.000$) HT+DM grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, LVA/SVA düzeylerinde anlamlı bir azalma görüldü ($p=0.000$).

HT+DM grubu, K+A grubu ile karşılaştırıldığında ise, TKA/SVA düzeylerinde ve LVA/SVA düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlemlendi (sırasıyla $p= 0.000$ ve $p= 0.001$) (Tablo 4.3).

HT+DM+A grubu, K grubu ile karşılaştırıldığında; TKA/SVA düzeylerinde ($p= 0.002$) anlamlı bir artış bulunurken, LVA/SVA düzeylerinde ise ($p= 0.001$) anlamlı bir azalma görüldü. HT+DM+A grubu, K+A grubu ile karşılaştırıldığında ise, LVA/SVA düzeylerinde ($p= 0.028$) anlamlı bir azalma saptandı. Aynı şekilde, HT+DM+A grubu, HT+DM grubu ile karşılaştırıldığında ise; TKA/SVA düzeylerinde ($p= 0.003$) anlamlı bir artış gözlemlendi (Tablo 4.3).

Diğer gruplarda olduğu gibi, K, K+A, HT+DM, HT+DM+A grupları karşılaştırıldığında kan basıncı değerlerinde anlamlı bir değişim görüldü ($p= 0.000$) Burada K ve K+A grupları ile, sırasıyla HT+DM ve HT+DM+A gruplarının kan basıncı değerleri karşılaştırıldığında, HT+DM ve HT+DM+A gruplarının diğerlerine göre kan basıncı değerlerinin daha yüksek olduğu görüldü ($p=0.000$). Ayrıca HT+DM+A grubundaki kan basıncı değeri, HT+DM grubuna göre belirgin şekilde daha düşüktü ($p=0.000$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Kontrol, Kontrol+Apelin, Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet, Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin gruplarında kan basıncı, % vücut ağırlığı ve kalp ağırlıkları ile ilgili parametrelerinin karşılaştırılması

Gruplar	K (n=10)	K+A (n=10)	HT+DM (n=9)	HT+DM+A (n=9)	p
% VA	28.8 ± 4.60 ^{ab}	27.2 ± 6.47 ^c	11.8 ± 5.33 ^{ac}	18.7 ± 12.06 ^b	0.001
TKA/SVA (mg/g)	2.70 ± 0.16 ^{ab}	3.41 ± 0.63 ^{ac}	2.72 ± 0.18 ^{cd}	3.32 ± 0.34 ^{bd}	0.000
LVA/SVA (mg/g)	2.15 ± 2.65 ^{ab}	1.28 ± 0.29 ^{cd}	0.79 ± 0.11 ^{ac}	0.94 ± 0.36 ^{bd}	0.000
KB (mm-Hg)	122.4±4.45 ^a	115.9± 6.84 ^a	174.8 ± 2.54 ^a	146.1 ± 2.57 ^a	0.000

p: Gruplar arasındaki anlamlılığı ifade eder (Kruskal Wallis).

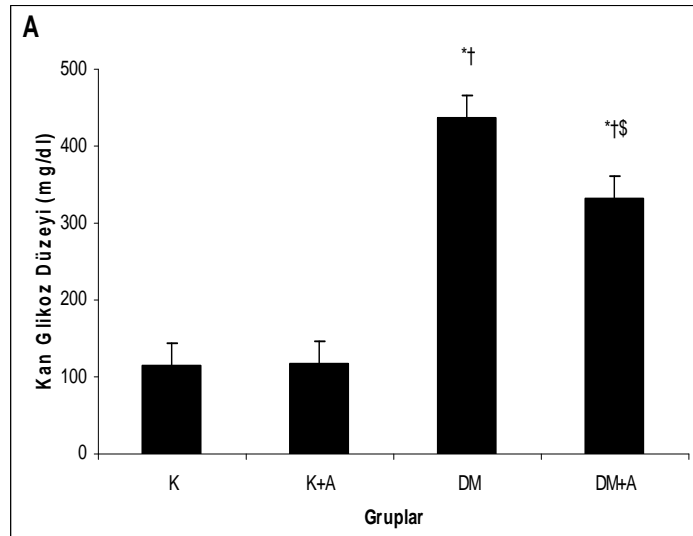
^{a,b,c,d}; Aynı satırda, aynı harfi taşıyanlar arasındaki istatistiksel olarak anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde anlamlıdır (Mann Whitney U test).

TKA/SVA: Total Kalp Ağırlığı/Son Vücut Ağırlığı, LVA/SVA: Sol Ventrikül Ağırlığı/Son Vücut Ağırlığı

4.1. Kan Glikoz Düzeyleri

Çalışmamızda, K (114.1 ± 22.03 mg/dl), K+A (117.3 ± 7.04 mg/dl), HT (119.4 ± 14.4 mg/dl) ve HT+A (124.0 ± 12.23 mg/dl) grupları arasında kan glikoz düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmezken ($p=0.635$) kontrol ve K+A grupları ile diğer gruplar arasında kan şeker düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi (Şekil 4.1A, Şekil 4.1B).

Kontrol, K+A, DM ve DM+A grupları karşılaştırıldığında, kan şeker düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p=0.000$). Şekil 4.1A'da görüldüğü gibi DM (436.7 ± 101.35 mg/dl), DM+A (332.0 ± 37.8 mg/dl) grupların kan şeker seviyelerinde K, K+A gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı. Yine DM ile DM+A grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise DM+A grubunun kan şeker seviyesinin DM grubuna göre istatistiksel olarak azaldığı gözlemlendi ($p=0.05$) (Şekil 4.1A).



Şekil 4.1A Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında kan glikoz düzeyleri

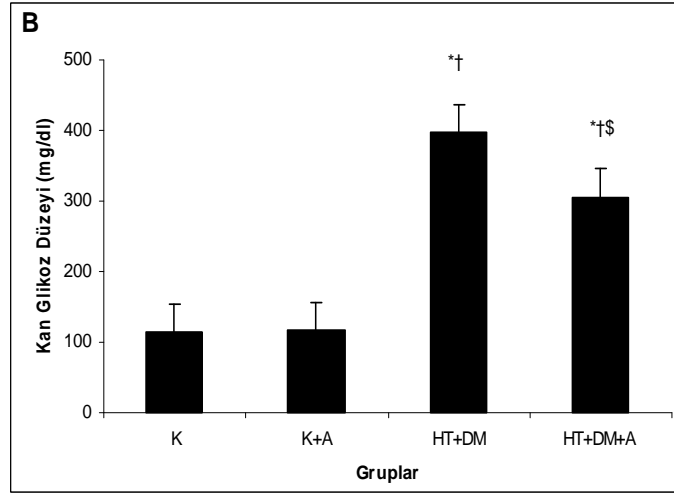
*; K grubu ile diğer gruplar arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

†; K+A grubu ile diğer gruplar arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

\$; DM ile DM+A grubu arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

Kontrol, K+A, HT+DM ve HT+DM+A grupları karşılaştırıldığında, kan şeker düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p=0.000$). Şekil 4.1B'de görüldüğü gibi HT+DM (396.5 ± 48.73 mg/dl), HT+DM+A (306.0 ± 103.25 mg/dl) grupların kan şeker seviyelerinde K, K+A gruplarına göre istatistiksel olarak

anlamli artış saptandı. Yine HT+DM ile HT+DM+A grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise HT+DM+A grubunun kan şeker seviyesinin HT+DM grubuna göre istatistiksel olarak azaldığı gözlemlendi ($p=0.040$) (Şekil 4.1B).



Şekil 4.1B Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında kan glikoz düzeyleri

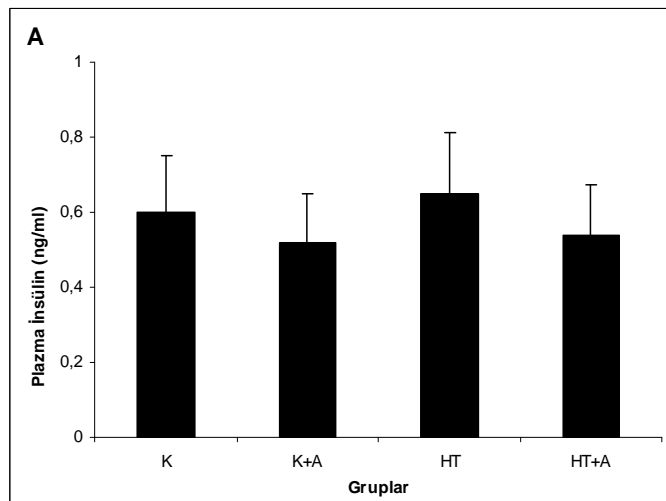
*; K grubu ile diğer gruplar arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

†; K+A grubu ile diğer gruplar arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

§; HT+DM ile HT+DM+A grubu arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

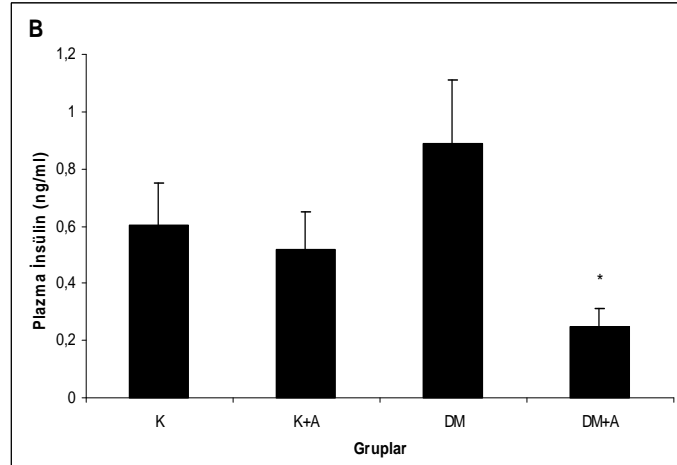
4.2. Plazma İnsülin Konsantrasyonu

Plazma insülin düzeylerinin K (0.60 ± 0.36), K+A (0.52 ± 0.40), HT (0.65 ± 0.32) ve HT+A grupları (0.54 ± 0.21) arasındaki karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p=0.691$). Ayrıca ikili karşılaştırmalarda da gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4.2A)



Şekil 4.2A Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A) gruplarında; plazma insülin konsantrasyonu

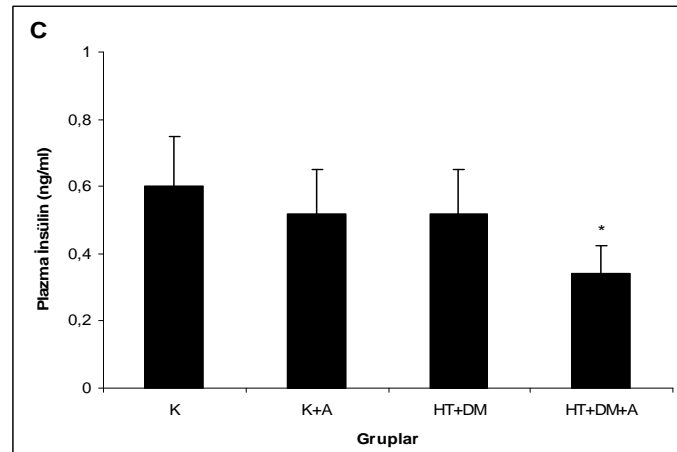
K, K+A, DM (0.89 ± 0.49) ve DM+A (0.25 ± 0.13) gruplarının plazma insülin düzeyinin karşılaştırılmasında gruplar arasında anlamlı bir değişme saptandı ($p= 0.036$). İkili karşılaştırmalarda, K+A grubunda K grubuna göre insülin düzeyinde düşüklüğün ve DM grubunda K grubuna göre insülin seviyesindeki yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi. DM+A grubunda ise DM grubuna göre insülin düzeyinde anlamlı bir şekilde azalma saptandı ($p=0.015$) (Şekil 4.2B).



Şekil 4.2B Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında; plazma insülin konsantrasyonu

*; DM ile DM+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

Kontrol, K+A, HT+DM (0.52 ± 0.15) ve HT+DM+A (0.34 ± 0.33) gruplarının çoklu karşılaştırılmasında plazma insülin düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlemlenmedi. İkili karşılaştırmalarda sadece HT+DM+A ile HT+DM grubu arasında plazma insülin seviyeleri bakımından anlamlı fark tespit edildi ($p=0.021$) (Şekil 4.2C).

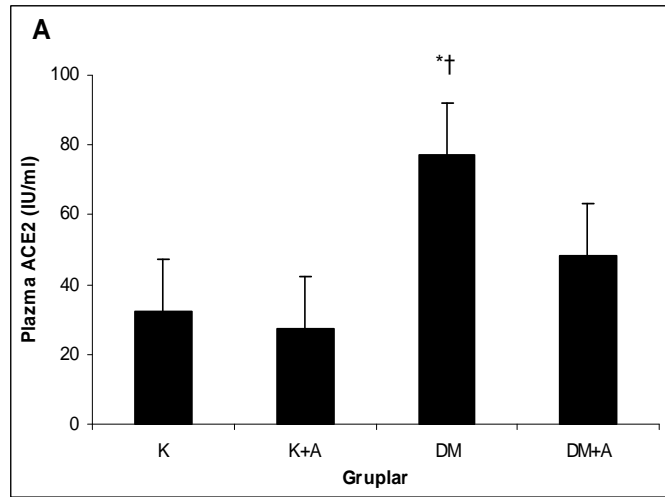


Şekil 4.2C Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma insülin konsantrasyonu

*; HT+DM ile HT+DM+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

4.3. Plazma ACE2 Konsantrasyonu

Çalışmamızda grupların plazma ACE2 konsantrasyonları karşılaştırıldığında K (32.1 ± 30.10), K+A (27.1 ± 13.06), HT (28.5 ± 11.60) ve HT+A (24.3 ± 13.48) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0.967$). Ayrıca ikili karşılaştırmalarda da bu gruplar arasında herhangi bir anlamlı değişme saptanmadı. Kontrol, K+A, DM (77.2 ± 40.07) ve DM+A (48.3 ± 33.21) grupları karşılaştırıldığında, plazma ACE2 konsantrasyonları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p=0.015$). K ve K+A grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında; DM grubunun plazma ACE2 konsantrasyonunda (sırasıyla $p= 0.027$ ve $p= 0.001$) istatistiksel olarak anlamlı artış vardır (Şekil 4.3A).

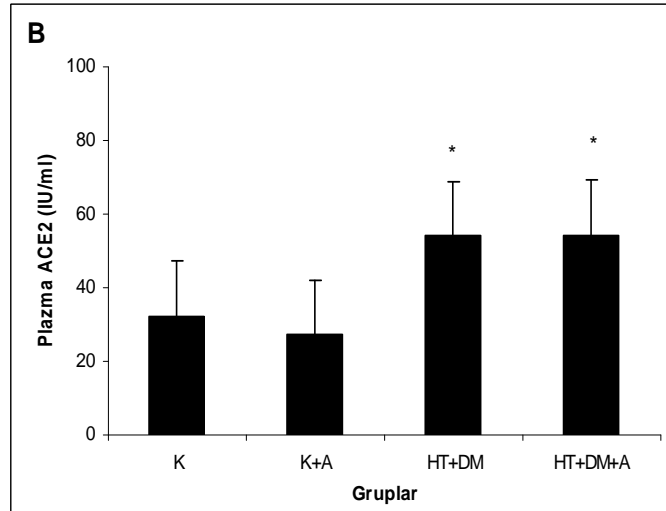


Şekil 4.3A Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında; plazma ACE2 konsantrasyonu

*; K ile DM grubu arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

†; K+A ile DM grubu arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

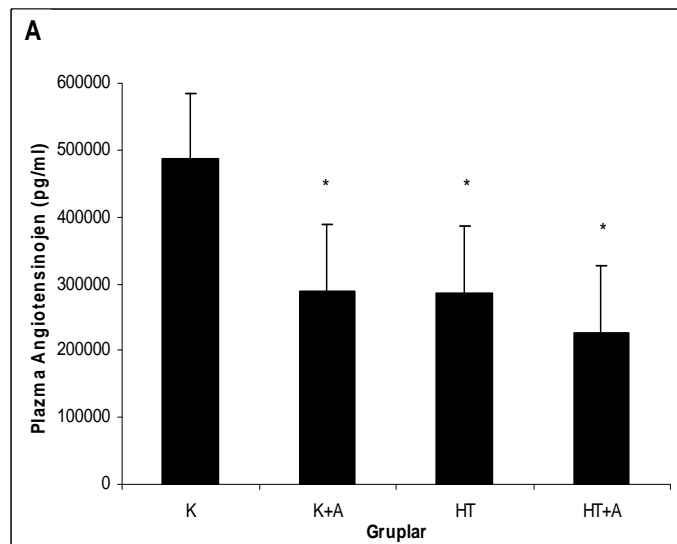
Kontrol, K+A, HT+DM (53.9 ± 25.03) ve HT+DM+A (54.2 ± 18.53) grupları karşılaştırıldığında, plazma ACE2 konsantrasyonları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p=0.036$). Aynı şekilde HT+DM grubunda K+A grubuna göre ve HT+DM+A grubunda K+A grubuna göre ACE2 konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görüldü (sırasıyla $p=0.015$ ve $p=0.014$) (Şekil 4.3B).



Şekil 4.3B Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma ACE2 konsantrasyonu *; K+A ile HT+DM ve HT+DM+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p < 0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

4.4. Plazma Angiotensinojen Konsantrasyonu

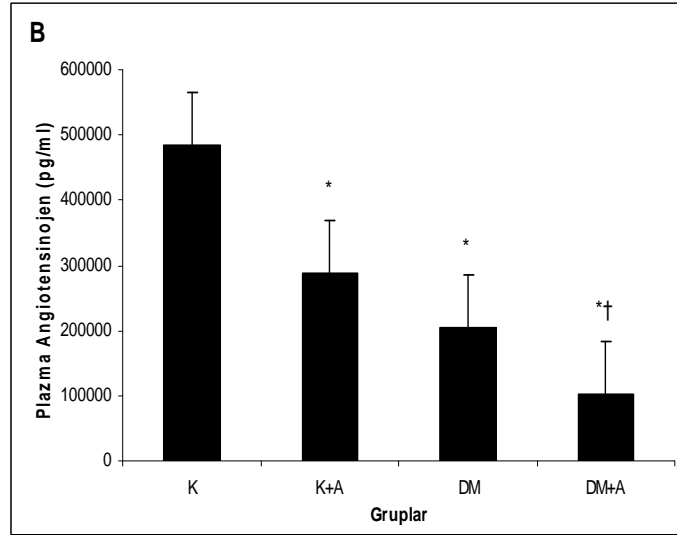
Kontrol (485435.5 ± 181880.8), K+A (287831.2 ± 91904.1), HT (383642.6 ± 123084.8) ve HT+A (167806.0 ± 135375.7) grupları arasında plazma angiotensinojen düzeyi açısından anlamlı fark gözlemlendi ($p=0.001$). Ayrıca ikili karşılaştırmalarda, K grubuna göre K+A, HT ve HT+A gruplarında plazma angiotensinojen seviyelerinin anlamlı olarak düştüğü görüldü (sırasıyla $p=0.008$, $p=0.003$ ve $p=0.000$) (Şekil 4.4A).



Şekil 4.4A Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A) gruplarında; plazma angiotensinojen konsantrasyonu

*; K ile diğer gruplar arasındaki anlamlılığı ($p < 0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

Kontrol, K+A, DM ve DM+A grupların plazma angiotensinojen düzeyleri arasında anlamlı farklılıklar belirlendi ($p=0.001$). DM grubunda K+A grubuna göre plazma angiotensinojen konsantrasyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken, K grubuna göre ise plazma angiotensinojen konsantrasyon düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p=0.001$). DM+A grubunda ise K ve K+A grubuna göre plazma angiotensinojen konsantrasyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı (sırasıyla $p=0.003$ ve $p=0.01$) (Şekil 4.4B).

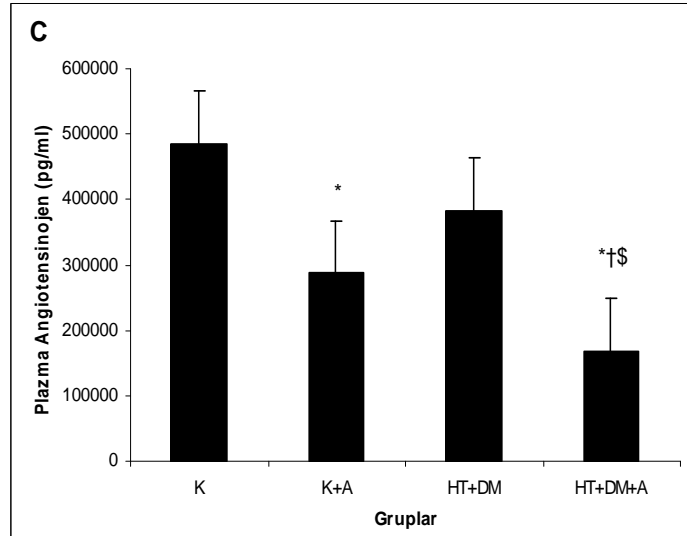


Şekil 4.4B Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında; plazma angiotensinojen konsantrasyonu

*; K ile diğer gruplar arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

†; K+A ile DM+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

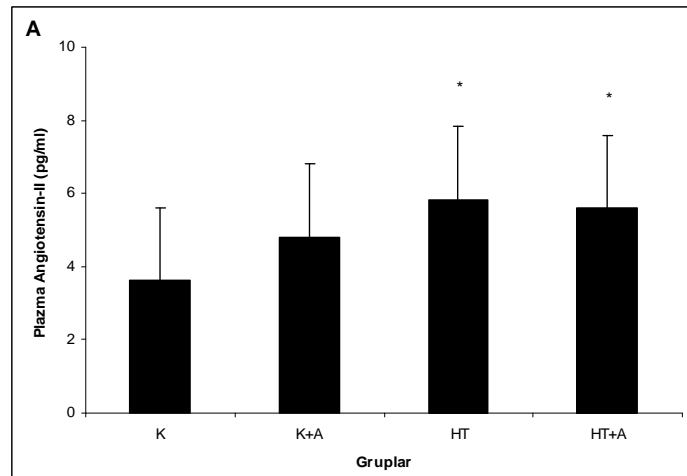
Kontrol, K+A, HT+DM ve HT+DM+A gruplarının plazma angiotensinojen düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu görüldü ($p=0.001$). İkili karşılaştırmalarda HT+DM+A grubunda K, K+A ve HT+DM gruplarına göre plazma angiotensinojen konsantrasyonunun daha düşük olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p=0.001$, $p=0.05$ ve $p=0.008$) (Şekil 4.4C).



Şekil 4.4C Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma angiotensinojen konsantrasyonu
 *; K ile K+A ve HT+DM+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).
 †; K+A ile HT+DM+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).
 §; HT+DM ile HT+DM+A grubu arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

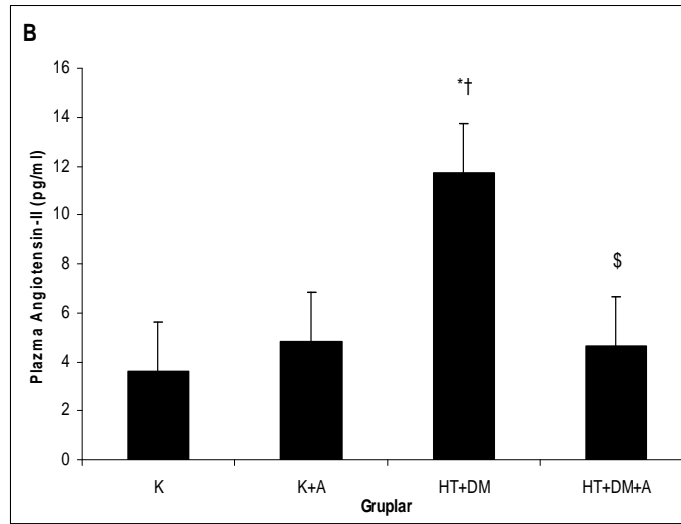
4.5. Plazma Angiotensin-II Konsantrasyonu

Kontrol (3.62 ± 2.03), K+A (4.81 ± 3.29), HT (5.84 ± 1.86) ve HT+A (5.60 ± 2.19) gruplarının plazma angiotensin-II seviyeleri arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0.147$). Ancak ikili karşılaştırmalarda HT ve HT+A grubunda K grubuna göre plazma angiotensin-II düzeyinde anlamlı bir artış saptandı (sırasıyla $p=0.031$ ve $p=0.046$). K+A ile K, HT ve HT+A grupları ve HT ile HT+A grupları arasında plazma angiotensin-II düzeyleri açısından anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 4.5A).



Şekil 4.5A. Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A) gruplarında; plazma angiotensin-II konsantrasyonu
 *; K ile HT ve HT+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

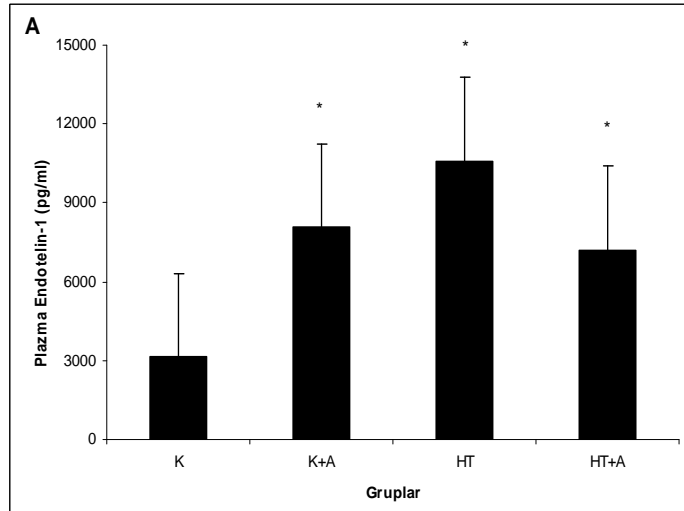
Kontrol, K+A, DM (5.49 ± 3.62) ve DM+A (6.07 ± 7.06) grupların plazma angiotensin-II düzeylerinin karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0.749$). K ile K+A grubu arasında plazma angiotensin-II düzeyleri açısından anlamlı bir fark gözlenmezken; HT+DM grubunda (11.75 ± 9.13) K (3.62 ± 2.03), K+A (4.81 ± 3.29) ve HT+DM+A (4.63 ± 2.86) grubuna göre yüksek bulundu. Bu yükseklikler istatistiksel olarak anlamlıdır, sırasıyla $p=0.008$, $p=0.015$, $p=0.031$ (Şekil 4.5B).



Şekil 4.5B Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma angiotensin-II konsantrasyonu
 *; K ile HT+DM grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).
 †; K+A ile HT+DM grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).
 \$; HT+DM ile HT+DM+A grubu arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

4.6. Plazma Endotelin-1 Konsantrasyonu

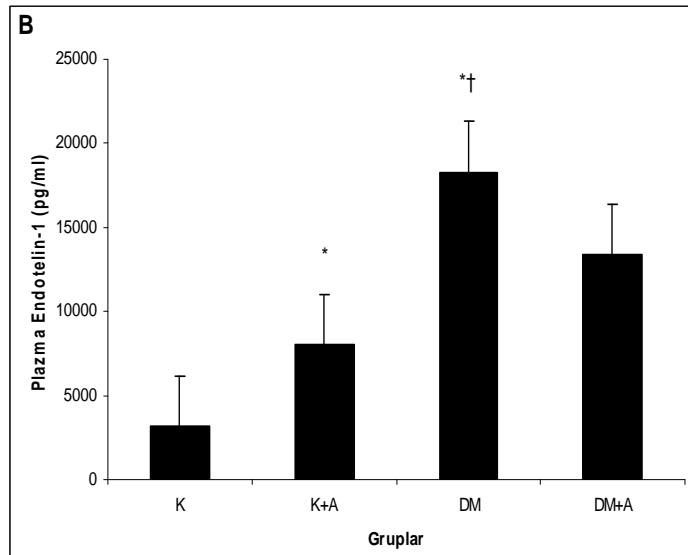
Grupların plazma endotelin-1 düzeyleri karşılaştırıldığında, K (3132.46 ± 3219.7), K+A (8057.1 ± 4121.3), HT (10571.3 ± 9567.1) ve HT+A (7179.2 ± 4974.3) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p= 0.087$). Ancak ikili karşılaştırmalarda K grubuna göre K+A, HT ve HT+A gruplarında endotelin-1 düzeylerin yüksek olduğu saptandı (sırasıyla $p= 0.028$, $p=0.05$, $p=0.05$) (Şekil 4.6A).



Şekil 4.6A Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A) gruplarında; plazma endotelin-1 konsantrasyonu

*; K ile diğer gruplar arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

Kontrol, K+A, DM (18285.9 ± 8964.8) ve DM+A (13371.7 ± 17032.4) grupları karşılaştırıldığında plazma endotelin-1 düzeylerinin gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi ($p=0.003$). İkili karşılaştırmalarda, DM grubunda, K ve K+A grubuna göre plazma endotelin-1 düzeyinde anlamlı bir artış saptandı (sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.013$). DM+A grubunda DM grubuna göre endotelin-1 düzeyindeki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi (Şekil 4.6B).

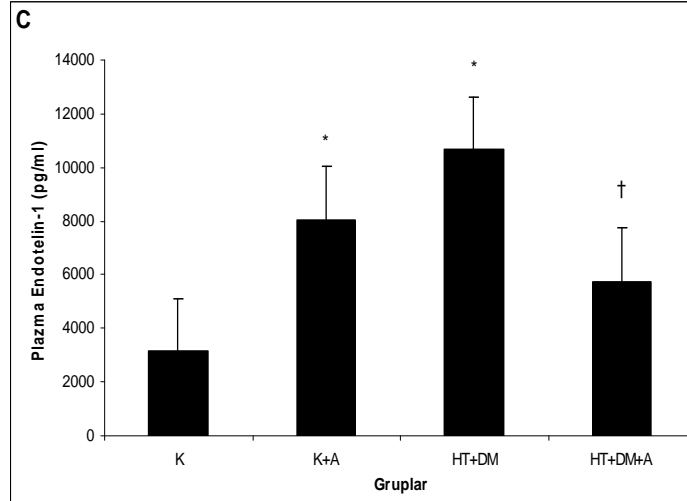


Şekil 4.6B Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında; plazma endotelin-1 konsantrasyonu

*; K ile K+A ve DM grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

†; K+A ile DM grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

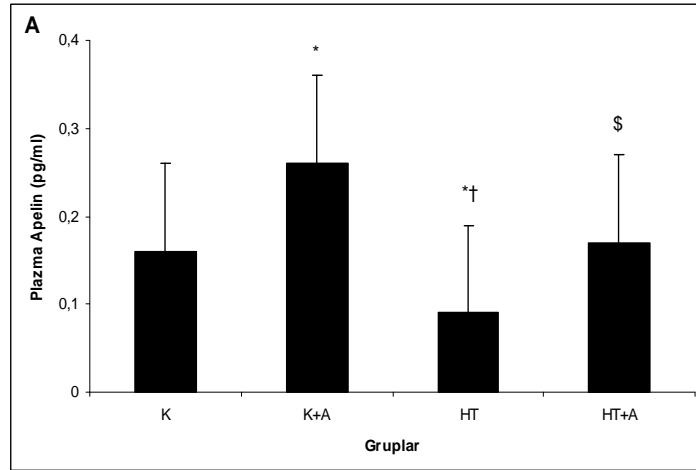
Kontrol, K+A, HT+DM (10651.3 ± 4623.2) ve HT+DM+A (5733.6 ± 3675.6) gruplarının plazma endotelin-1 düzeyi karşılaştırılmasında gruplar arasındaki farklılığın anlamlı olduğu görüldü ($p=0.014$). HT+DM grubunda K ve HT+DM+A grubuna göre, plazma endotelin-1 düzeyinde anlamlı bir artış gözlemlendi (sırasıyla $p=0.003$ ve $p=0.05$) (Şekil 4.6C).



Şekil 4.6C Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma endotelin-1 konsantrasyonu
 *; K ile K+A ve HT+DM grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).
 †; HT+DM ile HT+DM+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p<0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

4.7. Plazma Apelin Konsantrasyonu

Kontrol (0.16 ± 0.07), K+A (0.26 ± 0.13), HT (0.09 ± 0.05) ve HT+A (0.17 ± 0.06) gruplarının plazma apelin düzeylerinin karşılaştırılmasında gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu görüldü ($p=0.003$) (Şekil 4.7A). İkili karşılaştırmalarda ise K+A grubunda, K grubuna göre plazma apelin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p= 0.043$). HT grubunda, K, K+A ve HT+A gruplarına göre plazma apelin seviyesinde anlamlı bir şekilde düşüş gözlemlendi (sırasıyla $p=0.05$, $p=0.000$ ve $p= 0.027$) (Şekil 4.7A).



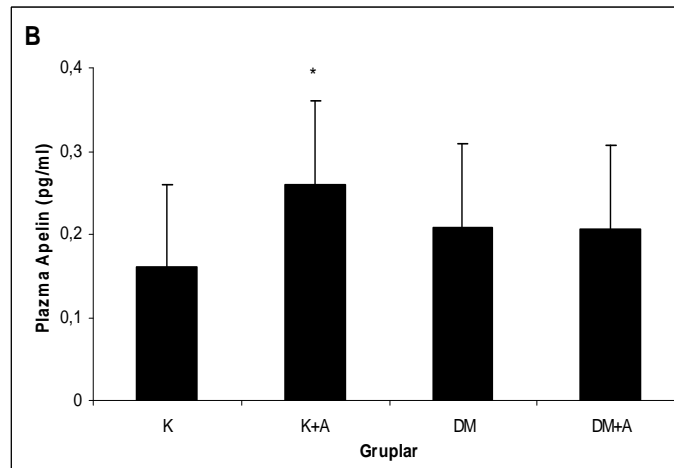
Şekil 4.7A Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon (HT), Hipertansiyon+Apelin (HT+A) gruplarında; plazma apelin konsantrasyonu

*; K ile K+A ve HT grupları arasındaki anlamlılığı ($p < 0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

†; K+A ile HT grupları arasındaki anlamlılığı ($p < 0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

\$; HT ile HT+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p < 0.05$) ifade eder

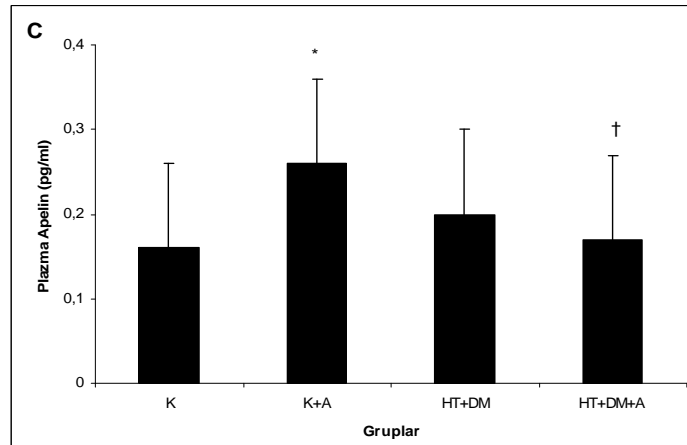
Tip 2 diyabet (0.20 ± 0.02), DM+A (0.20 ± 0.02), K ve K+A gruplarının çoklu karşılaştırmasında, plazma apelin düzeyleri bakımından anlamlı fark görülmedi. Kontrol ile K+A grubu plazma apelin düzeyleri hariç ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 4.7B).



Şekil 4.7B Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Tip 2 Diyabet (DM), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A) gruplarında; plazma apelin konsantrasyonu

*; K ile K+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p < 0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

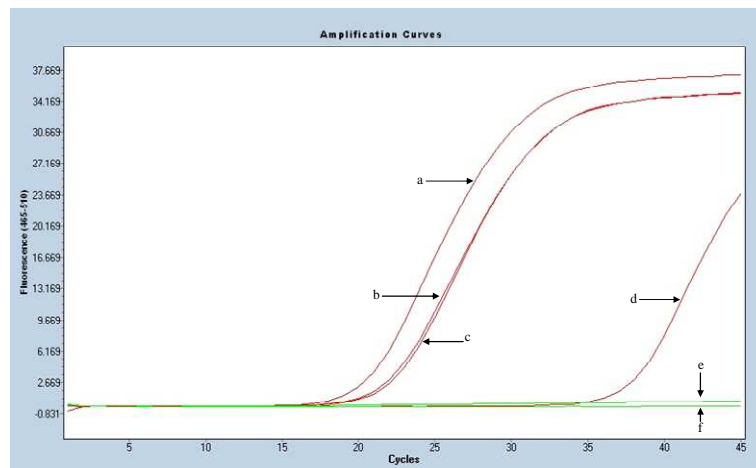
HT+DM (0.20 ± 0.04), HT+DM+A (0.17 ± 0.05), K+A ve K gruplarının çoklu karşılaştırmalarında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi. Ancak ikili karşılaştırmada K+A ile HT+DM+A grubu arasındaki fark anlamlıdır ($p = 0.043$) (Şekil 4.7C).



Şekil 4.7C Kontrol (K), Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında; plazma apelin konsantrasyonu
 *; K ile K+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p < 0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).
 †; K+A ile HTDM+A grupları arasındaki anlamlılığı ($p < 0.05$) ifade eder (Mann Whitney U test).

4.8. Kalp ve damar dokularında *apelin* ve *APJ* reseptör geni mRNA ekspresyon düzeyleri

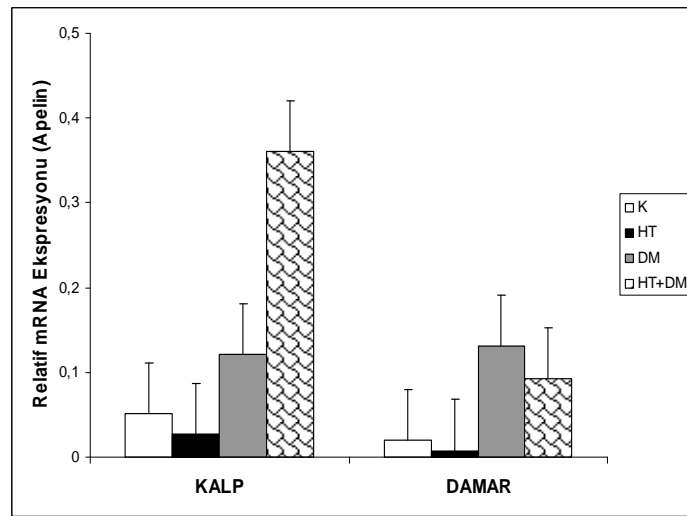
Çalışmaya dâhil edilen gruplara ait kalp ve damar doku örneklerinde *apelin* ve *APJ* geni mRNA ekspresyon düzeyleri β -*aktin* geni mRNA düzeyine göre relatif olarak belirlendi. Şekil 4.8.1’de hipertansiyon grubu kalp dokusunda relatif kantitasyon sonrası *apelin* mRNA ekspresyon düzeyinde artma ve azalma belirlenen 2 adet olguya ait amplifikasyon eğrisi örneği yer almaktadır.



Şekil 4.8.1 Hipertansiyon grubunda *apelin* ve β -*aktin* mRNA’larına özgün amplifikasyon eğrisi.

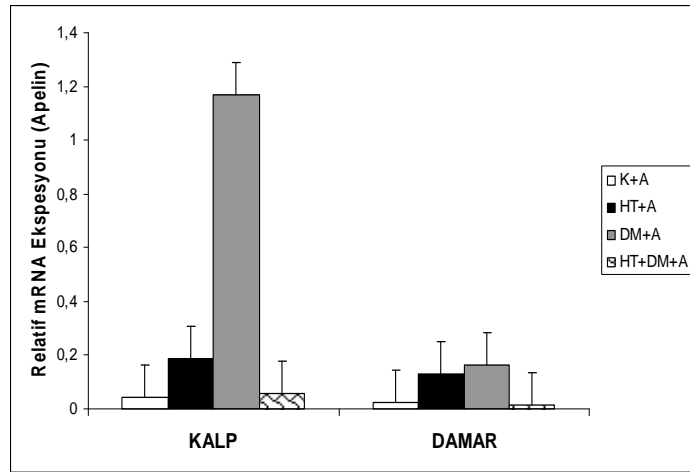
(a) *Apelin* mRNA ekspresyonunda artma belirlenen olguya ait *apelin* genine özgün amplifikasyon eğrisi,
 (b) *Apelin* mRNA ekspresyonunda artma belirlenen olguya ait β -*aktin* genine özgün amplifikasyon eğrisi,
 (c) *Apelin* mRNA ekspresyonunda azalma belirlenen olguya ait β -*aktin* genine özgün amplifikasyon eğrisi, (d) *Apelin* mRNA ekspresyonunda azalma belirlenen olguya ait *apelin* genine özgün amplifikasyon eğrisi, (e) *Apelin* genine özgün reaksiyona ait negatif kontrol, (f) β -*aktin* genine özgün reaksiyona ait negatif kontrol.

Şekil 4.8.2, kalp ve damar dokusunda K, HT, DM ve HT+DM gruplarındaki *apelin* mRNA düzeylerini göstermektedir. Kalp dokusu için K grubunda ortalama düzey 0.051 ± 0.021 (aralık: 0.022-0.092), HT grubunda ortalama düzey 0.026 ± 0.005 (aralık: 0.018-0.035), DM grubunda ortalama düzey 0.120 ± 0.125 (aralık: 0.038-0.363) ve HT+DM grubunda ortalama düzey 0.360 ± 0.190 (aralık: 0.087-0.596) olarak belirlendi. Damar dokusu için kontrol grubunda ortalama düzey 0.020 ± 0.013 (aralık: 0.0075-0.0137), HT grubunda ortalama düzey 0.0078 ± 0.0015 (aralık: 0.0061-0.011), DM grubunda ortalama düzey 0.130 ± 0.145 (aralık: 0.0057-0.330) ve HT+DM grubunda ortalama düzey 0.092 ± 0.094 (aralık: 0.019-0.277) olarak belirlendi.



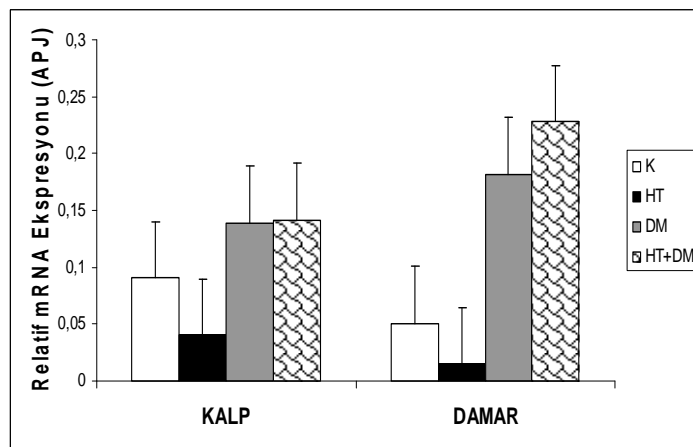
Şekil 4.8.2 Kalp ve damar dokusunda Kontrol (K), Hipertansiyon (HT), Tip 2 Diyabet (DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM) gruplarında *apelin* mRNA ekspresyon düzeyleri. *Apelin* mRNA ekspresyon düzeyleri β -aktin (referans gen) ekspresyon düzeylerine göre relatif olarak gösterilmiştir.

Apelin verilen gruplar için de, benzer şekilde *apelin* mRNA düzeyleri belirlendi. Buna göre kalp dokusu için K grubunda ortalama düzey 0.04515 ± 0.024 (aralık: 0.0082-0.095), HT grubunda ortalama düzey 0.188 ± 0.317 (aralık: 0.027-0.971), DM grubunda ortalama düzey 1.1695 ± 1.610 (aralık: 0.031-2.308) ve HT+DM grubunda ortalama düzey 0.058 ± 0.046 (aralık: 0.013-0.160) iken, damar dokusu için K grubunda ortalama düzey 0.02205 ± 0.016 (aralık: 0.0055-0.053), HT grubunda ortalama düzey 0.131 ± 0.183 (aralık: 0.019-0.571), DM grubunda ortalama düzey 0.165 ± 0.137 (aralık: 0.0075-0.260) ve HT+DM grubunda ortalama düzey 0.0135 ± 0.0007 (aralık: 0.013-0.014) idi (Şekil 4.8.3).



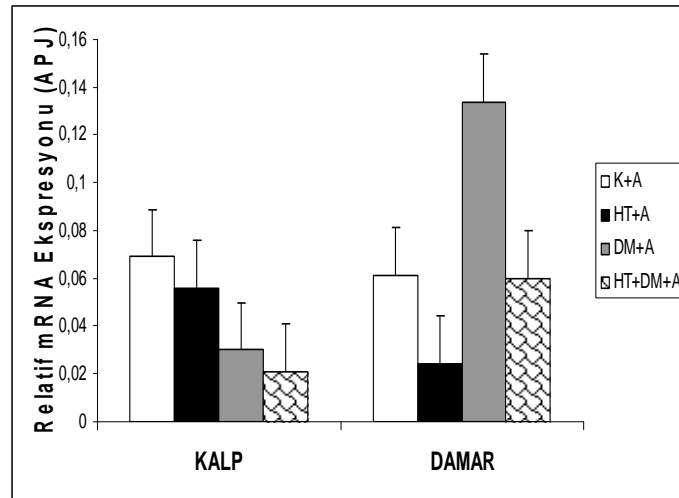
Şekil 4.8.3 Kalp ve damar dokusunda Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Apelin (HT+A), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında *apelin* mRNA ekspresyon düzeyleri. *Apelin* mRNA ekspresyon düzeyleri β -aktin (referans gen) ekspresyon düzeylerine göre relatif olarak gösterilmiştir.

Şekil 4.8.4, kalp ve damar dokusunda K, HT, DM ve HT+DM gruplarındaki *APJ* mRNA düzeylerini göstermektedir. Kalp dokusu için K grubunda ortalama düzey 0.0902 ± 0.018 (aralık: 0.064-0.121), HT grubunda ortalama düzey 0.0398 ± 0.018 (aralık: 0.020-0.080), DM grubunda ortalama düzey 0.138 ± 0.163 (aralık: 0.038-0.415) ve HT+DM grubunda ortalama düzey 0.141 ± 0.104 (aralık: 0.048-0.329) olarak belirlendi. Damar dokusu için K grubunda ortalama düzey 0.05 ± 0.03 (aralık: 0.010-0.077), HT grubunda ortalama düzey 0.0148 ± 0.0047 (aralık: 0.0052-0.022), DM grubunda ortalama düzey 0.182 ± 0.222 (aralık: 0.0053-0.610) ve HT+DM grubunda ortalama düzey 0.227 ± 0.336 (aralık: 0.017-0.978) olarak belirlendi.



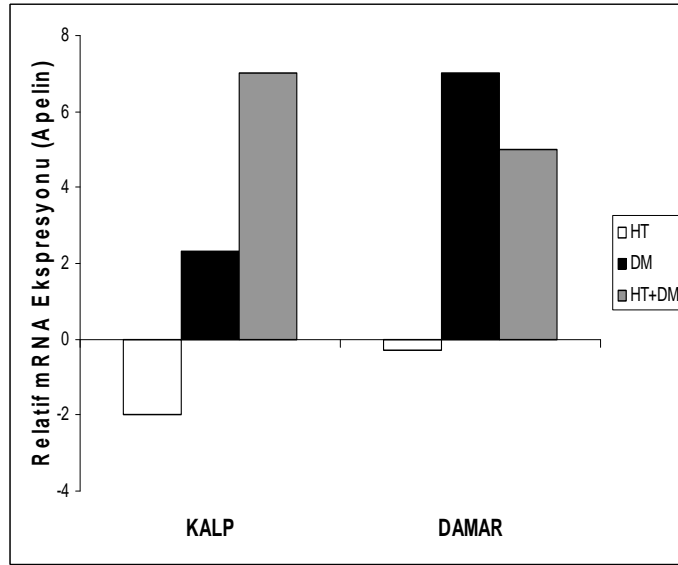
Şekil 4.8.4 Kalp ve damar dokusunda Kontrol (K), Hipertansiyon (HT), Tip 2 Diyabet (DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM) gruplarında *APJ* mRNA ekspresyon düzeyleri. *APJ* mRNA ekspresyon düzeyleri β -aktin (referans gen) ekspresyon düzeylerine göre relatif olarak gösterilmiştir.

Apelin verilen gruplar için de, benzer şekilde *APJ* reseptör geni mRNA düzeyleri belirlendi. Buna göre kalp dokusu için K grubunda ortalama düzey 0.069 ± 0.043 (aralık: 0.027-0.168), HT grubunda ortalama düzey 0.056 ± 0.019 (aralık: 0.036-0.094), DM grubunda ortalama düzey 0.030 ± 0.019 (aralık: 0.015-0.052) ve HT+DM grubunda ortalama düzey 0.0212 ± 0.0092 (aralık: 0.037-0.011) iken, damar dokusu için K grubunda ortalama düzey 0.061 ± 0.044 (aralık: 0.025-0.147), HT grubunda ortalama düzey 0.024 ± 0.005 (aralık: 0.013-0.031), DM grubunda ortalama düzey 0.133 ± 0.178 (aralık: 0.0075-0.260) ve HT+DM grubunda ortalama düzey 0.067 ± 0.051 (aralık: 0.019-0.160) idi (Şekil 4.8.5).



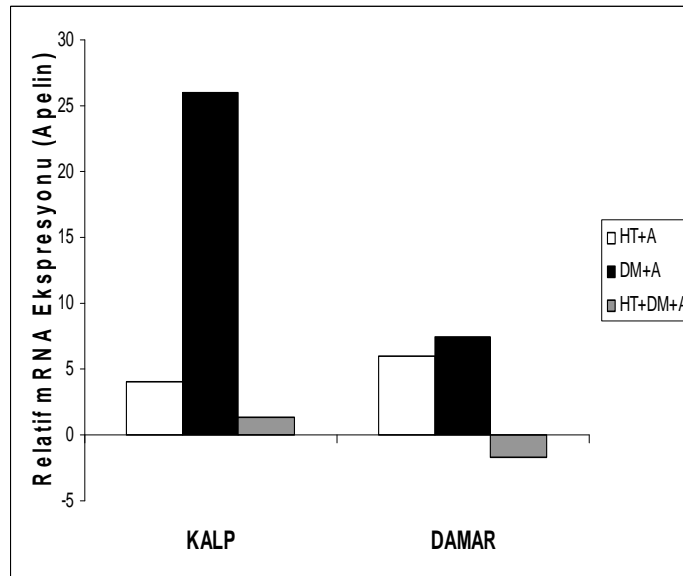
Şekil 4.8.5 Kalp ve damar dokusunda Kontrol+Apelin (K+A), Hipertansiyon+Apelin (HT+A), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında *apelin* mRNA ekspresyon düzeyleri. *APJ* mRNA ekspresyon düzeyleri β -*aktin* (referans gen) ekspresyon düzeylerine göre relatif olarak gösterilmiştir.

Apelin için, K grubu ile karşılaştırıldığında; kalp dokusunda HT grupta mRNA ekspresyonunda 2 kat azalma gözlenirken, DM ve HT+DM grubunda sırasıyla 2.3 kat ile 7 kat artışın olduğu belirlendi. Benzer şekilde *apelin* için, K grubu ile karşılaştırıldığında; damar dokusunda HT grupta mRNA ekspresyonunda 0.3 kat azalma gözlenirken, DM ve HT+DM grubunda sırasıyla 7 kat ile 5 kat artışın olduğu belirlendi (Şekil 4.8.6).



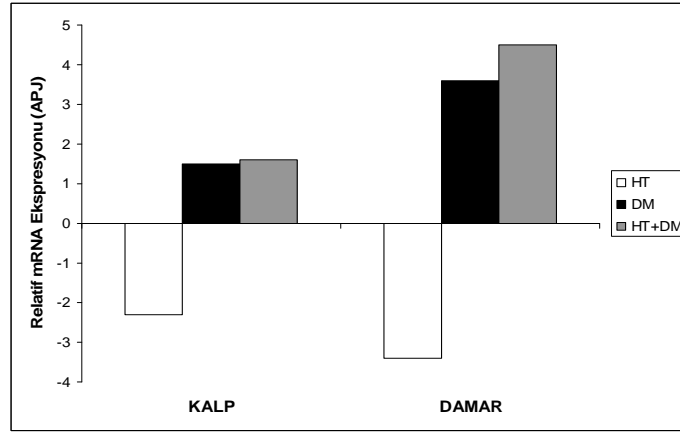
Şekil 4.8.6 Kalp ve damar dokusunda Kontrol (K) grubuna göre Hipertansiyon (HT), Tip 2 Diyabet (DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM) gruplarında *apelin* mRNA ekspresyon düzeylerinin katlı artışı/azalış grafiği.

Apelin için, K+A grubu ile karşılaştırıldığında; kalp dokusunda, HT+A, DM+A ve HT+DM+A grubuna göre mRNA ekspresyon düzeyinde sırasıyla 4 kat, 26 kat ve 1,3 kat artma olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde *apelin* için, K+A grubu ile karşılaştırıldığında; damar dokusu mRNA ekspresyon düzeyinde, HT+A ve DM+A grubunda sırasıyla 6 kat ve 7.5 kat artış görülürken, HT+DM+A grubunda 1.7 kat azalma olduğu gözlemlendi (Şekil 4.8.7).



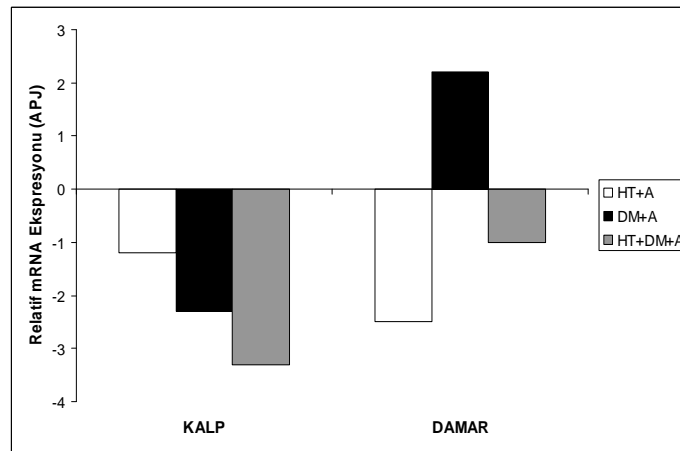
Şekil 4.8.7 Kalp ve damar dokusunda Kontrol+Apelin (K+A) grubuna göre Hipertansiyon+Apelin (HT+A), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında *apelin* mRNA ekspresyon düzeylerinin katlı artışı/azalış grafiği.

APJ reseptörü için, K grubu ile karşılaştırıldığında kalp dokusu mRNA ekspresyon düzeyinde, HT grubunda 2.3 kat azalma gözlenirken, DM ve HT+DM gruplarında sırasıyla 1.5 kat ve 1.6 kat artış gözlemlendi. Benzer şekilde *APJ* için, K grubu ile karşılaştırıldığında, damar dokusu mRNA ekspresyon düzeyinde, HT grubunda 3.4 kat azalma gözlenirken, DM ve HT+DM gruplarında sırasıyla 3.6 kat ile 4.5 kat artış gözlemlendi (Şekil 4.8.8).



Şekil 4.8.8 Kalp ve damar dokusunda Kontrol (K) grubuna göre Hipertansiyon (HT), Tip 2 Diyabet (DM), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet (HT+DM) gruplarında *APJ* mRNA ekspresyon düzeylerinin katlı artış/azalış grafiği.

APJ için, K+A grubu ile karşılaştırıldığında kalp dokusu mRNA ekspresyon düzeyinde, HT+A, DM+A ve HT+DM+A grubunda sırasıyla 1.2 kat, 2.3 kat ve 3.3 kat azalma gözlemlendi. Benzer şekilde *APJ* için, K+A grubu ile karşılaştırıldığında damar dokusu mRNA ekspresyon düzeyinde, DM+A grubunda 2.2 kat artış gözlenirken, HT+A ve HT+DM+A gruplarında sırasıyla 2.5 kat ve 1.02 kat azalma olduğu belirlendi (Şekil 4.8.9).



Şekil 4.8.9 Kalp ve damar dokusunda Kontrol+Apelin (K+A) grubuna göre Hipertansiyon+Apelin (HT+A), Tip 2 Diyabet+Apelin (DM+A), Hipertansiyon+Tip 2 Diyabet+Apelin (HT+DM+A) gruplarında *APJ* mRNA ekspresyon düzeylerinin katlı artış/azalış grafiği.

5. TARTIŞMA

Apelin, birçok organ sistemlerinde etkili olduğu bildirilmektedir. Özellikle kan basıncı ve vasküler tonusun düzenlenmesi, kardiyak kontraktilite, kalp hızı, anterior hipofiz fonksiyonlar, angiogenez, apoptosis, inflamasyon, glikoz metabolizması, vücut sıvı ve enerji dengesi, açlık ve yemek alımının düzenlenmesinde rol alan multifonksiyonel bir nöropeptid olduğu düşünülmektedir. Apelin, birçok doku ve organlarda bulunmasına rağmen etki mekanizması ve gerçek fizyolojik rolleri henüz tam olarak saptanamamıştır. Bu bağlamda apelinin tip 2 diyabet ve hipertansiyonda koruyucu ve tedavi edici bir ajan olabileceğini düşünerek planladığımız bu çalışmada, sıçanlarda hipertansiyon ve tip 2 diyabet oluşturduk ve apelin vererek etkilerini gözlemledik.

Çalışmamızda, DOCA-tuz hipertansiyon modeliyle hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarında, K grubuna göre kan basıncında, plazma ANG II, endotelin-1 seviyelerinde, TKA/SVA oranında anlamlı artış gördük. Ayrıca bu hayvanlarda, %1'lik NaCl içeren sıvı tüketiminin arttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar, sıçanlarda hipertansiyon oluştuğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Hipertansiyon gruplarında, plazma ACE 2 düzeyi değişmezken, plazma angiotensinojen düzeyinde anlamlı bir düşüş görülmüştür. Hipertansiyon oluşumunun plazma ANG II ve endotelin-1 düzeylerindeki artıştan kaynaklandığını göstermektedir. Larouche ve ark. tarafından DOCA-tuz hipertansiyon modeliyle hipertansif hale getirilen sıçanlarda ET-1'in vasküler ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada kalp dahil farklı organların kan damarlarında da ET-1 ekspresyonlarında artış bildirilmiştir (Larouche ve Schiffrin 1999). Uzun zamandır hipertansiyon oluşumunda önemli bir role sahip olduğunu bilinen ET-1'in plazma düzeylerinin arttığı, aort ve mesenterik arterlerinde *ET-1* mRNA seviyelerinin arttığı DOCA-tuz hipertansif sıçanlarında yapılan başka bir çalışmada gösterilmiştir (Veeramani vd 2011). Bizim çalışmamızda kan basıncı yükselmiş gruplarda ET-1'in artmış olması önceki çalışmalarla uyumludur. Hipertansiyonun, vazodilatasyon oluşumunu sağlayan G protein eşikli reseptörleri kodlayan genlerin delesyonu sonucu ya da ANG II ve ET-1 gibi vazokonstriktör maddelerin artması sonucu oluştuğu bildirilmektedir (Raij 2001). Literatür bilgilerine göre; ANG II'nin fizyolojik etkileri çoğunlukla AT-1 üzerinden gerçekleşmektedir. Bu etkiler vazokonstriksiyon, aldosteron salınımı, antidiüretik hormon sentezi, sempatik aktivasyon ve böbrek tübüllerinden tuz

emilimi olarak sayılabilir. Tüm bu etkiler hipertansiyon gelişimine neden olmaktadır (Unger 2000). Hipertansiyon gelişiminde en önemli etki, ANG II'nin arteriyel düz kaslar üzerindeki direkt kontraksiyon etkisidir. Bunlara ek olarak kalp üzerindeki pozitif inotropik etkisi, kan basıncının yükselmesinde az da olsa katkıda bulunmaktadır. ANG II, kalp kasında miyozitlerde büyümeye, sol ventrikül hipertrofisine ve kalp yetmezliği oluşmasına sebep olmaktadır (Unger 2000). Çalışmamızda ANG II seviyesinin artması hipertansiyon oluşumunu destekler niteliktedir. ANG II, vazokonstriktör özelliklerinin yanında endotelden ET-1 salınımını uyarmakta ve vasküler NADPH oksidaz yoluyla süperoksit üretimini arttırmaktadır (Zeng vd 2004). ANG II *in vivo* olarak vasküler büyüme ve hipertansiyonu stimüle eder ve vasküler ET-1 doku düzeyini artırır. Aynı zamanda ANG II'nin endotelial hücrelerinde ET-1 mRNA ekspresyonunu stimüle ettiği bilinmektedir (Moreau vd 1997). Rakugi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, ET-1'in sıçanların mezenterik arterlerinden ANG II serbestlenmesini aktive ettiğini göstermişlerdir (Rakugi vd 1990). Aynı zamanda ET-1, jukstaglomerüler hücrelerden renin salınımını inhibe ettiği ve zona glomerulosa hücrelerinden aldosteron salınımını stimüle ettiği bilinmektedir (Rossi ve Sacchetto 1999, Schiffrin 2001). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda hipertansiyon gruplarında ET-1 ve ANG II düzeylerindeki artışın, ET-1 ile ANG II arasındaki etkileşim ve birbirlerini aktive etmesi sonucu olabileceğini görmekteyiz.

Bizim çalışmamızda hipertansiyon gruplarında, total kalp ağırlığının son vücut ağırlığına göre artmış olduğunu gözlemledik. Önceki çalışmalarda normotensif kontrol grubuna göre, DOCA-tuz hipertansif sıçanlarda relatif kalp ağırlığının vücut ağırlığına oranı yüksek olması bizi destekler niteliktedir (Larouche ve Schiffrin 1999, Gómez-Guzmán vd 2012).

Hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlara apelin verildiğinde, HT grubuna göre kan basıncında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Ancak apelin verilmesi HT+A grubunun kan basıncını, K ve K+A grubunda olduğu gibi tamamen normal sınırlara düşürmemiştir. Kontrole göre apelin verilen K+A grubunda kan basıncının düşmüş olduğunu gördük. Ancak bu grupta kontrole göre ACE 2 ve ANG II düzeyleri değişmezken, angiotensinojen düzeyleri anlamlı olarak düşmüş ve ET-1 düzeyleri anlamlı olarak artmıştır. Endotelin-1 düzeyindeki artışa rağmen kan basıncındaki düşmeden angiotensinojen azalmasının sorumlu olduğu düşünülebilir. Önceki

çalışmalarda ET-1 artışının böbrekten renin salgılanmasını azalttığı gösterilmiştir (Rossi vd 1999, Schiffrin 2001). Her ne kadar bu çalışmada renin düzeylerine bakılmamışsa da, angiotensinojen düşüklüğünün muhtemel nedeni ET-1 artışında azalmış renin sekresyonu olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak aynı grupta kontrole göre plazma apelin miktarının anlamlı olarak artmış olduğunu gördük. Apelin ve ET-1 arasındaki ilişkiyi gösteren literatür bilgisi oldukça sınırlıdır. Sadece pulmoner hipertansiyonla ilgili yapılan bir çalışmada bu ilişki gösterilmiştir ve bu çalışmada artmış endojen apelin düzeyinin, normooksik sıçanların pulmoner arterlerinde ET-1 ve ANG II'nin vazokonstriktör etkilerini inhibe ettiği bildirilmektedir. Ayrıca normooksik sıçanlarda gösterilen apelinin ET-1 ve ANG II üzerindeki inhibitör etkilerinin hipoksik sıçanlarda ortadan kalktığı yine aynı çalışmada gösterilmiştir (Andersen vd 2009). Yukarıdaki çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda sıçanlara i.p. apelin verildi ve bu parametreler üzerine etkisi araştırıldı. Ancak bizim çalışmamızda hem K+A grubunda hem de hipertansiyon gruplarında kontrole göre ET-1 düzeyi artmıştı. Sadece hipertansiyon gruplarına ET-1 seviyesi artmış olsaydı bunun nedenini DOCA-tuz uygulamasından kaynaklanıyor diyebilirdik. Çünkü DOCA-tuz modelinde ET-1 artışına bağlı hipertansiyon gelişimi önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Veeramani vd 2011). Kontrol gruplarına apelin verilmesinin ET-1 düzeyini arttırmış olması yanında hipertansiyon durumunda apelinin ET-1'in azalmasına sebep olması ilginçtir. Kontrole göre K+A hayvanların kalp dokusunda *apelin* ve *APJ* mRNA ekspresyonu hafif azalırken damarda ekspresyonları artmıştır. Yine bu grupta plazma apelin düzeyinin kontrole göre artmış olduğunu belirtmiştik. Bu gruptaki hayvanlarının kan basınçlarının kontrole göre düşmüş olması, olasılıkla artmış damar apelin aktivitesi sonucunda NO seviyesinin artışına ve buna bağlı olarak gelişen vazodilatasyondan kaynaklanmış olabilir. Her ne kadar bu çalışmada NO düzeyi belirlenmemişse de, önceki çalışmalarda i.v verilen apelinin NO seviyesini artırdığı ve bu yolla vazodilatasyona yol açarak kan basıncını azalttığı gösterilmiştir (Tatemoto vd 2001, Lee vd 2005). Apelinin bu baskılayıcı etkileri normotensif kontrollere göre hipertansif hayvanlarda daha fazla arttığı bildirilmektedir (Lee vd 2005). Apelin-APJ tarafından NO üretiminin stimülasyonu için bazı faktörler vardır. Bunlardan biri, apelin endotelial hücrelerde NOS aktivitesini artırır ve APJ, NO serbestlenmesini sağlayan NOS aktivitesinin apeline bağlı fosforilasyonunun oluşmasını sağlar. İkincisi, fosfolipaz C/protein kinaz C yolunu aktive eder (Raj 2001). Ashley ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada apelinin, Akt'nın fosforilasyonunu aktive ettiği ve intraselüler kalsiyum konsantrasyonunun

artmasını sağladığı gösterilmiştir. Bu yollar üzerinden apelin renal arterlerde vazodilatasyon oluşumunu sağlayan mekanizması gösterilmiştir (Ashley ve Chun 2006).

Seo ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ET-1'in etkisini Endotelin A (ET-A) ve endotelin B (ET-B) olmak üzere iki spesifik reseptörü ile gösterdiği ve reseptörlerinin damarların düz kas dokusunda bulunduğu bildirilmiştir. Endotelinin ET-A reseptörüne bağlanması, vazokonstriksiyona ve sodyum geri emilimine sebep olarak kan basıncının artmasını sağlar. ET-B reseptörleri ise damarların iç yüzünü döşeyen endotelde bulunur. Endotelin ET-B reseptörüne bağlandığında, natriüze ve idrar atılımında artışa neden olur. Vasküler endotel hücrelerinde ET-B reseptörü ile ET-1 etkileşimi NO ve PGI2 salgılanmasına yol açarak vazodilatasyona neden olur ve kan basıncı düşer (Seo vd 1994). Bizim çalışmamızda K grubuna göre K+A grubunda ET-1 artışına rağmen kan basıncındaki düşüşün bir nedeni de ET-1'in ET-B reseptörü ile daha fazla etkileşime girerek NO salınımını artırması olabilir. Bunun yanında damar *apelin* ve *APJ* mRNA ekspresyonunda ve plazma apelin düzeyindeki artışın ET-1'in ET-A reseptörü yerine ET-B reseptörü ile daha fazla etkileşime girmesinde rolü olabileceğini düşünmekteyiz.

Kontrole grubuna göre K+A grubunda angiotensinojen düzeyindeki azalma anlamlı bulunmuştur. Angiotensinojenin apelin ile ilişkisini gösteren bir literatür bilgisine rastlamadık. Bulgularımızı karşılaştırma olanağına sahip değiliz. Apelin verdiğimiz tüm gruplarda angiotensinojenin azalmasının nedeni iki farklı şekilde olabilir. Bunlardan biri apelinin direkt olarak angiotensinojen üretimini baskılaması olabilir. İkincisi ise apelin verilen grupta artmış ET-1'in renin düzeyinde azalmaya sebep olarak angiotensinojen seviyesinin azalmasına neden olabilmesidir. ACE ile apelin ilişkisini gösteren bir literatür bilgisine rastlanmamakla birlikte apelin-36 ve apelin-13'ün hidrolizinde ACE 2'nin etkili olduğu gösterilmiştir (Vickers vd 2002). Yine *in vitro* yapılan çalışmalarda ACE 2'nin apelin C terminal phenylalanin bölgesine etki ederek apelin-13'ün reseptör aktivitesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Medhurst vd 2004, De Mota vd 2000).

Hipertansiyon ve apelin verilen hipertansiyon grubunda plazma ACE 2 düzeylerinde hem kontrol hem de K+A gruplarına göre azalma olduğunu ama bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olmadığını gözlemledik. Önceki çalışmalarda

hipertansiyon modellerinde ACE 2 mRNA ve protein seviyeleri azaldığı gösterilmiş ve bu azalmanın ANG II seviyesinin artmasıyla ilişkili olabileceği ve bununda kan basıncının artmasına neden olabileceği bildirilmiştir (Crackower vd 2002). HT ve HT+A gruplarımızda K grubuna göre sıçanların plazma ANG II düzeylerindeki anlamlı artış yukarıdaki çalışmayla uyumludur. Yani ACE 2 düzeyindeki azalmadan ANG II sorumludur diyebiliriz. Yine çalışmamızda HT ve HT+A grupları arasında ACE 2 seviyeleri açısından anlamlı bir fark yoktur. Apelin verilmesinin plazma ACE 2 üzerine etkisine yönelik literatürde çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bulgularımızı tartışma olanağına sahip değiliz. ANG II seviyesi hipertansiyon gruplarında kontrollere göre anlamlı olarak artmıştır. DOCA-tuz hipertansiyon modelinde ANG II ve ET-1 artışı beklediğimiz bir bulgudur ve literatürle uyumludur (Unger 2000, Veeramani vd 2011). Apelin verilen grupta verilmeyen HT grubuna göre ANG II düzeylerinde değişme görülmemiştir. Angiotensinojen ve ET-1 düzeylerinde HT grubuna göre azalma gözlenmiştir ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu bulgulara göre apelin verilen HT grubundaki kan basıncı düşmesinden bu parametrelerdeki azalmanın katkısı olabilir ancak tek başına sorumlu olduğunu söyleyemeyiz. Ancak bu sonuçlar apelinin, kan basıncının düzenlenmesinde başka yollarla etkili olduğunu düşündürmektedir. Apelin ve ET-1 arasındaki ilişkiyi gösteren çalışma sınırlıdır ve sadece pulmoner hipertansiyonla ilgili yapılan bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada artmış endojen apelin düzeyinin, normooksik sıçanların pulmoner arterlerinde ET-1 ve ANG II'nin vazokonstriktör etkilerini inhibe ettiği bildirilmektedir. Ayrıca normooksik sıçanlarda gösterilen apelinin ET-1 ve ANG II üzerindeki inhibitör etkilerinin hipoksik sıçanlarda ortadan kalktığı yine aynı çalışmada gösterilmiştir (Andersen vd 2009). Apelin/APJ sistem Anjiotensin II tip 1 reseptörüyle (AT-1) aminoasit dizilimlerinin bazı bölgeleri bakımından birbirleriyle homolog özelliklere sahiptir. APJ ve AT-1 birbirleriyle homolog olmasına rağmen, anjiotensin II, APJ reseptörüne bağlanmaz (O'Dowd vd 1993). Ishida ve ark. tarafından yapılan çalışmada, APJ eksikliği olan knockout farelerde ANG II'nin vazopressör cevabında artış olduğu gösterilmiştir. Buna göre apelin/APJ sisteminin, ANG II'nin vazokonstriktör etkileri inhibe ederek kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (Ishida vd 2004).

Çalışmamızda, HT grubunun plazma apelin düzeyinin, K, K+A ve HT+A gruplarına göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. Yani, hipertansiyon grubunda plazma apelin düzeyi azalmıştır. Ayrıca HT grubunun kalp ve damar dokusunda K grubuna göre

apelin ve *APJ* mRNA ekspresyon düzeylerinin azaldığını tespit ettik. Bu bilgilere göre hipertansif sıçanlarda plazma ANG-II ve ET-1 düzeylerindeki artma sebebiyle vazokonstriksiyon cevapta artış olabileceği ve özellikle artmış ANG II nedeniyle plazma apelin düzeyinde ve *apelinin* mRNA ekspresyonlarında azalmaya yol açmış olabilir. Daha önce spontan hipertansiyonlu sıçanlarda yapılmış olan bir çalışmada sıçanların aort ve kalp dokusunda *APJ* ve *apelin* mRNA ve protein ekspresyonunun azaldığı ve ANG II-AT1 mRNA ve protein ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca bu sıçanlarda apelin-APJ ekspresyon yokluğunda AT1 reseptör seviyesi ve kan basıncında artış görülmektedir (Zhong vd 2005). Ayrıca bizim bulgularımız ve literatür ışığında plazma apelin yüksekliğine ET-1'in ET-B reseptörüyle daha fazla etkileşime girerek ve muhtemelen NO yolağını kullanarak vazodilatatör cevapta artışa sebep olacağını ileri sürmüştük. Azalmış plazma *apelin* ve *apelin* mRNA ekspresyon düzeyinde ise apelinin ET-1 üzerindeki bu etkisinin ortadan kalkarak ET-1'in ET-A reseptörü ile etkileşime girmesine yol açarak vazokonstriktör etkinin ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Endotelin 1'in ET-B reseptörüyle etkileştiğinde çalışan NO yolağının bu durumda etkinliği azalmıştır (Seo vd 1994).

HT+A grubunda plazma apelin seviyesinde K ve K+A grubuna göre değişme gözlenmezken, HT grubuna göre plazma apelin düzeyinde anlamlı bir artış görüldü. Ayrıca K+A grubuna göre apelin verilen bu hipertansiyon grubunun kalp ve damar dokusunda *apelin* mRNA ekspresyonu artarken, *APJ* ekspresyonunun azaldığını gördük. Kosmala ve ark. tarafından yapılan çalışmada, esansiyel hipertansiyonlu hastalarda dolaşımdaki apelin seviyesinin azaldığı gösterilmiştir ve bu plazma apelinin azalması sol ventrikül sistolik ve diyastolik fonksiyon bozukluğundan kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Komsala vd 2011). Ayrıca hipertansiyon oluşturulmuş hayvan modellerinde, miyokardiyal ve vasküler dokularda apelin ve *APJ* ekspresyonunun ve plazma apelin seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (Zhang vd 2006). Zhong ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, spontan hipertansif sıçanların aort ve kalp dokusunda *APJ* ve *apelin* mRNA ve protein ekspresyonunun azaldığı ve *AT1* mRNA ve protein ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Bu sıçanlarda apelin-APJ ekspresyon yokluğunda AT1 reseptör seviyesi ve kan basıncında artış görülmektedir (Zhong vd 2005). Bu yapılan çalışmalarda apelin düzeyindeki değişiklikler çalışmamızla uyumludur ve kan basıncı üzerindeki etkilerini destekler niteliktedir. Çalışmamızda HT grubuna göre apelin verilen hipertansiyon grubunun kan basıncında

azalma olduğunu belirtmiştik. Kan basıncının azalmasının nedeni bu gruptaki sıçanların HT göre plazma apelin düzeyinin ve kalp ve damar dokusunda mRNA ekspresyonunun artışı NO seviyesini arttırmış olabilir ve buna bağlı olarak gelişen vazodilatasyon gelişerek kan basıncı düşmüştür. Nitrik oksit artışının nedeni de damar apelin ekspresyonunda ve plazma apelin düzeyindeki artışın yüksek olan ET-1'in ET-A reseptörü yerine ET-B reseptörü ile daha fazla etkileşime girmesi olabilir. Sonuç olarak çalışmamızda sıçanlara i.p verilen apelin, hipertansiyonda düşmüş olan apelin düzeyini artırarak bir hipertansiyon etkeni olan ET-1 yüksek olmasına rağmen kan basıncını düşürmüştür.

Çalışmamızda HT ve HT+A grupları arasında TKA/SVA oranları açısından anlamlı bir fark gözlenmedi. Ancak kontrole göre bu gruplarda artış varken K+A grubuna göre anlamlı düşüş gözlenmiştir. Apelin ve kalp ağırlığı arasındaki ilişkiyi gösteren bir literatür bilgisi olmaması nedeniyle sonuçlarımızı karşılaştırma olanağına sahip değiliz. Çalışmamızda apelin verilen kontrol grubunun % vücut ağırlık artışıdaki azalma anlamlı değilken, HT+A grubunda K, K+A ve HT grubuna göre anlamlı düşük olduğunu gözlemledik. Yiyecek alımıyla ilgili Sunter ve ark. tarafından yapılan çalışmada, hem aç hem de tok sıçanların lateral serebral ventriküllerine 1-3 nmol apelin-13 verilmesi durumunda bu hayvanlarda 24 saat yemek alımının azaldığını göstermişler (Sunter vd 2003). Hem aç hem de tok sıçanlara intravenöz olarak 10 nmol apelin-13 enjekte edilmesinde ise, hayvanlarda 24 saat boyunca yemek alımında herhangi bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Sunter vd 2003). Q'Shea ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada ise sıçanların lateral serebral ventriküllerine 10 nmol apelin-12 enjekte edilmesi durumunda sıçanların gün boyu yemek alımının arttığı ancak gece yemek alımının azaldığı bildirilmektedir (Q'Shea vd 2003). Yapılan başka bir çalışmada 3. serebral ventriküle 10 gün boyunca apelin-13 infüzyonu sıçanlarda kilo artışı ve yemek alımında artışa neden olduğu bildirilmiştir (Vale vd 2008). Sıçanlara i.p apelin verilmesinin vücut ağırlığı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı başka bir çalışmada gösterilmiştir (Higuchi vd 2007). Bu konuda yapılmış önceki çalışmalar ve bizim çalışmada apelinin verilme şekli, uygulanan dozları birbirlerinden farklılık göstermekte ve sonuçlardaki farklılıklarda bu durumdan kaynaklanabilir.

Çalışmamızda yağlı diyet ve alloksan modeliyle tip 2 diyabet oluşturulmuş sıçanlarda K ve K+A grubuna göre, % vücut ağırlığında anlamlı azalma, kan glikoz

düzeylerinde anlamlı artma görülmüştür ve plazma insülin düzeylerinde görülen hafif artma olmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bulgularımız diyabet modeliyle uyumludur. Ayrıca çalışma boyunca bu hayvanlarda aşırı idrar çıkışı ve sıvı tüketiminin arttığını gözlemledik. Yapılan bir çalışmada 6 gün boyunca i. p alloksan (200 mg/kg) verilerek oluşturulan tip 2 diyabetik sıçanlarda kan glikoz düzeyi, su alımını ve serum insülin düzeyinde artma ve yemek alımında azalma olduğu gözlenmiştir (Contarteze vd 2009). Bu bilgi bizim çalışmamızla uyumlu ve destekler niteliktedir. Yapılan başka çalışmada ise, intraperitonel alloksan verilerek oluşturulan diyabet modelinde vücut, kalp ağırlığı ve plazma insülin düzeyinde anlamlı bir azalma ve kan glikoz seviyesinde anlamlı bir artış olduğu gösterilmiştir (Das vd 2012).

Diyabet grubumuzda plazma ACE 2 düzeyinde K ve K+A grubuna göre anlamlı olarak artış gözledik. Diyabetli hastalar üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda %24 ile %40'lık bir bölümünde ACE 2 düzeylerinde artış kaydedildiği gözlenmiştir (Lieberman ve Aariona 1980). Yapılan başka çalışmada protein ACE 2 seviyesi diyabetik sıçanların pankreasında arttığı gösterilmiştir (Tikellis vd 2004). ACE 2 eksikliği olan knockout farelerde glikoz homeostasisindeki bozukluğun arttığı ve ilk faz insülin sekresyonunun azaldığı gösterilmiştir (Niu vd 2008). Yapılan bir başka çalışmada, diyabetik farelerde ACE 2 ekspresyonunun artması bozulan glikoz dengesinin düzenlenmesinde ve pankretik β hücre fonksiyon bozukluğunun gelişimini önleyebileceği bildirilmektedir. Ayrıca ACE 2 ekspresyonunun artması hipergliseminin azalması, β hücre proliferasyonu ve insülin sekresyonunun artmasıyla ilişkilidir (Bindom vd 2010). Böbrek hastalığı olan diyabetik hastalarda ACE 2 ekspresyonu azalmasına rağmen renal hasarı bulunmayan diyabetiklerin erken safhalarında ACE 2 ekspresyonunun arttığını gösteren bir çalışma bulunmaktadır (Ye vd 2004). Bu çalışmaya göre 6-8 haftalık genç db/db farelerde ACE 2 aktivitesi ve ekspresyonunun arttığı ve erken safhada bu artışın böbrekte koruyucu bir özelliğe sahip olabileceği gösterilmiştir (Ye et al. 2004). Yapılan çalışmalar ACE 2'nin diyabette bozulmuş olan glikoz dengesini düzenleme yönünde artmış olacağının ifade etmekte ve bizim bulgularımızda bunu destekler niteliktedir.

Çalışmamızda diyabet grubumuzda plazma angiotensinojen düzeyinde K grubuna göre anlamlı olarak azaldığını bulduk. Diyabet ve angiotensinojen arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar sınırlıdır. Yapılan çalışmada, obesite, tip 2 diyabet gibi insülin direncinde plazma angiotensinojen seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca insülinin

adipoz dokuda angiotensinojen gen ekspresyonunu azalttığı, yağ, karaciğer dokusunda glikoza kısa süreli maruz kalındığında ise angiotensinojen gen ekspresyonunun arttığı bildirilmektedir. Yine bu çalışmada hiperinsülinemi, zayıf hayvanlarda angiotensinojen gen ekspresyonunu azaltırken obez hayvanlarda angiotensinojen gen ekspresyonu arttığı gösterilmiştir (Gabriely vd 2001). Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada glikozun, böbrek tübül hücrelerinde angiotensinojen gen ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Hsieh vd 2002). Yapılan başka bir çalışmada tip 2 diyabetik hastaların karotid arterlerinde angiotensinojen mRNA ve protein seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Yine bu çalışmada tip 2 diyabetik hastaların vasküler düz kas hücrelerinde MAP kinaz ve PI3 kinaz yolları arasında insülin reseptör sinyalindeki dengesizlik sonucu oluşan tip 2 diyabetiklerde artan angiotensinojen düzeyinde sadece MAP kinaz yolağının etkili olduğu gösterilmiştir. Tersine ERK Map kinaz ve PI3 kinaz yolları arasında insülin reseptör sinyalindeki dengesizlik sonucu oluşan tip 2 diyabetiklerde artan angiotensinojen düzeyinde ise sadece ERK1 MAP kinaz yolağının etkili olduğu aynı çalışmada bildirilmektedir (Hodroj vd 2007). Bizim çalışmamızda diyabetli sıçanlarda angiotensinojen seviyesi azalmıştır. Bu düşüklüğün iki nedeni olabilir. Birincisi diyabetli hayvanlardaki aşırı kilo kaybı olabilir. Daha önceki çalışmalarda tip 2 diyabetli obez hayvanlarda angiotensinojen artarken zayıf hayvanlarda azaldığı gösterilmiştir (Gabriely vd 2001). İkincisi ise bu hayvanlarda artmış ET-1 yüzünden azalmış olabilecek renin aktivitesine bağlı olarak plazma angiotensinojen düşmesidir.

Diyabet grubumuzda plazma ANG II düzeyinde K ve K+A grubuna göre artmış ancak bu artış anlamlı değildir. ANG II vazokonstriktör özelliklerinin yanında endotelden endotelin-1 salınımını uyarmakta ve vasküler NADPH oksidaz yoluyla süperoksit üretimini arttırmaktadır. Ayrıca ANG II, mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) yolunu uyarmakta ve insülinin hücre proliferasyonu ve PAI-1 ekspresyonu üzerindeki etkisini güçlendirmektedir (Zeng vd 2004). ANG II, insülin direnci ve pankreas β hücrelerinde inhibitör etki ile insülin salınımını baskılayarak glikoz intoleransı ve diyabetes mellitus patogenezine de katkıda bulunur (Rakugi vd 2002). İnsülin direncinde, posttranskripsiyonal mekanizmalarla, anjiotensin reseptörü 1 (AT-1) upregülasyonu ve anjiotensin II üretim ve etkinliğinde artış meydana gelir (Sowers 2004). ANG II'nin, insüline bağlı oluşan vazodilatasyonu ve glikoz transportunu inhibe ettiğini gösteren pek çok kanıt vardır (Begum vd 2000). Bizim çalışmamızda da artmış ANG II düzeyi anlamlı olmasa da insülinin artışını engellemiş olabilir. Sadece tip 2

diyabet olan sıçanlarda insülin düzeyi ile ANG II arasında pozitif bir korelasyon olmasına rağmen bu anlamlı değildir ($r=0,43$ $p=0.24$).

Diyabet grubumuzda plazma ET-1 düzeyinde K ve K+A grubuna göre anlamlı olarak artış gözledik. Diyabet ve ET-1 arasındaki ilişkiyi gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada plazma ET-1 seviyeleri tip 2 diyabetli hastalarda arttığı gösterilmiştir (Ak vd 2001). ET-1'in sağlıklı bireylerde insülin direncini (Ottosson-Seeberger vd 1997) ve periferik glikoz kullanımını azalttığı bildirilmektedir (Ahlborg vd 1994). Başka çalışmada ET-1, tirozin fosforilasyon ve insülin reseptör substratı-1 (IRS-1) ekspresyonunun azalmasıyla adipoz dokudan insülin sinyalinin bozulmasına neden olmaktadır. Ayrıca tip 2 diyabetlilerin adipoz dokusunda IRS-1 protein miktarının azalması ET-1 ve MAPK aktivasyonunun artması sebebiyle olduğu gösterilmiştir (Irving vd 2001). ET-1 plazma membranına bağlı mekanizmalarla insüline bağlı glikoz alımını inhibe ettiği ve ET-1 adipositlerde GLUT4 translokasyonunun bozulmasına neden olduğu bildirilmektedir (Strawbridge ve Elmendorf 2006). Moleküler seviyede vasküler düz kas hücrelerinde ET-1 molekülünün fosfotidilinositid-3 (PI-3) kinaz yolunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Jiang vd 1999). Diyabetiklerde ET-1 düzeylerindeki artışı indükleyen en önemli metabolik değişiklikler hiperglisemi ve mevcut ise hiperinsülinemidir. Yapılan çalışmalarda yüksek glikoz konsantrasyonunun protein kinaz C yolağı üzerinden ET-1 ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur (Park vd 2000) İnsülin direnci ve hiperinsülinemiye bağlı ET-1 artışlarını gösteren çalışmalar dışında ET-1'inde insülinin vasküler düz kas hücrelerindeki fonksiyonlarını etkileyerek glikoz kullanımını ve NO üretimini azalttığını düşündüren çalışmalar vardır (Jiang vd 1999). Diyabetik hastalarda plazma ET-1 düzeylerindeki artışın mekanizmasını açıklayan yeni bir çalışmada glikoz konsantrasyonu yüksek kültür ortamında hibrid endotel hücreleri ve insan umbilikal ven endotel hücrelerinde endotelin dönüştürücü enzim-1'in ekspresyonunun arttığı saptanmıştır (Keynan vd 2004). Wu ve ark. tarafından diyabetik hayvan modellerinde yapılan çalışmada ET-1'in vasküler düz kas hücreleri üzerindeki ET-A reseptörü aracılığıyla aorta potent ve devamlı kontraksiyona neden olduğu göstermişlerdir. Ayrıca bu çalışmada, hiperinsülinemik, insülin dirençli obez Zucker sıçanlarda ET-1'in plazma düzeylerinin normal sıçanlara göre farklılık göstermediği ancak aorta ve mezenterik arterlerde ET-A ve ET-B reseptörlerinin normal ratlara göre belirgin arttığını gözlenmiştir (Wu vd 2000). Alloksan ile diyabetik hale getirilmiş tavşanlarda yapılan bir çalışmada diyabetin

6. ayında tavşanların böbreklerinde korteks ve medullada ET-A ve ET-B reseptör bağlanma alanlarının arttığı saptanmıştır (Khan vd 1999). Takahashi ve arkadaşlarının 1990 yılında yayınlanan bir çalışmasında hem tip 1 hem de tip 2 diyabetiklerde plazma ET-1 seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir (Takahashi vd 1990). Tip 2 diyabetik hastalarda, retinopati gelişimi ile ET-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (Kawamura vd 1992). Haak ve arkadaşlarının 152 tip 1 ve tip 2 diyabetik hastada gerçekleştirdiği bir çalışmada ise yine ET-1 düzeylerinde bir artış ortaya konmuştur (Haah vd 1992). İnsan ve hayvan çalışmalarında ekzojen olarak verilen endotelinin insülin direnci gelişimini uyardığı bulunmuştur. Hiperinsülinemi endotel hücresinden ET-1 sentezini arttırmakta, artan ET-1 düzeyi ile insülin direnci ağırlaşmakta ve endotel fonksiyonları bozulmaktadır (Irving vd 2001). Bütün bu bulgular çalışmamızda diyabet grubunun ET-1 düzeyindeki artışını destekler niteliktedir.

Diyabet grubunda kontrole göre kan basıncında herhangi bir değişiklik olmamıştır. Tip 2 diyabetik db/db farelerde vasküler hiperaktivite ile ilişkili bazı çalışmalar (Sowers ve Stump 2004) olmasına rağmen bu diyabetik modellerde in vivo kardiyovasküler değişiklikler üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bu çalışmalara göre tip 2 diyabetik db/db farelerde kan basıncının arttığı (Bagi et al. 2005), azaldığı (Kosugi et al. 2006) ya da değişmediği (Moriyama et al. 2004) gösterilmiştir. İnsanlarda yapılan bir çalışmada normotansif nondiyabetiklere göre normotansif diyabetik hastalarının ortalama sistolik ve diyastolik kan basıncı hafif yüksek olmasına rağmen tüm bu hastaların normotansif olduğu ve serum insülin düzeyleri bakımından da anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir (Türker 2006). Sheu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada normotansif diyabetikler ile kontroller arasında insülin düzeyi bakımından anlamlı bir fark bulunmamış; diyabetiklerde insülin direnci daha fazla bulunmuş ve normotansif diyabetiklerde kan basıncının kontrollerden daha yüksek seyrettiği görülmüştür (Sheu vd 1996). Yapılan bir çalışmada diyabetiklerde ET-1 düzeylerindeki artışı indükleyen en önemli metabolik değişiklikler hiperglisemi ve hiperinsülinemi olduğu gösterilmiştir (Park vd 2000). Diyabetik sıçanlarımızın plazma ET-1 düzeylerindeki artışa rağmen kan basınçlarında değişme gözlenmemiştir. Ancak bu gruptaki sıçanların damar ve kalp dokusunda *apelin* ve *APJ* mRNA ekspresyonlarındaki artış olduğunu ancak plazma apelin düzeyindeki artışın anlamlı olmadığını tespit ettik. Yapılan bir çalışmada obez hiperinsülinemik farelerde plazma apelin konsantrasyonu ve adiposit *apelin* mRNA seviyelerinde artış görülmüştür. Ayrıca insülin eksikliği olan farelerde kontrollere

göre *apelin* mRNA seviyelerinin azalması aynı çalışmada gösterilmiştir (Castan-Laurell vd 2005). Endotel fonksiyon bozukluğu diyabetik vasküler patofizyolojinde sorumlu olan vazodilatasyon özelliğinin azalması ile oluşur (Endemann ve Schiffrin 2004). Diyabette vazodilatatör cevapta azalmayı sağlayan mekanizmada ANG II üretimi artar, NO üretimi ve *apelin*-APJ ekspresyonu azalır (Lee vd 2006). *Apelin* tedavisi yapılan diyabetik db/db farelerin aortunda Ser473–Akt ve Ser1177–eNOS fosforilasyonunda artış gösterilmiştir. Bu artışta aortik vasküler tonusun düzenlenmesinde rol oynar (Ishida vd 2004). Buna ilaveden APJ reseptör eksikliği olan farelerin endotelial hücrelerinde, *apeline* bağlı eNOS fosforilasyon aktivasyonu bozulur ve APJ reseptör ekspresyonunun azalması diyabetik db/db farelerin aortunda Ser473–Akt ve Ser1177–eNOS fosforilasyonu azaltır. Böylece *apelin*, Ser473–Akt ve Ser1177–eNOS fosforilasyonunu artırmasıyla ANG II'nin tersine anormal aortik vasküler tonusun düzenlenmesini sağlayan önemli bir peptid olarak görev aldığı bildirilmektedir. Bu etkilerinden dolayı diyabette koruyucu bir role sahip olduğu ileri sürülmektedir (Ishida vd 2004, Masri vd 2006). Yapılan bir çalışmada db/db farelerin aort dokusunda *apelin*, APJ mRNA ve protein ekspresyonunun azaldığı ve fareler *apelin*le tedavi edildiğinde aort dokusunda Akt ve eNOS fosforilasyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca *apelin*, NO sentezinin aktivasyonu sebebiyle diyabetik db/db farelerin aortunda ANG II'nin vazokonstriktör cevaptaki artışını azalttığı ve bozulan endotelial bağımlı vazodilatasyonu düzenlediği yapılan bu çalışmada gösterilmiştir (Grisk 2007). İnsanlarda yapılan bir çalışmada, yeni teşhis edilen ve tedavi edilmeyen tip 2 diyabetli hastalarda plazma *apelin* düzeyi azaldığı (Erdem vd 2008) glikoza intoleranslı, tip 2 diyabetik zayıf bireylerde (Li vd 2006) ve tip 2 diyabetli obez hastalarda arttığını bildirilmektedir (Soriguer vd 2009). Başka bir çalışmada insülin dirençli yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin adipoz dokusunda *apelin* ve APJ ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. İskelet kasında *apelin* ekspresyonu kontrol ve yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde aynıyken db/db farelerde azalmıştır. APJ ekspresyonu ise hem db/db farelerde hem de yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde azaldığı aynı çalışmada gözlenmiştir (Dray vd 2010). Bizim bu çalışmamızda diyabet grubumuzda plazma insülin ve *apelin* düzeyinde kontrollere göre artış gözlenmiş ancak bu artış anlamlı değildir. Sonuçlarımız artmış insüline cevapta artmış *apelin* düzeylerini gösteren çalışmalarla paralellik göstermektedir. ET-1, ACE 2 ve ANG plazma seviyelerindeki artışa rağmen kan basıncında her hangi bir artış görülmemesinin nedeni damar ve kalpteki *apelin* mRNA ekspresyonlarındaki artış ve yüksek plazma *apelin* seviyeleri nedeniyle olmuş olabilir.

Diyabet oluşturulmuş sıçanlara apelin verildiğinde (DM+A) ise DM grubuna göre kan glikoz düzeyinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Ancak apelin verilmesi DM+A grubunun kan glikoz düzeyini, K ve K+A grubunda olduğu gibi tamamen normal sınırlara düşürmemiştir. K ve K+A grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında kan glikoz düzeylerinde anlamlı bir fark gözlenmedi bunun yanında K+A grubunda plazma insülin düzeyi K grubuna göre azalmış fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. Fareler üzerine yapılan bir çalışmada apelinin insülin sekresyonunu inhibe ettiği ve glikoz homeostasisin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. Ancak insülin sekresyonu üzerine apelinin inhibitör etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Sörhede vd 2005). Apelin verilen kontrol sıçanlarımızda plazma apelin düzeyleri yükselmesi yanında insülin seviyeleri düşmüş ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Diyabet oluşturulmuş sıçanlara apelin verildiğinde, DM grubuna göre kan basıncında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Diyabet grubunda plazma ACE 2 düzeylerinde hem kontrol hem de K+A gruplarına göre anlamlı olarak artarken apelin verilen diyabet grubunda plazma ACE 2 düzeylerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Önceki çalışmalarda db/db diyabet farelerde ACE 2 ekspresyonu ve aktivasyonunun arttığı gösterilmiştir (Wysocki vd 2006). DM ve DM+A gruplarımızda K grubuna göre sıçanların plazma ACE 2 düzeylerindeki artış yukarıdaki çalışmayla uyumludur. Yine çalışmamızda DM grubuna göre DM+A grubunun ACE 2 seviyesindeki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gördük. İntraperitoneal apelin verilmesinin plazma ACE 2 üzerine etkisine yönelik literatürde çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bulgularımızı tartışma olanağına sahip değiliz. ANG II seviyesi diyabet gruplarında kontrollere göre yüksek olduğu fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ayrıca DM ve DM+A grupları arasında ANG II seviyeleri açısından da anlamlı bir fark yoktur. Yine DM+A grubunda angiotensinojen ve ET-1 düzeylerinde DM grubuna göre azalma var ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu bulgulara göre apelin verilen DM grubundaki kan glikoz ve kan basıncı düşmesinden bu parametrelerdeki azalmanın katkısı olabilir ancak tek başına sorumlu olduğunu söyleyemeyiz.

Çalışmamızda, DM+A grubunun plazma apelin düzeyinde, K, K+A ve DM gruplarına göre anlamlı bir fark gözlenmedi. Bunun yanında K+A grubuna göre DM+A

grubunun kalp dokusunda *apelin* mRNA ekspresyonu artarken APJ mRNA ekspresyonunun azaldığı, damar dokusunda ise *apelin* ve *APJ* mRNA ekspresyon düzeylerinin arttığını tespit ettik. Yapılan bir çalışmada obez hiperinsülinemik farelerde plazma apelin konsantrasyonu ve adiposit *apelin* mRNA seviyelerinde artış görülmüştür. Ayrıca insülin eksikliği olan farelerde kontrollere göre apelin mRNA seviyelerinin azalması aynı çalışmada gösterilmiştir (Castan-Laurell vd 2005). Yapılan bir çalışmada db/db farelerin aort dokusunda *apelin*, *APJ* mRNA ve protein ekspresyonunun azaldığı ve fareler apelinle tedavi edildiğinde aort dokusunda Akt ve eNOS fosforilasyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca apelin, NO sentezinin aktivasyonu sebebiyle diyabetik db/db farelerin aortunda ANG II'nin vazokonstriktör cevaptaki artışını azalttığı ve bozulan endotelial bağımlı vazodilatasyonu düzenlediği yapılan bu çalışmada gösterilmiştir (Grisk 2007). Çalışmamızda DM grubuna göre apelin verilen diyabet grubunun kan glikoz düzeyinde ve kan basıncında azalma olduğunu belirtmiştik. Bu gruptaki sıçanların damar dokusunda *apelin* mRNA ekspresyonunun artışı DM grubuna göre daha fazla, *APJ* mRNA düzeyi ise daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bunun yanında apelin verilen DM grubunda normal DM grubuna göre kalplerinde artmış *apelin* mRNA yanında azalmış *APJ reseptör* mRNA ekspresyonu gözlenmiştir. Artmış *apelin* ekspresyonuna rağmen ve *APJ* mRNA ekspresyonunun azalması nedeniyle tek başına apelinin NO üzerinden vazodilatasyon etkisini gösterdiğini söylemek güç. Önceki çalışmalarda i.v verilen apelinin NO seviyesini artırdığı ve bu yolla vazodilatasyona yol açarak kan basıncını azalttığı gösterilmiştir (Tatemoto vd 2001, Lee vd 2005). Bu düşüğe anlamlı olmasa da angiotensinojen, ACE 2 ve ET-1 seviyelerinde meydana gelen azalmada katkıda bulunmuş olabilir. Bunun yanında apelinin güçlü diüretik etkiye sahip olduğu ve buna bağlı olarak ta su kaybına neden olduğu bildirilmektedir (Reaux-Le vd 2004). Bu diüretik etkisiyle kan hacminde azalmaya sebep olarak kan basıncında düşüğe neden olmuş olabilir. Sonuçta dışarıdan apelin verilmesi diyabetli sıçanlarda kan basıncını düşürmüştür.

DM+A grubumuzdaki sıçanların kan glikoz düzeyi ve plazma insülin düzeyi DM grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Yine bu grupta K ve K+A grubuna göre plazma insülin düzeyindeki azalmanın ve plazma apelin düzeyindeki artışın anlamlı olmadığı görüldü ancak kalp ve damar dokusunda apelin mRNA ekspresyonu artmıştır. İn vitro çalışmalarda apelinin adipoz dokuda üretildiği ve bir adipositokin olarak glikoz ve lipid metabolizmasının düzenlediği bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada apelin eksikliği

olan hayvan modellerinde insülin duyarlılığının azaldığı ve bu durum ekzojen apelin verilmesiyle düzeltilebileceği gösterilmiştir. Buna göre ekzojen apelin, artan plazma glikoz konsantrasyonunu azaltabilir. Bu etkileri insülin dirençli hayvanlarda koruyucu olabilir. Bu artan glikoz alınımına bağlı olan sellüler mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Apelin, Akt gibi insülin bağımlı yolların fosforilasyon komponentleri sayesinde glikoz alınımını arttırdığı bilinmektedir (Sörhede vd 2005). Dray ve ark. tarafından yapılan çalışmada intravenöz verilen apelinin kontrol, obez ve insülin dirençli farelerin adipoz doku ve iskelet kasında glikoz kullanımını sağladığı ve glikoz dengesinin düzenlenmesinde önemli bir peptid olduğu gösterilmiştir (Dray vd 2008). Yue ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen fakat apelin eksikliği olan farelerde insülin direncinin azaldığı bildirilmektedir (Yue vd 2010). Apelin ve insülin arasındaki ilişkiyi gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Apelin farelerde insülin sekresyonunu inhibe eder ve apelinin glikoz homeostasisin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Ancak insülin sekresyonu üzerine apelinin inhibitör etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Sörhede vd 2005). Ancak başka bir çalışmada apelin ile insülin sekresyonu arasında güçlü bir bağlantı bulunduğunu ileri sürmektedir. Guo ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada apelin insulinoma (INS-1) hücrelerinde insülin sekresyonunda etkili olan glukagon-benzeri peptit-1'i (GLP-1) inhibe ederek insülin sekresyonu azalttığı gösterilmiştir (Guo vd 2009). Apelin tarafından insülin sekresyonunun azalması Fosfodiesteraz 3B (PDE3B)'nin fosfoinositol 3-kinaz (PI3-kinaz) bağımlı aktivasyonu sebebiyledir. Çünkü PDE3B ya da PI3-kinazın inhibitörleri, glikoz üzerindeki apelinin inhibitör etkilerini bloke eder ve apelinin sebep olduğu cAMP'deki azalmayı önler. Dolayısıyla apelin tarafından insülin sekresyonu ve intraselüler cAMP'nin azalması, adenilat siklazın inhibisyonundan ziyade PDE3B aktivasyonuyladır (Guo vd 2009). Pankreatik β hücrelerinin plazma membranında bulunan PDE3B'nin insülin sekresyonunun düzenlenmesinde görevli olduğu bilinmektedir (Härndahl vd 2002). İnsülinin apelin üzerine etkilerine yönelik çalışmalarda, insülinin adipositlere direkt etki ederek apelin üretimini stimüle ettiği gösterilmiştir (Boucher vd 2005, Sörhede vd 2005). Çalışmamızda DM+A grubunun kan glikoz ve insülin düzeylerinde DM grubuna göre anlamlı olarak düşmüştür. Bu grupta plazma apelin seviyelerinde anlamlı artış olmamasına rağmen dışarıdan apelin verilmesi insülin ve glikoz düzeyini sıçanlarda düşürmüştür.

Çalışmamızda DM grubunda K ve K+A grubuna göre TKA/SVA oranları açısından anlamlı bir fark gözlenmedi. Ancak DM+A grubunda kontrole göre TKA/SVA oranı anlamlı olarak artarken K+A grubuna göre anlamlı bir fark yoktur. Ancak apelin ve kalp ağırlığı arasındaki ilişkiyi gösteren bir literatür bilgisi olmaması nedeniyle sonuçlarımızı karşılaştırma olanağına sahip değiliz. Çalışmamızda apelin verilen, DM+A grubunda K, K+A grubuna göre % vücut ağırlık artışıdaki azalmanın anlamlı olduğunu gözlemledik. Higuchi ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise 14 gün boyunca i.p. olarak 0.1 µmol/kg apelin verilen farelerin yemek alımında değişiklik oluşturmamasına rağmen beyaz yağ dokusunun miktarı, serum insülin ve trigliserit seviyeleri azalmıştır (Higuchi vd 2007). Aynı zamanda hem normal hem de yağ oranı yüksek diyetle beslenen farelerde de vücuttaki yağ oranı, serum insülin ve trigliserit seviyeleri de azalmıştır. Nedeni ise, i.p. olarak verilen apelin kahverengi yağ dokusunda uncoupling protein-1'in ekspresyonunu, vücut ısısını, oksijen tüketimini artırırken ve solunum katsayısını azaltır (Higuchi vd 2007). Bunun yanında apelinin güçlü diüretik etkiye sahip olduğu ve buna bağlı olarak ta su kaybına neden olarak kilo kaybı oluşturduğunu bildiren çalışma var (Reaux-Le vd 2004). Çalışmamızda dışarıdan apelin verilmesi K+A ve DM+A grubunda K'e göre TKA/SVA oranı artmıştır. Bu da apelinin pozitif inotropik etkisinden kaynaklanan bir durum olabilir. Daha önce yapılan çalışmalarda apelinin güçlü ve uzun ömürlü pozitif inotropik bir aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Chandrasekaran vd 2008).

Çalışmamızda hem DOCA-tuz hem de yağlı diyet ve alloksan verilerek oluşturulmuş hipertansiyon-tip 2 diyabetli sıçanlarda K grubuna göre, % vücut ağırlık artışında anlamlı azalma, kan basıncı, plazma ANG II, endotelin-1 seviyelerinde ve kan glikoz düzeylerinde anlamlı bir artış görürken plazma apelin, insülin, ACE 2 ve angiotensinojen seviyelerinde anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Ayrıca çalışma boyunca bu hayvanlarda, aşırı idrar çıkışı ve % 1'lik NaCl içeren sıvı tüketiminin arttığını gözlemledik. Bu sonuçlar sıçanlarda hipertansiyon tip 2 diyabet oluştuğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Son yıllarda yapılan bir çalışmada diyabetik hipertansif sıçanlarda, vücut ağırlığı ve trigliserit düzeyi farklılık gözlenmezken kan basıncı, plazma glikoz, insülin ve serbest yağ asitlerinin arttığı gösterilmiştir (Lu vd 2011). Yapılan başka bir çalışmada, streptozocin ve içme sularına % 1'lik NaCl verilerek hipertansiyon+diyabet oluşturulmuş sıçanlarda kan glikoz düzeyi ve kan basıncının arttığı, kan plazma ET-1 ve ANG II seviyelerinde artış olduğu gösterilmiştir.

Ayrıca böbreklerde angiotensinojen ve aort dokusunda preproendotelin gen ekspresyon düzeylerinin arttığı aynı çalışmada gözlenmiştir (Zhang vd 2009). Bunun yanında diyabetik spontan hipertansif sıçanlarda ortalama arteryel basınç ve vücut ağırlığı azalırken kan glikoz, renal NADPH oksidaz aktivitesi arttığı gösterilmiştir. Aynı zamanda bu hayvanlarda ET-1, ANG II ve norepinefrin düzeylerinin de arttığı bildirilmiştir (Benter vd 2008). Bu bilgiler bizim bulgularımızı destekler niteliktedir.

Hipertansiyon+diyabet grubumuzda plazma ACE 2 düzeyindeki artış kontrole göre anlamlı değilken K+A grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gözledik. Diyabetik hipertansif olgularda ACE 2 aktivitesini gösteren literatür çalışmaları sınırlıdır. Yapılan bir çalışmada diyabetik hipertansif sıçanlarda serum aldosteron ve ACE aktivitesinin arttığı gösterilmiştir. (Mohamed vd 2010). Bu bilgi bizim çalışmamızla uyumlu ve bizi destekler niteliktedir. Ayrıca bu grupta angiotensinojen düzeyinde K+A grubuna göre anlamlı bir artış bulunmaktadır. Bu fark kontrol hayvanlarına dışarıdan apelin verilmesi sonucunda angiotensinojen seviyesinde meydana gelen düşmeden kaynaklanmaktadır. Tüm çalışma gruplarımızda apelin verilmesi angiotensinojeni düşürmüştür.

Hipertansiyon+diyabet grubunda kontrole ve K+A grubuna göre kan basıncında anlamlı bir artış tespit ettik. Sonuçlarımız bu gruptaki sıçanlarda kan basıncındaki artışın sebebi plazma ANG II ve endotelin-1 düzeylerindeki artıştan kaynaklandığını göstermektedir. Literatür bilgilerine göre; ANG II'nin fizyolojik etkileri çoğunlukla AT-1 üzerinden gerçekleşmektedir. Vazokonstriksiyon, aldosteron salınımı, antidiüretik hormon sentezi, sempatik aktivasyon ve böbrek tübüllerinden tuz emilimi gibi etkilere sahip olan ANG II, kan basıncının artışına neden olmaktadır (Unger 2000). DOCA-tuz hipertansif sıçanlarda yapılan bir çalışmada ET-1'in plazma düzeylerinin arttığı, aort ve mesenterik arterlerinde ET-1 mRNA seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (Veeramani vd 2011). Yapılan çalışmalarda ANG II, endotelden endotelin 1 salınımını uyardığı gibi (Zeng vd 2004) ET-1'de sıçanların mezenterik arterlerinden ANG II serbestlenmesini aktive ettiği gösterilmiştir (Rakugi vd 1990). Aynı zamanda ET-1, jukstaglomerüler hücrelerden renin salınımını inhibe eder ve zona glomerulosa hücrelerinden aldosteron salınımını stimüle ettiği bilinmektedir (Rossi ve Sacchetto 1999, Schiffrin 2001).

Çalışmamızda, K grubuna göre, HT+DM grubunun plazma apelin düzeyindeki artmanın anlamlı olmadığı gözlemlendi. Ayrıca HT+DM grubunun kalp ve damar dokusunda K grubuna göre *apelin* ve *APJ* mRNA ekspresyon düzeylerinin arttığını tespit ettik. Diyabet ve hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda *apelin* ve *APJ* mRNA ekspresyon düzeylerinin çalışıldığı literatürdeki ilk çalışma olması nedeniyle bulgularımızı karşılaştırma olanağına sahip değiliz.

Hipertansiyon+diyabet oluşturulmuş sıçanlara apelin verildiğinde, HT+DM grubuna göre kan basıncında ve kan glikoz düzeyinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Ancak apelin verilmesi HT+DM+A grubunun kan basıncını ve kan glikoz düzeyini, K ve K+A grubunda olduğu gibi tamamen normal sınırlara düşürmemiştir. Apelin verilen hipertansif diyabetik sıçanlarda plazma ACE 2 düzeyindeki artış kontrole göre anlamlı değilken, K+A grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. İntraperitoneal apelin verilmesinin plazma ACE 2 üzerine etkisini gösteren literatürde çalışma bulunmamaktadır. Aynı sıçan grubunda ANG II ve ET-1 seviyesi kontrollere göre anlamlı değilken, HT+DM grubuna göre anlamlı olarak azaldığını gördük. Yine K, K+A ve HT+DM grubuna göre, HT+DM+A grubunda plazma angiotensinojen düzeyindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Bizim bulgularımıza göre HT+DM sıçanlara apelin verilmesi kan basıncını düşürmektedir. Kan basıncındaki bu düşüşün nedeni apelin verilmeyen HT+DM sıçanlara göre bu gruptaki sıçanların ANGIİ, angiotensinojen ve endotelin-1 düzeylerinde meydana gelen azalma olabilir.

Çalışmamızda, HT+DM+A grubunun plazma apelin düzeyinde K+A grubuna göre anlamlı bir azalma gözlenirken, K ve HT+DM gruplarına göre anlamlı bir fark bulunmadı. Bunun yanında K+A grubuna göre HT+DM+A grubunun kalp dokusunda *apelin* mRNA ekspresyonu artarken *APJ* mRNA ekspresyonunun azaldığı, damar dokusunda ise *apelin* ve *APJ* mRNA ekspresyon düzeylerinin azaldığını tespit ettik. Bunun yanında HT+DM grubuna göre HT+DM+A grubunda kalp ve damar dokusunda hem *apelin* hem de *APJ* mRNA ekspresyon düzeyleri azalmıştır. Bizim çalışmamız buna yönelik literatürde yapılmış ilk çalışmadır. Kosmala ve ark. tarafından yapılan çalışmada, esansiyel hipertansiyonlu hastalarda dolaşımdaki apelin seviyesinin azaldığı gösterilmiştir ve bu plazma apelinin azalması sol ventrikül sistolik ve diyastolik fonksiyon bozukluğundan kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Komsala vd 2011). Ayrıca hipertansiyon oluşturulmuş hayvan modellerinde, miyokardiyal ve vasküler dokularda

apelin ve *APJ* ekspresyonunun ve plazma *apelin* seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (Zhang vd 2006). Zhong ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, spontan hipertansif sıçanların aort ve kalp dokusunda *APJ* ve *apelin* mRNA ekspresyonunun azaldığı ve *AT1* mRNA ve protein ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Bu sıçanlarda *apelin*-*APJ* ekspresyon yokluğunda *AT1* reseptör seviyesi ve kan basıncında artış görülmektedir (Zhong vd 2005). Diyabetik db/db fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, bu farelerin aort dokusunda *apelin*, *APJ* mRNA ve protein ekspresyonunun azaldığı ve fareler *apelin*le tedavi edildiğinde aort dokusunda Akt ve eNOS fosforilasyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca *apelin*, NO sentezinin aktivasyonu sebebiyle diyabetik db/db farelerin aortunda ANG II'nin vazokonstriktör cevaptaki artışını azalttığı ve bozulan endotelial bağımlı vazodilatasyonu düzenlediği yapılan bu çalışmada gösterilmiştir (Grisk 2007). Başka bir çalışmada insülin dirençli yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin adipoz dokusunda *apelin* ve *APJ* ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. İskelet kasında *apelin* ekspresyonu kontrol ve yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde aynıken db/db farelerde azalmıştır. *APJ* ekspresyonu ise hem db/db farelerde hem de yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde azaldığı aynı çalışmada gözlenmiştir (Dray vd 2010).

HT+DM+A grubumuzdaki sıçanların kan glikoz düzeyi HT+DM grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Yine bu grupta K ve K+A grubuna göre plazma insülin düzeyindeki azalma anlamlı değilken, HT+DM grubuna göre azalmanın anlamlı olduğu görüldü. *Apelin*in insülin sekresyonunu inhibe ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada *apelin* eksikliği olan hayvan modellerinde insülin duyarlılığının azaldığı ve bu durum ekzojen *apelin* verilmesiyle düzeltilebileceği gösterilmiştir. Buna göre ekzojen *apelin*, artan plazma glikoz konsantrasyonunu azaltabilir. Bu etkileri insülin dirençli hayvanlarda koruyucu olabilir. Bu artan glikoz alınımına bağlı olan hücrel mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. *Apelin*in, Akt gibi insülin bağımlı yolların fosforilasyon komponentleri sayesinde glikoz alınımını arttırdığı bilinmektedir (Sörhede vd 2005).

Çalışmamızda HT+DM grubunda K grubuna göre TKA/SVA oranları açısından anlamlı bir fark gözlenmezken, K+A grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. Ayrıca HT+DM+A grubunda kontrole göre TKA/SVA oranı anlamlı olarak artarken K+A grubuna göre anlamlı bir fark yoktur. Ancak *apelin* ve kalp ağırlığı arasındaki ilişkiyi gösteren bir literatür bilgisi olmaması nedeniyle sonuçlarımızı karşılaştırma

olanağına sahip değiliz. Çalışmamızda apelin verilen, HT+DM+A grubunda K grubuna göre % vct ağırlık artışındaki azalmanın anlamlı olduğunu gözlemledik. Çalışmamızda dışarıdan apelin verilmesi K+A ve HT+DM+A grubunda K'e göre TKA/SVA oranı artmıştır. Bu da apelinin pozitif inotropik etkisinden kaynaklanan bir durum olabilir. Daha önce yapılan çalışmalarda apelinin güçlü ve uzun ömürlü pozitif inotropik bir aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Chandrasekaran vd 2008).

6. SONUÇ

Sonuç olarak araştırmamızda:

1. Apelin verilen gruplarda kendi kontrollerine göre kan basıncı azalmıştır. Bu sonuçlara göre i.p. uygulamasının kan basıncını dūřürdüđünü söyleyebiliriz.
2. Çalışmamızda % VA artışı kendi kontrollerine göre apelin verilen kontrol, diyabet gruplarında değişmemiş, HT azalmış ve HT+DM artmıştır. Buna göre değişik koşullarda apelinin ağırlık artışı üzerine etkilerinin farklı olabileceğini söyleyebiliriz. Yine bu çalışmada TKA/SVA oranı kendi kontrollerine göre apelin verilen K ve HT+DM artmış, HT ve DM de değişmemiştir. Bunun yanında K'e göre apelin verilen tüm gruplarda TKA/SVA oranı artmıştır. Buna göre ekzojen apelin verilmesinin TKA artırıcı etkisi olduğunu söyleyebiliriz.
3. Plazma ET-1 seviyeleri kendi kontrollerine göre apelin verilen K'de artmış, HT+DM azalmış, HT ve DM gruplarında değişmemiştir. Plazma ACE 2 seviyeleri kendi kontrollerine göre apelin verilen gruplarda değişmemiştir. Plazma ANG II seviyeleri kendi kontrollerine göre apelin verilen HT+DM grubunda azalırken diğer gruplarda değişmemiştir. Plazma angiotensinojen düzeyleri kendi kontrollerine göre apelin verilen K ve HT+DM azalırken HT ve DM gruplarında değişmemiştir. Tüm apelin gruplarında kontrole göre angiotensinojen düzeyi azalmıştır.
4. Kan glikoz ve insülin düzeyi apelin verilen K ve HT da kendi kontrollerine göre değişmezken, DM ve HT+DM durumunda azalmıştır. Sonuçlarımıza göre dışarıdan apelin verilmesinin özellikle diyabet durumunda kan glikozunu ve insülini azalttığını söyleyebiliriz.
5. Apelin verilen gruplarda kendi kontrolleriyle karşılaştırıldığında plazma apelin seviyeleri K ve HT grubunda artmış diğer gruplarda değişmemiştir. Bu durumda özellikle diyabette dışarıdan verilen apelinin plazma apelin seviyesini etkilemediğini söyleyebiliriz. Plazma apelin düzeyi apelin verilmeyen HT grubunda kontrole göre azalırken diğer gruplarda değişmemiştir.
6. Ayrıca kalp ve damar dokusundaki *apelin* mRNA ekspresyonu dışarıdan apelin verilmesi durumunda kendi kontrollerine göre K ve HT+DM grubunun kalp dokusunda azalırken HT ve DM grubunun kalp dokusunda artmıştır. Yine apelin verilen HT+DM grubunun damar dokusunda *apelin* mRNA ekspresyonu azalırken diğer apelin verilen gruplarda artmıştır. Apelin verilen gruplarda APJ

reseptör ekspresyonu HT grubunun kalp dokusunda artarken diğer gruplarda azalmıştır. Damar dokusunda ise apelin verilen K ve HT gruplarında artarken DM ve HT+DM grubunda azalmıştır.

7. Apelin verilmemiş HT grubunda kontrole göre kalp dokusunda *apelin* mRNA ekspresyonu azalırken DM ve HT+DM grubunda artmıştır. Damar dokusunda ise DM ve HT+DM grubunda artarken HT grubunda *apelin* mRNA ekspresyonu azalmıştır. Yine apelin verilmeyen HT grubunun kalp ve damar dokularında kontrole göre *APJ* mRNA ekspresyonu azalmış diğer gruplarda artmıştır.
8. Bu sonuçlarımıza göre hipertansiyonda *apelin* ve *APJ* mRNA ekspresyon miktarı azalırken diyabette ise artmaktadır. Buna ilaveten dışarıdan apelin verilmesi değişik koşullarda *apelin* ve *APJ* mRNA düzeyleri üzerine etkilerinin farklı olabileceğini söyleyebiliriz

KAYNAKLAR

- Ahlborg, G., Weitzberg, E., Lundberg, J. M. (1994) Endothelin-1 infusion reduces splanchnic glucose production in humans. *J Appl Physiol.*, 77: 121-126.
- Ak, G., Buyukberber, S., Sevinc, A., Turk, H. M., Ates, M., Sari, R., Savli, H, Cigli, A. (2001) The relation between plasma endothelin-1 levels and metabolic control, risk factors, treatment modalities, and diabetic microangiopathy in patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*, 15: 150-157.
- Altındal, Ş. (2006) Diyabetik Olmayan Hipertansif Hastalarda İnsülin Direnci., Uzmanlık Tezi, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5. İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul, 52s.
- Ammarguella, F. A., Larouche, I., Schiffrin, F. (2001) Myocardial fibrosis in DOCA-salt hypertensive rats: effect of endothelin ETA receptor antagonism. *Circulation*, 103: 391-404.
- Andersen, C. U., Markvarn, L. H., Hilberg, O., Simonsen, U. (2009) Pulmonary apelin levels and effects in rats with hypoxic pulmonary hypertension. *Respiratory Medicine*, 103: 1663-1671.
- Arauz-Pacheco, C., Parrott, M. A., Raskin, P. (2002) The treatment of hypertension in adult patients with diabetes. *Diabetes Care*, 25: 134-47.
- Arıcı, M., and Çağlar, Ş. (2002) Hipertansiyon ve oluşturduğu sorunlar. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(1): 4-9.
- Ashley, E. A., Powers, J., Chen, M., et al. (2005) The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc. Res.*, 65(1): 73-82.
- Ashley, E., Chun, H. J., Quertermous, T. (2006) Opposing cardiovascular roles for the angiotensin and apelin signaling pathways. *J Mol Cell Cardiol*, 41: 778–81.
- Aubert J, Darimont C, Safonova I, Ailhaud G, Negrel R. Regulation by glucocorticoids of angiotensinogen gene expression and secretion in adipose cells. *Biochem J* 1997;328:701– 6.
- Bagi, Z., Erdei, N., Toth, A., Li, W., Hintze, T. H., Koller, A., and Kaley, G. (2005) Type 2 diabetic mice have increased arteriolar tone and blood pressure: enhanced release of COX-2-derived constrictor prostaglandins; *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 25: 1610-1616.
- Bai, B., Tang, J., Liu, H., Chen, J., Li, Y., Song, W. (2008) Apelin-13 induces ERK1/2 but not p38 MAPK activation through coupling of the human apelin receptor to the Gi2 pathway. *Acta Biochim. Biophys. Sin*, 311-318.

- Barnett, A.H. (1994) Diabetes and hypertension. *Br. Med Bull*, 50(2): 397-107.
- Begum, N., Duddy, N., Sandu, O., Reinzie, J., and Ragolia, L. (2000) Regulation of myosin bound protein phosphatase by insulin in vascular smooth muscle cells. Evaluation of the role of Rho kinase and PI3-kinase dependent signaling pathways. *Mol. Endocrinol.*, 14: 1365–1376.
- Bell, R. H., and Hye, R. J. (1983) Animal Models of Diabetes Mellitus: Physiology and Pathology. *Journal of surgical Research*, 35: 433-460.
- Beltowski, J. (2006) Apelin and visfatin: unique “beneficial” adipokines upregulated in obesity? *Med. Sci. Monit.*, 12(6): RA112-9.
- Benter, I. F., Yousif, m. H. M., Dhaunsi, G. S., Kaur, J., Mark C. Chappell, M. C., Diz, D. I. (2008) Angiotensin-(1–7) Prevents Activation of NADPH Oxidase and Renal Vascular Dysfunction in Diabetic Hypertensive Rats. *Am J Nephrol.*, 28: 25-33.
- Berköz, M., and Yalın, S. (2008) Yağ dokunun immünolojik ve inflamatuvar fonksiyonları. *Mersin Univ. Sağlık Bilim. Derg.*, 1(1):1-9.
- Bernstein, K.E., Howard, T. E., Shai, S. Y., Longford, K.G., Bologh, R. (1992) Tissue specific expression of angiotensin converting enzyme. *Agents Actions Suppl*, 38: 376-83.
- Berry, M. F., Pirolli, T. J., Jayasankar, V., Burdick, J., Morine, K.J., Gardner, T.J., Woo, Y. J. (2004) Apelin has in vivo inotropic effects on normal and failing hearts. *Circulation*, 14(110): II187-93.
- Bhatia, J., Tabassum, F., Sharma, A. K., Bharti, S., Golechha, M., Joshi, S., Sayeed Akhtar, M., Srivastava, A. K., Arya, D. S. (2011) *Emblica officinalis* exerts antihypertensive effect in a rat model of DOCA-salt-induced hypertension: role of (p) eNOS, NO and oxidative stress. *Cardiovasc. Toxicol.*, 11(3): 272-9.
- Bindom, S. M., Hans, C. P., Xia, H., Boulares, A. H., Lazartigues E. (2010) Angiotensin I–Converting Enzyme Type 2 (ACE2) Gene Therapy Improves Glycemic Control in Diabetic Mice. *Diabetes*, 59(10): 2540-8.
- Bohm, F., Pernow, J., Lindstrom, J., Ahlborg, G. (2003) ETA receptors mediate vasoconstriction, whereas ETB receptors clear endothelin-1 in the splanchnic and renal circulation of healthy men. *Clin. Sci.*, 104: 143-51.
- Brenner, B. M. (2002) Remission of renal disease: Recounting the challenge, acquiring the goal. *J. Clin. Invest.*, 110: 1753-58.
- Boucher, J., Masri, B., Daviaud, D., et al. (2005) Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*, 146(4): 1764-71.
- Boylan, J. M., Brautigan, D. L., Madden, J., Raven, T., Ellis, L., Gruppuso, P. A. (1992) Differential regulation of multiple hepatic protein tyrosine phosphatases in alloxan diabetic rats. *J. Clin. Invest.*, 90: 174-179.

- Burt, V. L., Whelton, P., Roccella, E. J., Brown, C., Cutler, J. A., Higgins, M., Horan, M. J., Labarthe, D. (1995) Prevalence of hypertension in the US adult population. *Hypertension*, 25: 305-13.
- Caro, J. (1991) Insulin Resistance In obese and Nonobese Man. *J.Clin. Endocrin. and Metab.*, 73(4): 691-695.
- Carretero, O. A., Oparil, S. (2000) Essential hypertension. Part 1: definition and etiology. *Circulation*, 25;101(3):329-35).
- Castan-Laurell, I., Boucher J., Dray, C., Daviaud, D., Guign'e, C., Valet P. (2005) Apelin, a novel adipokine over-produced in obesity: Friend or foe? *Molecular and Cellular Endocrinology*, 245:7-9.
- Chandler, M. P., and Dicarlo, S. E. (1998) Acute exercise and gender alter cardiac autonomic tonus differently in hypertensive and normotensive rats. *Am. J. Physiol.*, 274: R510- R516.
- Chandrasekaran, B., Dar, O., McDonagh, T. (2008) The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *Eur. J. Heart Fail*, 10(8): 725-32.
- Chang, C. Z., Wu, S. C., Lin, C. L., Hwang, S. L., Howng, S. L., Kwan, A. L. (2010) Atorvastatin preconditioning attenuates the production of endothelin-1 and prevents experimental vasospasm in rats. *Acta Neurochir*,152(8): 1399–1406.
- Chen, M. M., Ashley, E. A, Deng D. X. (2003) Novel role for the potent endogenous inotrope apelin in human cardiac dysfunction. *Circulation*, 23;108(12): 1432-9.
- Cheng, X., Cheng, X. S., Pang, C. C. (2003) Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 470(3): 171–5.
- Choe, W., Albright, A., Sulcove, J., Jaffer, S., Hesselgesser, J., Lavi, E., Crino, P., Kolson, D. L. (2000) Functional expression of the seven-transmembrane HIV-1 co-receptor APJ in neural cells. *Journal of Neurovirology*, 6: S61-9.
- Contarteze, R., Mota, C., Oliveira, C., Leme, J., Bottcher, J., Mello, M., Luciano, E. (2009) Exercise test and glucose homeostasis in rats treated with alloxan during the neonatal period or fed a high calorie diet. *Journal of Diabetes*, 1: 65–72.
- Cooke, J. P., and Dzau, V. (1997) Nitric oxide synthase: Role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev. Med.*, 48: 489-509.
- Cooper, M. E. (2003) The Prevalence of Hypertension In Patients with Diabetes. In: Mogensen E. (Ed). *Hypertension and Diabetes*. Lippincott Williams & Wilkins, London, Vol 2: Chapter 1:3-10.

- Cox, C. M., D'Agostino, S. L., Miller, M. K., Heimark, R.L., Krieg, P. A. (2006) Apelin, the ligand for the endothelial G-protein-coupled receptor, APJ, is a potent angiogenic factor required for normal vascular development of the frog embryo. *Dev. Biol.*, 296(1): 177-89.
- Dai, T., Ramirez-Correa, G., Gao, W. D. (2006) Apelin increases contractility in failing cardiac muscle. *Eur. J. Pharmacol.*, 553(1-3): 222-8.
- Day, C., and Bailey, C.J. (2011) Obesity in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes: The Islet Beta Cell. *British Journal of Diabetes and Vascular Disease*, 11(2): 55-61.
- DeArtinano, A. A., Gonzalez, L. M. (1999) Endothelial dysfunction and hypertensive vasoconstriction. *Pharmacological Research*, 40(2): 113-124.
- Deedwania, P.C. (2000) Endotelium: A new target for cardiovascular therapeutics. *J. Am. Coll Cardiol.*, 35: 67-70.
- DeFronzo, R. A., Bonadonna, R. C., Ferrannini, E. (1997) Pathogenesis of NIDDM; A balanced overview. *Diabetes Care*, 15(3): 318-368.
- De Mota, N., Lenkei, Z., Llorens-Cortes, C. (2000) Cloning, pharmacological characterization and brain distribution of the rat apelin receptor. *Neuroendocrinology*, 72: 400-407.
- De Mota, N., Reaux-Le, G. A., El Messari, S., Chartrel, N., Roesch, D., Dujardin, C., Kordon, C., Vaudry, H., Moos, F., Llorens-Cortes, C. (2004) Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *The National Academy of Sciences*, 13;101(28): 10464-9.
- Del Prato, S., Leonetti, E., Simonson, D. C., Sheehen, P., Matsuda, M., DeFronzo, R. A. (1994) Effect of sustained physiologic hyperinsulinemia and hyperglycemia on secretion and insulin sensitivity in man. *Diabetologia*, 37: 1025-1035.
- Devic, E., Rizzoti, K., Bodin, S., Knibiehler, B., Audigier, Y. (1999). Amino acid sequence and embryonic expression of *msr/apj*, the mouse homolog of *Xenopus X-msr* and human APJ. *Mech. Dev.*, 84(1-2): 199-203.
- De Vriese, A. S., Verbeuren, T. J., Van De Voorde, J., Lameire, N. H., Vanhoutte, P. M. (2000) Endothelial dysfunction in diabetes. *Br. J. Pharmacol.*, 130(5): 963-974.
- Dray, C., Knauf, C., Daviaud, D., Waget, A., Boucher, J., Buléon, M., Cani, P. D., Attané, C., Guigné, C., Carpené, C., Burcelin, R., Castan-Laurell, I., Valet, P. (2008) Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin resistant mice. *Cell Metab.*, 8: 437-445.

- Dray, C., Debard, C., Jager, J., Disse, E., Daviaud, D., Martin, P., Attané, C., Wanecq, E., Guigné, C., Bost, F., Tanti, J. F., Laville, M., Vidal, H., Valet, P., Castan-Laurell, I. (2010) Apelin and APJ regulation in adipose tissue and skeletal muscle of type 2 diabetic mice and humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 298: E1161-E1169.
- D'Orleans-Juste, P., Labonte, J., Bkaily, G., Choufani, S., Plante, M., Honore, J. C. (2002) Function of the endothelin (B) receptor in cardiovascular physiology and pathophysiology. *Pharmacol. Ther.*, 95: 221-38.
- Edwards, C. R. W. (2001) Primary Mineralocorticoid excess syndromes. In *Endocrinology*, 3: 1821-1844.
- Edinger, A., Hoffman, T., Sharron, M., Lee, B., Yi, Y., Choe, W., et al. (1998) An orphan seven-transmembrane domain receptor expressed widely in the brain functions as a coreceptor for human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus. *J. Virol.*, 72(10): 7934-40.
- Elijovich, F., Laffer, C. L., Gavras, H., Bresnakan, M. R., Schiffrin, E. L. (2001) Regulation of plasma endothelin by salt in salt-sensitive hypertension. *Circulation*, 103:263-268.
- Erdem, G., Dogru, T., Tasci, I., Sonmez, A., Tapan, S. (2008) Low plasma apelin levels in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 116: 289-292.
- Endemann, D. H., Schiffrin, E. L. (2004) Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol.*, 15: 1983-92.
- Falcao-Pires, I., Leite-Moreira, A. F. (2005) Apelin: a novel neurohumoral modulator of the cardiovascular system. Pathophysiologic importance and potential use as a therapeutic target. *Rev. Port. Cardiol.*, 24(10): 1263-76.
- Falcao-Pires, I., Goncalves, N., Henriques-Coelho, T., Moreira-Goncalves, D., Roncon Albuquerque, R., Leite-Moreira, A. F. (2009) Apelin decreases myocardial injury and improves right ventricular function in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 296: 2007-2014.
- Faraci, F. M., Heistad, D. D. (1998) Regulation of the cerebral circulation: role of endothelium and potassium channels. *Physiol. Rev.*, 78(1): 53-97.
- Feng, L., Qing Yuan, L. (2010) Effects of different dose of FK506 on endocrine function of pancreatic islets and damage of beta cells of pancreatic islets in a Wistar rat model. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 32(2): 333-338.
- Frontoni, S., Bracaglia, D., Gigli, F. (2005) Relationship between autonomic dysfunction, insulin resistance and hypertension in diabetes. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 15(6):441-9.

- Fruhbeck, G., Gomez-Ambrosi, J., Muruzabal, F. J., Burrell, M. A. (2001) The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signalling in energy metabolism regulation. *Am J. Physiol Endocrine Metab.*, 280: E827-E847.
- Gabriely, I., Yang, X. M., Cases, J. A., Ma, X. H., Rossetti, L. Barzilai, N. (2001) Hyperglycemia modulates angiotensinogen gene expression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 281: R795-R802.
- Gardiner, S. M., Kemp, P. A., Bennett, T., Palmer, R. M. J, Moncada, S. (1992) Nitric oxide synthase inhibitors cause sustained, but reversible, hypertension and hindquarters vasoconstriction in Brattieboro rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 213: 449-451.
- Gareth B., Japp A. G., Newby D. E. (2010) Translational promise of the apeline APJ system. *Heart*, 96: 1011-1016.
- Garvey, W. T, Birnbaum, M. J. (1993) Cellular insulin action and insulin resistance. *Baillieres Clinical Endocrinology and Metabolism*, 7:785-873.
- Gedik, O. (1996) Diabetes Mellitusun Patogenezi. In: *Endokrinoloji*. 1.baskı. Koloğlu S. ed. *Medikal Network*, 395-408.
- Grisk, O. (2007) Apelin and vascular dysfunction in type 2 diabetes. *Cardiovascular Research*, 74: 339-340.
- Goa, K. L., Haria, M., Wilde, M. I. (1997) Lisinopril. A review of its pharmacology and use in the management of the complications of diabetes mellitus. *Drugs*, 53(6): 1058-81.
- Gómez-Guzmán, M., Jiménez, R., Sánchez, M. Zarzuelo, M. J., Galindo, P., Quintela, A. M., López-Sepúlveda, R., Romero, M., Tamargo, J., Vargas, F., Pérez-Vizcaíno, F., Duarte, J. (2012) Epicatechin lowers blood pressure, restores endothelial function, and decreases oxidative stress and endothelin-1 and NADPH oxidase activity in DOCA-salt hypertension. *Free Radical Biology & Medicine*, 52: 70-79.
- Guo, L., Li, Q., Wang, W., Yu, P., Pan, H., Li, P., Sun, Y., Zhang, J. (2009) Apelin inhibits insulin secretion in pancreatic β -cells by activation of PI3-kinase-phosphodiesterase 3b. *Endocrine Research*, 34(4): 142-154.
- Gurzu, B., Petrescu, B. C., Costuleanu, M., Petrescu, G. (2006) Interactions between apelin and angiotensin II on rat portal vein. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.*, 7(4): 212-6.
- Guyton, A. C., and Hall, J. E. (2006) Dolaşım Sistemi; Arter basıncının uzun süreli düzenlenmesi ve Hipertansiyonda böbreklerin baskın rolü. *Endokrin Sistemi; İnsülin, Glukagon ve Diyabetes Mellitus*. Tıbbi Fizyoloji, (Çeviri editörleri: Çavuşoğlu H, Çağlayan Yeğen B), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s220-223; s972-977.

- Haack, D., Mohring, J., Mohring, B., Petri, M., Hackenthal, E. (1977) Comparative study on development of corticosterone and DOCA hypertension in rats. *Am J. physiol renal Physiol.*, 233: F403-411.
- Haah, T., Jungmann, E., Felber, A., et al. (1992) Increased plasma levels of endothelin in diabetic patients with hypertension. *Am J Hypertens.*, 5: 161-166.
- Habata, Y., Fujii, R., Hosoya, M. (1999) Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochim Biophys Acta*, 1452(1): 25-35.
- Han, S., Wang, G., Qiu, S., Motte, C., Wang, H. Q., Gomez, G., et al. (2007) Increased colonic apelin production in rodents with experimental colitis and in humans with IBD. *Regul Pept.*, 142(3): 131-7.
- Härndahl, L., Jing, X., Ivarsson, R., et al. (2002) Important role of phosphodiesterase 3B for the stimulatory action of cAMP on pancreatic beta-cell exocytosis and release of insulin. *J Biol Chem.*, 4;277(40): 37446-55.
- Harrison, T. R. Çeviri: Sağlıkler. Y. (2004) İç Hastalıkları prensipleri Nobel Tıp Kitabevleri Cilt 2.
- Heinonen, M. V., Purhonen, A. K., Miettinen, P., Pääkkönen, M., Pirinen, E., Alhava, E., Akerman, K., Herzig, K. H. (2005) Apelin, orexin-A and leptin plasma levels in morbid obesity and effect of gastric banding. *Regul. Pept.*, 15;130(1-2): 7-13.
- Higuchi, K., Masaki, T., Gotoh, K., Chiba, S., Katsuragi, I., Tanaka, K., Kakuma, T., Yoshimatsu, H. (2007) Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology*, 148(6): 2690-7.
- Hodroj, W., Legedz, L., Foudi, N., Cerutti, C., Bourdillon, M. C., Feugier, P., Beylot, M., Randon, J., and Bricca, G. (2007) Increased Insulin-Stimulated Expression of Arterial Angiotensinogen and Angiotensin Type 1 Receptor in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Atheroma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 27: 525-531.
- Horiuchi, Y., Fujii, T., Kamimura, Y., Kawashima, K. (2003) The endogenous, immunologically active peptide apelin inhibits lymphocytic cholinergic activity during immunological responses. *J. Neuroimmunol*, 144(1-2): 46-52.
- Hosoya, M., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Fujii, R., Habata, Y., Hinuma, S. (2000) Molecular and functional characteristics of APJ: tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J. Biol. Chem.*, 275(28): 21061-7.
- Hsieh, T. J., Zhang, S. L., Filep, J. G., Tang, S. S., Ingelfinger, J. R., Chan, J. S. D. (2002) High glucose stimulates angiotensinogen gene expression via reactive oxygen species generation in rat kidney proximal tubular cells. *Endocrinology*, 143: 2975–2985.

- Irlbeck, M., Zimmer, H. G. (1996) Functional responses of the left and right heart of diabetic rats to α - and α -adrenergic receptor stimulation. *Diabetes Res Clin Pract.*, 31(1): 79-86.
- Irving, R. J., Noon, J. P., Watt, G. C., Webb, D. J., Walker, B. R. (2001) Activation of the endothelin system in insulin resistance. *Q J Med.*, 94: 321-326.
- Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, Nishiwaki S, Iguchi T, Harada S, et al. (2004) Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo. *J Biol Chem.*, 279: 26274-9.
- İrer, S. V., Alper, G. (2004) Experimental Models of Diabetes Mellitus. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2(3): 127-136.
- Jaouhari, J. T., Lazrek, H. B., Jana, M. (2000) The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 69:17-20.
- Jiang, Z. Y., Zhou, Q. L., Chatterjee, A., et al. (1999) Endothelin-1 modulates insulin signaling through phosphatidylinositol 3-kinase pathway in vascular smooth muscle cells. *Diabetes*, 48: 1120-1130.
- Jing, Ai., Ning, Wang., Mei, Yang., Zhi-Min, Du., Yong-Chun, Zhang., Bao-Feng, Yang. (2005) Development of Wistar rat model of insulin resistance. *World J Gastroenterol.*, 11(24): 3675-3679.
- Johnson, R. J., Schreiner, G. F. (1997) Hypothesis: The role of acquired tubulointerstitial disease in the pathogenesis of salt-dependent hypertension. *Kidney International*, 52: 1169-1179.
- Kagiyama, S., Fukuhara, M., Matsumura, K., Lin, Y., Fujii, K., Lida, M. (2005) Central and peripheral cardiovascular actions of apelin in conscious rats. *Regul. Pept.*, 125(1-3): 55-9.
- Kahn, R. (1987) Insulin resistance, insensitivity and unresponsiveness. A necessary distinction. *Metabolism*, 27(2): 1893-1902.
- Kahn, S. E , Prigeon, R. L., Mcculloch, D. K. (1993) Quantification of the relationship between insulin sensitivity and B-cell function in human subjects: evidence for a hyperbolic function. *Diabetes* 1993; 42:1663-1672.
- Kälin, R. E., Kretz, M. P., Meyer, A. M., Kispert, A., Heppner, F. L., Brändli, A. W. (2007) Paracrine and autocrine mechanisms of apelin signaling govern embryonic and tumor angiogenesis. *Dev. Biol.*, 15; 305(2): 599-614.
- Kaplan, N.M. (1998) Primary hypertension: Pathogenesis. in *Clinical Hypertension*, Williams & Wilkins, 7th edition, pp. 41-99.
- Kaplan, N. M. (1997) Systemic hypertension. Mechanisms and diagnosis. Braunwald E. *Heart disease*. Philadelphia, WB Saunders Company, 811-816.

- Karasu, Ç., Öztürk, Y., Altan, N., Yıldızoglu-Arı, N., İkizler, C., Altan, V. M. (1990) Thyroid hormones mediated effect of insulin on alloxan diabetic rat atria. *Gen Pharmacol.*, 21(5): 735-740.
- Kannel, W. B. (1996) Blood pressure as a cardiovascular risk factor: Prevention and treatment. *JAMA*, 275: 1571-1576.
- Kathleen, M. G. (2005) Mineralocorticoid receptors and hormones: fishing for answers *endocrinology*, 146(1): 44-46.
- Katholi, R. E., Naftilon, A. J. (1980) Importance of renal sympathetic tone in development of DOCA-salt hypertension in rat. *Hypertension*, 2: 266-72.
- Kawamata, Y., Habata, Y., Fukusumi, S., Hosoya, M., Fujii, R., Hinuma, S., Nishizawa, N., Kitada, C., Onda, H., Nishimura, O., Fujino, M. (2001) Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochim. Biophys. Acta*, 23;1538(2-3): 162-71.
- Kawamura, M., Ohgawara, H., Naruse, M., et al. (1992) Increased plasma endothelin in NIDDM patients with retinopathy. *Diabetes Care*, 15: 1396-1397.
- Keynan, S., et. al. (2004) increased expression of endothelin-converting enzyme-1c isoform in response to high glucose levels in endothelial cells. *J Vasc Res*, 41(2):131-40.
- Khan, M. A., et. al. (1999) upregulation of endothelin A receptor sites in the rabbit diabetic kidney: potential relevance to the early pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nephron*, 83(3): 261-7.
- Kılbaş, S. (2006) L-NAME hipertansif ratlarda lisinoprilin beyinde lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi., *Tıpta uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, Isparta*, 85 s.
- Kleinz, M. J., Davenport, A. P. (2005) Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacol Ther.*, 107(2): 198-211.
- Kleinz, M. J., Skepper, J. N., Davenport, A. P. (2005) Immunocytochemical localisation of the apelin receptor, APJ, to human cardiomyocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Regul. Pept.*, 126 (3): 233-40.
- Kleinz, M. J., Davenport, A. P. (2004) Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial cells. *Regul. Pept.*, 15;118(3): 119-25.
- Kralisch, S., Klein, J., Blüthner, M., et al. (2005) Therapeutic perspectives of adipocytokines. *Expert Opin Pharmacother.*, 6: 863-72.
- Kornitzer, M., Dramaix, M., De Backer, Guy. (1999) Epidemiology of risk factors for hypertension-Implication for prevention and therapy. *Drugs*, 57(5): 695-712.

- Kosmala, M., Kotwica, T., Mysiak, A., Komsala, W. (2011) Reduced circulating apelin in essential hypertension and its association with cardiac dysfunction. *Journal of Hypertension*, 29: 971-979.
- Kosugi, R., Shioi, T., Watanabe-Maeda, K., Yoshida, Y., Takahashi, K., Machida, Y., and Izumi, T. (2006) Angiotensin II receptor antagonist attenuates expression of aging markers in diabetic mouse heart; *Circ. J.*, 70: 482-488.
- Kuba, K., Zhang, L., Imai, Y., Arab, S., Chen, M., Maekawa, Y., Leschnik, M., Leibbrandt, A., Markovic, M., Makovic, M., Schwaighofer, J., et al. (2007) Impaired heart contractility in Apelin gene-deficient mice associated with aging and pressure overload. *Circ. Res.*, 17; 101 (4): e32-42.
- Kulics, J. M., Collins, H. L., Dicario, S. E. (1999) Postexercise hypotension is mediated by reductions in sympathetic nerve activity. *Am J. Physiol.*, 276: H27-H32.
- Ladeiras-Lopes, R., Ferreira-Martins, F., Leite-Moreira, A. F. (2008) The Apelinergic System: The Role Played in Human Physiology and Pathology and Potential Therapeutic Applications. *Arq. Bras. Cardiol.*, 90(5): 343-349.
- Lafçı-Erol, D., Altan, V. M., Öztürk, Y. (1994) Increase α -adrenergic responsiveness of alloxan diabetic rat atria: effects insulin therapy and thyroidectomy. *Gen Pharmacol.*, 25(3): 559-564.
- Lambrecht, N.W., Yakubov, I., Zer, C., Sachs, G. (2006) Transcriptomes of purified gastric ECL and parietal cells: identification of a novel pathway regulating acid secretion. *Physiol. Genomics*, 13;25(1): 153-65.
- Larouche, I., Schiffrin, E. L. (1999) Cardiac Mikrovasculature in DOCA-Salt Hypertensive Rats Effect of Endothelin ET_A Receptor Antagonism. *Hypertension*, 34(2): 795-801.
- Lee, D.K., Cheng, R., Nguyen, T., Fan, T., Kariyawasam, A. P., Liu, Y., Osmond, D. H., George, S. R., O'Dowd, B. F. (2000) Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J. Neurochem.*, 74: 34-41.
- Lee, D. K., Saldivia, V. R., Nguyen, T., et al. (2005) Modification of the terminal residue of apelin-13 antagonizes its hypotensive action. *Endocrinology*, 146:231-236.
- Lee, D. K., George, S. R., O'Dowd, B. F. (2006) Unravelling the roles of the apelin system: prospective therapeutic applications in heart failure and obesity. *Trends Pharmacol Sci.*, 27: 190-4.
- Letizia, C., Repossi, P., Sellini, M., Cerci, S. (1992) Serum ACE in diabetic retinopathy. *Int. J. Tis. Reac.*, 299-305.

- Lewington, S., Clarke, R., Qizilbash, N., et al. (2002) Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*, 360: 1903-13.
- Li, L., Yang, G., Li, Q., Tang, Y., Yang, M., Yang, H., Li, K. (2006) Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 114: 544-548.
- Lieberman, J., Aariona, S. (1980) Serum angiotensin converting enzyme (ACE) elevations in Diabetes Mellitus. *Ann Inter. Med.*, 93: 825-6.
- Longhurst, P. A., Kauer, J., Levin, R. M. (1991) The ability of insulin treatment to reverse or prevent the changes in urinary bladder function caused by streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Gen Pharmacol.*, 22(1): 305-311.
- Lu, X., Bean, J. S., Kassab, G. S., Rekhter, M. D. (2011) Protein Kinase C inhibition ameliorates functional endothelial insulin resistance and Vascular Smooth Muscle Cell hypersensitivity to insulin in diabetic hypertensive rats. *Cardiovascular Diabetology*, 10:48
- Mancia, G., De Backer, G., Dominiczak, A., Cifkova, R., Fagard, R., Germano, G., et al. (2007) Guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J. Hypertens.*, 25: 1105-87.
- Marre, M., Brenadet, P., Gallois, Y. (1994) Relationship between ACE gene polymorphism, plasma levels and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes*, 384-9.
- Masri, B., Knibiehler, B., Audigier, Y. (2005) Apelin signalling: a promising pathway from cloning to pharmacology. *Cell Signal.*, 17(4): 415-26.
- Masri, B., Morin, N., Pedebnarde, L., Knibiehler, B., Audigier, Y (2006) The apelin receptor is coupled to Gi1 or Gi2 protein and is differentially desensitized by apelin fragments. *J Biol Chem.*, 281: 18317-26.
- Mason, R. P., Kubant, R., Jacob, R. F., Malinski, P., Huang, X., Louka, F. R., Borowiec, J., Mizuno, Y., Malinski, T. (2009) Loss of arterial and renal nitric oxide bioavailability in hypertensive rats with diabetes: effect of beta-blockers. *Am J Hypertens.*, 22(11):1160-6.
- McNeil, J. H., Tahiliani, A. G. (1986) Diabetes-induced cardiac changes. *Trends Pharmacol Sci.*, 7: 364-367.
- Mc Kinlay, J., Marceau, L. (1992) Diabetes mellitus. *Lancet*, 356: 757-61.

- Medhurst, A. D., Jennings, C. A., Robbins, M. J., Davis, R. P., Ellis, C., Winborn, K. Y. (2003) Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem.*, 84(5): 1162-1172.
- Merlin, C. T., Christos, T., Wendy, M. B., Katarzyna, B., Zemin, C., Melinda, T. C., Karen, J. D., Mark, E. C., and Josephine, M. F. (2005) Interactions between Renin Angiotensin System and Advanced Glycation in the Kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 16: 2976-2984.
- Mohamed, R.H., Abdel-Aziz, H.R., Abd El Motteleb, D.M., Abd El-Aziz, T.A.(2010) Effect of RAS inhibition on TGF- β , renal function and structure in experimentally induced diabetic hypertensive nephropathy rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2865: 6.
- Moriyama, T., Oka, K., Ueda, H., and Imai, E. (2004) Nilvadipine attenuates mesangial expansion and glomerular hypertrophy in diabetic db/db mice, a model for type 2 diabetes; *Clin. Exp. Nephrol.*, 8: 230-236.
- Murray, C. J., Lope, A. D. (1996) Evidence-based health policy-lessons from the Global Burden of Disease Study. *Science*, 247: 740-743.
- Niu, M. J., Yang, J. K., Lin, S. S., Ji, X. J., Guo, L. M. (2008) Loss of angiotensin-converting enzyme 2 leads to impaired glucose homeostasis in mice. *Endocrine*, 34: 56-61.
- O'Carroll, A. M., Selby, T. L., Palkovits, M., Lolait, S. J. (2000) Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochim Biophys Acta*, 1492(1): 72-80.
- O'Dowd, B., Heiber, M., Chan, A., Heng, H., Tsui, L., Kennedy, J. (1993) A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, 136(1-2): 355-60.
- Onat, A., Şenocak, M., Örnek, E. (1991) Türk erişkinlerinde kalp hastalığı ve risk faktörleri taraması: 5. hipertansiyon ve sigara içimi. *Türk Kardiyol Derneği Arş.*, 19: 169-177.
- O'Shea, M., Hansen, M. J., Tatemoto, K., Morris, M. J. (2003) Inhibitory effect of apelin-12 on nocturnal food intake in the rat. *Nutr Neurosci.*, 6(3): 163-7.
- Ottosson-Seeberger, A., Lundberg, J. M., Alvestrand, A., Ahlberg, G. (1997) Exogenous endothelin-1 causes peripheral insulin resistance in healthy humans. *Acta Physiol Scand*, 161:211-220.
- Öztürk, Y., Altan, V. M., Yıldızoglu-Arı, N. (1996) Effect of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol Rev.*, 48(1): 69-112.

- Özüarı, A., Öztürk, Y., Yıldızoglu-Arı, N., Özçelikay, A. T., Altan, V. M. (1993) The effects of glyburide and insulin on the cardiac performance in rats with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Gen Pharmacol.*, 24(1): 165-169.
- Özçelikay, A. T., Altan, V. M., Yıldızoglu-Arı, N., Altinkurt, O., Onur, F., Öztürk, Y. (1993) Basal and histamine-induced gastric acid secretion in alloxan diabetic rats. *Gen Pharmacol.*, 24(1): 121-126.
- Özçelikay, A. T., Altinkurt, O., Öztürk, Y., Yıldızoglu-Arı, N., Altan, V. M. (1990) Biostatistical modeling of the effect of intravenous histamine-infusion on the rat gastric acid secretion. *J Pharmacol Methods.*, 24(3): 241-250.
- Öztürk, Y., Özçelikay, A. T., Altan, V. M., Altinkurt, O. (1991) Linear modeling of the effect of intravenous histamine infusion on rat gastric acid secretion: a biostatistical evaluation by splitting the time-effect curves. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*, 13(7): 463-469.
- Peggy, C. W., Hoogen, V., Feskens, E. J. M., Nagelkerke, N. J. D., et al. (2000) The relation between blood pressure and mortality due to coronary heart disease among men in different parts of the world. *N. Engl. J. Med.*, 342(4): 1-8.
- Pelc, L. R., Gross, G. J., Warltier, D. C. (1991) Mechanisms of coronary vasodilatation produced by bradykinin. *Circulation*, 83: 2048-56.
- Pickup, J. C., Williams. G. (2002) *Textbook of Diabetes* 2nd ed. Volume 1. Blackwell Science, Inc.
- Prince, P. S. M., Menon, V. P., Pari, L. (1998) Hypoglycaemic activity of *Syzygium cumibni* seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 61: 1-7.
- Principe, A., Melgar-Lesmes, P., Fernández-Varo, G., Del Arbol, L. R., Ros, J., Morales-Ruiz, M., Bernardi, M., Arroyo, V., Jiménez, W. (2008) The hepatic apelin system: A new therapeutic target for liver disease. *Hepatology*, 48 (4): 1193-1201.
- Piktin, S. L., Maguire, J. J., Bonner, T. I., Davenport, A. P. (2010) International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIV. Apelin Receptor Nomenclature, Distribution, Pharmacology, and Function. *Pharmacol. Rev.*, 62: 331-342.
- Ramanadham, S., Tenner, T. E. (1986) Chronic effects of streptozotocin diabetes on myocardial sensitivity in the rat. *Diabetologia.*, 29(10): 741-748.
- Rakugi, H., Tabuchi, Y., Nakamaiu, M., Nagano, M., Higashimori, K., Mikami, H., Ogihara, T. (1990) Endothelin activates the vascular renin-angiotensin system in rat mesenteric arteries. *Biochem Ins.*, 21: 867-872.
- Park, J. Y. et. Al. (2000) Induction of endothelin-1 expression by glucose: an effect of protein kinase C activation. *Diabetes*, 49(7): 1239-48.

- Raj L. (2001) Workshop: hypertension and cardiovascular risk factors: role of the angiotensin II–nitric oxide interaction. *Hypertension*, 37: 767-73.
- Rask-Madsen, C., King, G. L. Mechanisms of Disease: endothelial dysfunction in insulin resistance and diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007;3:46–56
- Rathod, S. P., Shah, N., Balaraman, R. (1997) Antihypertensive effect of dietary calcium channel and diltiazem, a calcium channel blocker on experimentally induced hypertensive rats. *Indian J. Pharmacol.*, 29: 99-104.
- Rayalam, S., Della-Fera, M. A., Krieg, P. A., Cox, C. M., Robins, A., Baile, C. A. (2008) A putative role for apelin in the etiology of obesity. *Biochem. Biophys Res. Commun*, 11;368 (3): 815-9.
- Reaven, G. M. (1988) Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37: 1595-607.
- Reaux, A., De Mota, N., Skultetyova, I. (2001) Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *J Neurochem.*, 77(4): 1085-96.
- Reaux-Le, G. A., Morinville, A, Bulet, A., Llorens-Cortes, C., Beaudet, A. (2004) Dehydration-induced cross-regulation of apelin and vasopressin immunoreactivity levels in magnocellular hypothalamic neurons. *Endocrinology*, 145(9): 4392-400.
- Roberto, Z., Baylis, C. (1998) Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension*, 32(6): 958-964.
- Ross, J. (1990) Cardiovascular System: Heart failure, hypertrophy, and other abnormal cardiovascular states, in Best and Taylor's *Physiological Basis of Medical Practice*, Williams & Wilkins, 12th edition, 315-318 s.
- Rossi, G. P., Colonna, S., Pavan, E., et al. (1999) Endothelin-1 and its mRNA in the wall layers of human arteries at vivo. *Circulation*, 99: 1147-1155.
- Rossi, G. P., Sacchetto, A., Cesari, M., Pessina, A. C. (1999) Interactions between endothelin-1 and the renin–angiotensin–aldosterone system. *Cardiovascular Research*, 43: 300-307.
- Ruggeri, P., Brunori, A., Cogo, C. E., Storace, D., Di Nardo, F., Burattini, R. (2006) Enhanced sympathetic reactivity associates with insulin resistance in the young Zucker rat. *Am J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 291(2): 376-82.
- Sakuma, I., Shundo, H., Togashi, H., Yoshioka, M., Saito, H., Nakamura, T., Fujioka, Y., Kitabatake, A., Levi, R. (1994) A chronic model of hypertension with increased sympathetic drive in the rat by inhibition of nitric oxide synthase, in *Biology of Nitric Oxide-3 Physiological and clinical aspects*. Portland Pres., 245-247 .
- Savarese, J. J., Berkowitz, B. A. (1979) α -adrenergic receptor decrease in diabetic rat hearts. *Life Sci.*, 25(24-25): 2075-2078.

- Saye JA, Cassis LA, Sturgill TW, Lynch KR, Peach MJ. (1989) Angiotensinogen gene expression in 3T3-L1 cells. *Am J Physiol.*, 256: C448–51.
- Seo, B., Omear, B. S., Siebenmann, R., Von Segersen, L., Luscher, T. F. () Both ET-A ve ET-B receptors mediate contraction to endothelin-1 in human blood vessel. *Circulation*, 89: 1203-1208 .
- Seyedabadi, M., Goodchild, A. K., Pilowsky, P. M. (2002) Site-specific effects of apelin-13 in the rat medulla oblongata on arterial pressure and respiration. *Auton Neurosci.*, 101(1-2): 32-8.
- Scheider, M. P., Hilgers, K. F., Klingbeil, A. U., John, S., Veelken, R., Schneider, R. E. (2000) Plasma endothelin is increased in early essential hypertension. *Am J. Hypertension*, 13: 579-585.
- Schiffrin, E. L., Sventek, P., Li, J. S., Turgeon, A., Reudelhuber, T. (1995) Antihypertensive effect of an endothelin receptor antagonist in DOCA-salt spontaneously hypertensive rats. *Br. J. Pharmacol.*, 115: 1377-1381.
- Schiffrin, E. L., Deng, L. Y., Sventek, P., Day, R. (1997) Enhanced expression of endothelin-1 gene in endothelium of resistance arteries in severe human essential hypertension. *J. Hypertens.*, 15: 57-63.
- Schiffrin, E. L. (2001) Role of Endothelin-1 in hypertension and vascular disease. *Am J. Hypertension*, 14: 83-89.
- Schneider, M., Hilgers, K. F., Arnfried, U., et al. (2000) Plasma endothelin is increased in early essential hypertension. *Am J. Hypertension*, 13: 579-585.
- Scobie, I. N. (1998) Acute complications of diabetes an atlas of diabetes mellitus. The Parthenon publishing, Newyork, 22-29 s.
- Scott, I. C., Masri, B., D'Amico, L. A., Jin, S. W., Jungblut, B., Wehman, A. M., Baier, H., Audigier, Y., Stainier, D. Y. (2007) The g protein-coupled receptor agr11b regulates early development of myocardial progenitors. *Dev. Cell*, 12(3): 403-13.
- Sheu, W., Jeny, C. Y., Fuh, M., Chen, Y. D., Reaven, G. M. (1996) Resistance to insulinmediated glucose disposal in patients with non insulin-dependent DM in the absence of obesity or microalbuminuria, a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.*, 81(3): 1156-9.
- Shulman, G. I. (2000) Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest.*, 106: 171-6.
- Shu-Xiang, Z., Hui, S., Wen-Jun, S., Guo-Zheng, J., Xi-Jun, W. (2010) Proteomic study of serum proteins in a type 2 diabetes mellitus rat model by Chinese traditional medicine Tianqi Jiangtang Capsule administration. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53: 1011-1014.

- Singh, R., Singh, A. K., Alavi, N., and Leehey, D. J. (2003) Mechanism of increased angiotensin II levels in glomerular mesangial cells cultured in high glucose. *J Am Soc Nephrol.*, 14: 873-880.
- Soriguer, F., Garrido-Sanchez, L., Garcia-Serrano, S., Garcia-Almeida, J. M., Garcia-Arnes, J., Tinahones, F. J., Garcia-Fuentes, E. (2009) Apelin levels are increased in morbidly obese subjects with Type 2 Diabetes Mellitus. *Obes Surg.*, 19: 1574–1580.
- Sowers, J. R. (2004) Insulin resistance and hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 286: H1597-H1602.
- Sowers, J. R. and Stump, C. S. (2004) Insights into the biology of diabetic vascular disease: what's new?; *Am. J. Hypertens.*, 17: 2S-6S.
- Sörhede Winzell, M., Magnusson, C., Ahrén, B. (2005) The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regul. Pept.*, 131(1-3): 12-7.
- Sun, Z. J., Zhang, Z. E. (2005) Historic perspectives and recent advances in major animal models of hypertension. *Acta Pharmacol. Sin.*, 26: 295-301.
- Sunter, D., Hewson, A. K., Dickson, S. L. (2003) Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neurosci Lett.*, 15;353(1): 1-4.
- Suzuki, J., Iwai, M., Nakagami, H., Wu, L., Chen, R., Sugaya, T., Hamada, M., Hiwada, K., Horiuchi, M. (2002) Role of angiotensin II-regulated apoptosis through distinct AT1 and AT2 receptors in neointimal formation. *Circulation*, 106: 847-853.
- Strawbridge, A. B., Elmendorf, J. S. (2006) Endothelin-1 impairs glucose transporter trafficking via a membrane-based mechanism. *J Cell Biochem.*, 97: 849–856.
- Szokodi, I., Tavi, P., Foldes, G., et al. (2002) Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ. Res.*, 91(5): 434-40.
- Şahinkaya, Y. (2008) Tip 2 diyabetik hastalarda mikrovasküler komplikasyon gelişimi ile plazma sCD146 düzeyi ilişkisi., *Uzmanlık Tezi, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul*, 86s.
- Taheri, S., Murphy, K., Cohen, M., et al. (2002) The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 291(5): 1208-12.
- Takahashi, K., Ghatei, M. A., Lam, H. C., O'Halloran, D. J., Bloom, S. R. (1990) Elevated plasma endothelin in patients with diabetes mellitus. *Diabetologia*, 33: 306-310.
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X. (1998) Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 251(2): 471-6.

- Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M. X., Kumaki, I., Zhang, W., Kumano, K., Fujimiya, M. (2001) The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept.*, 15;99(2-3): 87-92.
- Tikellis, C., Wookey, P. J., Candido, R., Andrikopoulos, S., Thomas, M. C., Cooper, M. E. (2004) Improved islet morphology after blockade of the renin-angiotensin system in the ZDF rat. *Diabetes*, 53: 989-997.
- Tipnis, S. R., Hooper, N. M., Hyde, R., Karan, E., Christie, G., Turner, A. J. (2000) A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem*, 275: 33238-33243.
- Turgut, S. (2005) Anjiotensin dönüştürücü enzim ve I/D polimorfizmi. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*, 12(4): 53-57.
- Türker, H. Hipertansif ve normotansif tip 2 diyabet hastalarında insülin direncinin karşılaştırılması., Uzmanlık Tezi, Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul, 128s.
- Unger, T. (2000) Neurohormonal modulation in cardiovascular disease. *Am Heart J.*, 139: 2-8.
- Ward, J. D. (1989) Diabetic neuropathy. *Br. Med. Bull.*, 45(1): 111-126.
- Watanabe, K., Sekiya, M., Tsuruoka, T., et al. (1999) Relationship between insulin resistance and cardiac sympathetic nervous function in essential hypertension. *J. Hypertens.*, 11: 1161-8.
- Watkins, D., Cooperstein, S. J., Fiel, S. (1979) Studies on the selectivity of alloksan for the b-cells of the islets of Langerhans: effect of pH on the in vitro action of alloksan. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 208: 184.
- Williams, R. S., Schaible, T. F., Scheuer, J., Kennedy, R. (1983) Effects of experimental diabetes on adrenergic and cholinergic receptors of rat myocardium. *Diabetes.*, 32(10): 881-886.
- Wingard, D. L., Barrett-Connor, E. (1995) Heart disease and diabetes. In: Haris, M. I., Cowie, C. C., Stern, M. P., Boyko, E. J., Reiber, G. E., Bennett, P. H. (eds), *Diabetes in America*. 2nd edition. Washington, DC, U.S. Govt. Printing Office, 429-48.
- Wu, S. Q., et. al. (2000) altered paracrine effect of endothelin in blood vessels of the hyperinsulinemic, insulin resistant obese Zucker rat. *Cardiovasc. Res.*, 45(4): 994-1000.
- Wysocki, J., Ye, M., Soler, M. J., Gurley, S. B., Xiao, H. D., Bernstein, K. E., Coffman, T. M., Chen, S., and Batlle, D. (2006) ACE and ACE2 activity in diabetic mice. *Diabetes*, 55: 2132-2139.

- Xie, H., Yuan, L. Q., Luo, X. H., Huang, J., Cui, R. R., Guo, L. J., Zhou, H. D., Wu, X. P., Liao, E. Y. (2007) Apelin suppresses apoptosis of human osteoblasts. *Apoptosis*, 12(1): 247-54.
- Valle, A., Hoggard, N., Adams, A. C., Roca, P., Speakman, J. R. (2008) Chronic central administration of apelin-13 over 10 days increases food intake, body weight, locomotor activity and body temperature in C57BL/6 mice. *J Neuroendocrinol.*, 20(1): 79-84.
- Veeramani, C., Al-Numair, K. S., Chandramohan, G., Alsaif, M. A., Pugalendi, K. V. (2011) Protective effect of *Melothria maderaspatana* leaf fraction on electrolytes, catecholamines, endothelial nitric oxide synthase and endothelin-1 peptide in uninephrectomized deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *J. Nat. Med.*, 10(1007): 11418-011-0621.
- Vickers, C., Hales, P., Kaushik, V., Dick, L., Gavin, J., Tang, J., Godbout, K., Parsons, T., Baronas, E., Hsieh, F., Acton, S., Patane, M., Nichols, A., Tummino, P. (2002) Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase. *J. Biol Chem.*, 277: 14838-14843.
- Volpe, M., Sosa, E., Müller, F. B., Camargo, M. J. F., Glorioso, N., Laragh, J. H., Maack, T., Atlas, S. A. (1986) Differing hemodynamic responses to atrial natriuretic factor in two models of hypertension. *Am J. Physiol.*, 250: H871-H878.
- Ye, M., Wysocki, J., Naaz, P., Salabat, M. R., LaPointe, M. S., and Batlle, D. (2004) Increased ACE 2 and decreased ACE protein in renal tubules from diabetic mice: a renoprotective combination?; *Hypertension*, 43: 1120-1125
- Yenigün, M. (2001) Her Yönüyle Diabetes Mellitus. Nobel Tıp Kitabevi, 2. Baskı, İstanbul, 51-61, 63-7, 69-81, 215-17, 237-43.
- Yu, H., Rkugi, H., Higaki, J., Morishita, R., Mikami, Y., Ogihara, T. (1993) The rôle of activated vascular angiotensin II generation in vascular hypertrophy in one-kidney, one-clip hypertensive rats. *J. Hypertens.*, 11: 1347-1355.
- Yue, P., Jin, H., Aillaud-Manzanera, M., Deng, A. C., Azuma, J., Asagami, T., Kundu, R. K., Reaven, T., Quertermous, G. M., Tsao, P. S. (2010) Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 298: E59-E67.
- Zhang, J., Ren, C. X., Qi, Y. F., Lou, L. X., Chen, L., Zhang, L. K., et al. (2006) Exercise training promotes expression of apelin and APJ of cardiovascular tissues in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci.*, 79: 1153-1159.
- Zhang, B., Cheng, G., Liu, H. Y., Wang, L. L., Li, S. (2009) Establishment of a diabetic-hypertensive rat model. *Yao Xue Xue Bao.*, 44(6): 575-80.
- Zhong, J. C., Huang, D. Y., Liu, G. F., Jin, H. Y., Yang, Y. M., Li, Y. F., Xu-Hong Song, X. H., Du, K. (2005) Effects of all-trans retinoic acid on orphan receptor APJ signaling in spontaneously hypertensive rats. *Cardiovascular Research* 65: 743-750.

- Zhong, J. C., Yu, X. Y., Huang, Y., Yung, L. M., Lau, C. W., Lin, S. G. (2007) Apelin modulates aortic vascular tone via endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway in diabetic mice. *Cardiovasc. Res.*, 74(3): 388-95.
- Zeng, G., Nystrom, F. H., Ravichandran, L. V., Cong, L. N., Kirby, M., Mostowski, H., and Quon, M. J. (2000) Roles for insulin receptor, PI3-kinase and Akt in insulin-signaling pathways related to production of nitric oxide in human vascular endothelial cells. *Circulation*, 101: 1539-1545.
- Zhong, J. C., Huang, D. Y., Liu, G. F., et al. (2005) Effects of all-trans retinoic acid on orphan receptor APJ signaling in spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc. Res.*, 65 (3): 743-50.

ÖZGEÇMİŞ

24.01.1983 tarihinde Denizli’de dünyaya gelen Raziye Kurşunluoğlu AKCILAR, ilköğretimini Kayhan İlköğretim okulunda, orta öğretimini Kayhan Orta Okulunda, lise öğretimini ise Denizli Lisesinde tamamladı. Yüksek öğrenimine Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde devam ederek, 2003 yılında lisans diploması almaya hak kazandı ve 2007 yılında Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimini tamamlayarak doktora eğitime başladı. Yabancı dili İngilizce’dir, evlidir.

