

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİPERGLİSEMİNİN RAT AORT KASILMALARINDA
YAPABİLECEĞİ DEĞİŞİKLİKLERİN İZOLE ORGAN
BANYOSUNDA DEĞERLENDİRİLMESİ**

Soner DÖNMEZ

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Osman GÖKALP**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
1562-YL-06 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

**Tez No:
2008-İSPARTA**

KABUL VE ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 24.12.2008

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Osman GÖKALP

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye : Prof.Dr. Mehmet Numan TAMER

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye : Doç.Dr. Mehmet Kaya ÖZER

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

ONAY: Bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç.Dr. A.Diljin KEÇECİ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca her alanda desteklerini esirgemeyen ve engin tecrübeleriyle aydınlandığım hocalarım, Doç.Dr. Osman GÖKALP, Doç.Dr. Mehmet Kaya ÖZER ve Yrd.Doç.Dr. Ekrem ÇİÇEK'e, tezimin istatistiksel analizlerini yapmamda yardımcı olan Sayın Doç.Dr. H.Ramazan YILMAZ'a

Deneylerin yapılması sırasında ve yüksek lisans eğitimim süresince dostluklarını ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Mustafa DOĞAN ve Farmakoloji Anabilim Dalı araştırma görevlisi arkadaşlarıma

Tez çalışmamın biyokimyasal ölçümlerindeki yardımlarından dolayı Sayın Prof.Dr. Hüseyin VURAL'a ve biyokimya laboratuvarı çalışanlarına

Teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	vii
1. GİRİŞ	1
2. HİPERGLİSEMİ NEDİR?	2
2.1. Tokluk Hiperglisemisi	2
2.2. Diyabetes Mellitus	3
2.2.1. Sınıflama	4
2.2.2. Diğer DM Tipleri.....	6
2.3. Akut Hiperglisemi ve Mikrovasküler Komplikasyonlar.....	6
2.3.1. Nefropati	6
2.3.2. Retinopati	7
2.3.3. Nöropati	7
2.4. Akut hiperglisemi ve Makrovasküler Komplikasyonlar.....	8
2.4.1. Hiperglisemi ve Damar Hareketleri.....	8
2.4.2. Diyabette Kardiyovasküler ve Periferik Arter Hastalıkları.....	10
2.5. Muhtemel Patolojik Mekanizmalar.....	15
3. MATERYAL METOD	23
3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması.....	23
3.2. İzole Organ Banyosu Deneyleri	23
3.2.1. Aort Halkalarının Çıkarılması ve Organ Banyosuna Asılması	23
3.2.2. İzole Organ Banyosunda Aort Halkalarında Yapılan Deneyler	25
3.2.3. Biyokimya Laboratuvarında Yapılan Analizler	27
3.2.4. Deneylerde Kullanılan Maddeler.....	28
3.2.5. Deney Sonuçlarının Analizi	28
4. BULGULAR	29

4.1. Serotonin Kasılma Yanıtları.....	29
4.2. Fenilefrine Kasılma Yanıtları.....	29
4.3. KCl Kasılma Yanıtları	29
4.4. Malondialdehit Sonuçları.....	31
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	32
ÖZET.....	36
SUMMARY.....	37
KAYNAKLAR.....	38

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACh: Asetilkolin

AGE-RAGE: İleri glikozilasyon ürünleri ve reseptörü

DAG: Diaçil gliserol

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial

DECODE: Diabetes Epidemiology: Collaborative Analysis of Diagnostic Criteria in Europe

DM: Diyabetes mellitus

HbA1c: Glikolize hemoglobin

HNF: Hepatik nükleer faktör

HPLC: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

ICAM-1: İntrasellüler adezyon molekülü 1

IGT: Glukoz tolerans bozukluğu

KCl: Potasyum klorür

KVH: Kardiyovasküler hastalık

M: Molar

MDA: Malondialdehit

Mİ: Myokard infarktusu

mM: milimolar

MODY: Gençlikte erişkin tipi diyabet

NF- κ β : Nükleer faktör κ β

NO: Nitrik oksit

OGGT: Oral glukoz tolerans testi

PAI-1: Plazminojen aktivator inhibitör-1

PDGF: Trombosit kökenli büyüme faktörü

PKC: Protein kinaz C

TNF: Tümör nekroz faktörü

TRAP: Total radical trapping antiohidans parameter

UKPDS: United Kingdom Prospective Diabetes Study

ŞEKİLLER

Şekil 1: Normoglisemi ve hiperglisemi	2
Şekil 2: Diyabetin vasküler komplikasyonlarına katkıda bulunan metabolik yollar	16
Şekil 3: Hipergliseminin metabolik sonuçları	17
Şekil 4: Transduser	24
Şekil 5: İzole organ banyosu	24
Şekil 6: Proto Win programı ile kaydedilen kasılma cevaplarının ekran görüntüsü ..	26
Şekil 7: İzole rat aortu halkalarında Serotonin, Fenilefrin ve KCl'e kasılma yanıtlarında görülen değişiklikler	30
Şekil 8: Normoglisemik ve hiperglisemik ortamlarındaki MDA sonuçları	31

TABLolar

Tablo 1: Diyabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması	5
Tablo 2: Diyabette çıkabilen nöropatiler	7
Tablo 3: Hipergliseminin neden olduğu endotel fonksiyon bozukluğu için mekanizmalar	12
Tablo 4: İleri glikozilasyon son ürünleri etki mekanizması	19
Tablo 5: Gruplardaki aortik MDA seviyeleri	31
Tablo 6: Gruplar arası P değerleri	31

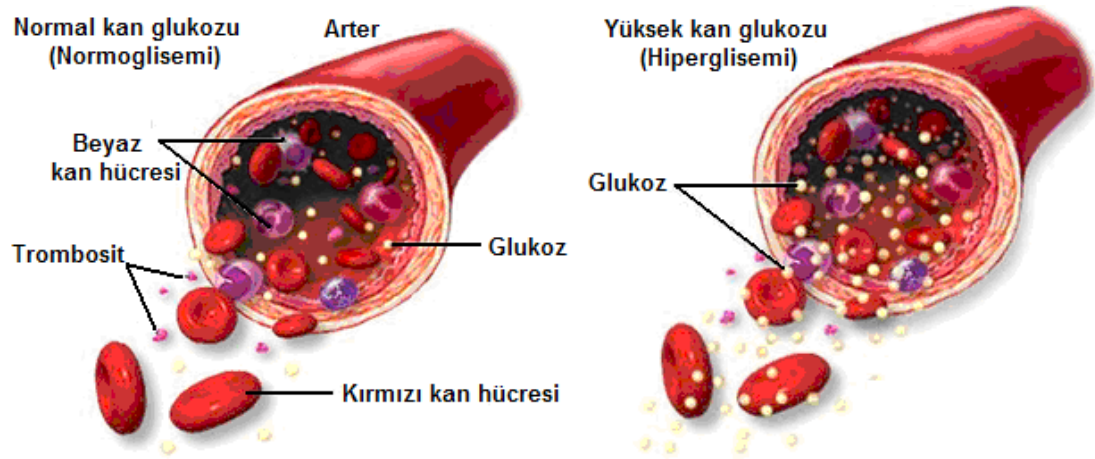
1. GİRİŞ

Hipergliseminin hayvan deneylerinde bir dizi enzimatik olan veya olmayan glukoz metabolizmalarını aktive ettiği düşünülmektedir. Daha önceden yapılan çalışmalar uzun süre kan glukoz düzeyinin yüksek kalmasına bağlı olarak endotel hücresi içinde yüksek konsantrasyonda glukoz yığılması olduğunu bildirmektedir. Endotel hücresinde biriken glukoz, polyol yolağının aktivitesini artırır ve böylece glukoz polyol yolağı ile sorbitole dönüşebilir. Sorbitol ise hücre membranını geçememektedir. Sonuç olarak hücre içerisinde fazla miktarda sorbitol birikimi olmaktadır. Fazla sorbitol birikimine bağlı olarak ozmotik denge değişmekte hücre içine su girişi artmaktadır. Böylece endotel hücresi şişmektedir. Ayrıca değişen ozmotik denge redoks reaksiyonlarını değiştirerek NADH/NAD⁺ oranını da arttırabilmektedir. Buna ilave olarak myoinozitol düzeyleri azalabilir. Polyol yolağının aktivitesinde artma antioksidan mekanizmaları zayıflatır. Buna bağlı olarak ta oksidatif strese karşı korumanın azalması, oksidatif mekanizmaların aktivitesinde, süperoksit anyonlarının üretiminde ve heksozamin yolağının aktivitesinde artmaya neden olabilir. Ayrıca stres cevaplarının başlamasının protein kinaz C yolağının aktivasyonunu sağlayabileceği ileri sürülmüştür.

Bizim çalışmamızın hedefi, bu bilgiler ışığında geçici hipergliseminin rat arterlerindeki kasılma yanıtlarında ne gibi değişiklikler yapabileceğini araştırmaktır. Bunun da klinikte hipertansiyon ve koroner arter hastalıkları gibi hastalıkları değerlendirmede önemli olduğunu düşündük.

2. HİPERGLİSEMİ NEDİR?

Hiperglisemi, kanda glukoz seviyesinin yükselmesiyle ifade edilen bir terimdir (Şekil 1). Devamlı yüksek kan glukozu, vücut yeterli insülin salgılayamadığında veya insülin uygun bir şekilde kullanılmadığı zaman olabilmektedir [1].



Şekil 1: Normoglisemi ve hiperglisemi [2]

Hiperglisemi kabaca ikiye ayrılabilir. Bunlar;

a) Açlık Hiperglisemisi: En az 8 saat yemek yemeyen bir kişideki yüksek glukoz seviyesidir,

b) Tokluk Hiperglisemisi: Bir kişi yemek yedikten sonraki 1 veya 2 saat sonra görülen yüksek glukoz seviyesidir [3].

2.1. Tokluk Hiperglisemisi

Tokluk kelimesi, burada öğün sonrası anlamında kullanılmaktadır. Tokluk hiperglisemisi ise bir yemek sonrası kan glukoz konsantrasyonunu ifade etmektedir. Glukoz konsantrasyonu diyetdeki karbonhidrat emilimi sebebiyle yemeğe başladıktan sonra yaklaşık 10 dakika sonra yükselmeye başlar. Tokluk hiperglisemisinin seyri bazı faktörlere bağlıdır. Bunlar; zaman, yemeğin muhtevası ve miktarı, yemeğin karbonhidrat içeriği, insülin ve glukagon salgılanması v.b. Hem diyabetik hem de diyabetik olmayan bireylerde herhangi bir öğünden sonra besinlerin emilimi 5-6 saat sürdüğünden dolayı tokluk glukoz ölçümü için en uygun zamanın ne olduğu tam kesin olarak bilinmemektedir. Ancak Amerikan Diyabet Vakfı'nın önerisi plazma

glukozunu öğüne başladıktan iki saat sonra ölçmektir. Diyabetli hastalarda genelde bu zaman diliminde plazma glukoz konsantrasyonunun en yüksek düzeyine ulaştığı düşünülmektedir [4].

Bu öneri son zamanlarda yapılan gözlemlerle de desteklenmiştir. Oral glukoz tolerans testi (OGTT)'nin ikinci saatinde ulaşılan glisemik seviye ile standart bir öğünden sonraki glisemik seviye hemen hemen aynı bulunmuştur. Bu bilgiler ışığında diyabette tokluk kan glukoz konsantrasyonu geniş ve hızlı bir artış göstermektedir [5].

Tokluk hiperglisemisi, açlık glukoz yükselmesinden 4–7 yıl önce ortaya çıkar ve bu diyabet için erken işaretlerden biridir [6]. Tokluk hiperglisemisi artık sadece diyabetik hastalar için değil aynı zamanda tüm toplumun da kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olarak tanımlanmaktadır. Balkau ve arkadaşları tarafından yapılan 3 Avrupa kohort çalışmasında OGTT'nin ikinci saatinde kan glukoz seviyelerini yüksek buldukları hastalarda 20 yıllık ölüm için 1,6 odds oranı saptamışlardır. Vegt ve arkadaşları diyabet olmayan hastalarda ikinci saatteki kan glukoz seviyeleri ile bütün nedenlere ve kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm için bağımsız risk faktörü olarak tanımlamışlardır [7].

2.2. Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus (DM) kısaca kanda uzun süreli hiperglisemi ile seyreden bir hastalık olarak tanımlanabilir. Bu günkü bilgilerimize göre çok farklı çeşitleri bulunan en yaygın metabolizma hastalığıdır. DM'un çeşitli tiplerinin oluşmasında genetik, çevresel faktörler ve hayat tarzının rolü olduğu bilinmektedir. DM'de kan glukoz düzeyinin yüksek kalmasına; insülinin kana salınımında azalma, kan glukozunun kullanımında azalma ve glukoz yapımında artma gibi faktörler sebep olabilir. DM'de vücutta, yüksek düzeyde glukoz ihtiva eden bir kan kompozisyonu dolaştığı için öncelikle kalp ve damarlar başta olmak üzere belkide tüm hücreleri ilgilendiren fizyopatolojik değişiklikler olmaktadır. Bu da en başta kişinin kendisine ve sonra da topluma önemli bir yük teşkil etmektedir. Maddi yönden ileri ülkelerde böbrek yetmezliğinin, nontravmatik alt ekstremitte amputasyonlarının ve erişkin

körlüklerinin başta gelen nedeni DM'dir [8]. DM'nin yaygınlığı sürekli olarak artmakta ve 30 yıl içerisinde diyabetli hasta sayısının iki katına çıkacağı tahmin edilmektedir. Yaklaşık 250 milyon kişinin (dünya yetişkin nüfusun yaklaşık %6'sı) DM'li olduğu sanılmaktadır [9]. DM dünya çapında başta gelen ölümlerin sebebi olarak görünmektedir. Son 20 yılda tüm dünyada DM görülme sıklığı belirgin bir şekilde artmıştır. ABD'de erişkinlerde 1976–1994 yılları arasında DM görülme sıklığı %8,9'dan %12,3'ye çıkmıştır. Bu rakam içinde tanısı konmuş ve henüz tanı almamış DM olguları vardır. Benzer şekilde, glukoz tolerans bozukluğu (IGT) aynı dönemde %6,5'dan %9,7'ye yükselmiştir. Dünyada her iki diyabet tipide artış göstermekle birlikte, Tip 2 DM artışı çok daha fazla olmaktadır. Bu durum hareketsizlik ve vücut ağırlığındaki artışa bağlanmıştır Erken gelişen kardiyovasküler hastalıktan dolayı DM'li bireylerin yaşam sürelerinde DM olmayanlara göre ortalama 5-10 yıl arasında bir azalma görülmektedir [10].

1998'de ABD'de DM tanı kriterlerine uyan kişi sayısı yaklaşık 16 milyondur ve bu rakam ülke nüfusunun %6'sını meydana getirmektedir. ABD'de her yıl yaklaşık 800000 kişide DM ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Bunların da büyük çoğunluğu (>%90) Tip 2 DM'dir. DM sıklığı yaşla beraber artmaktadır. 20–39 yaş grubunda %1,5 olan sıklık, 75 yaşından sonra %20'leri bulabilmektedir. DM oranı her iki cinstede aynı sıklıktadır ama 60 yaşından sonra erkeklerde biraz daha fazla görülmektedir [8].

2.2.1. Sınıflama

Diyabetin etiyolojisi ve patogenezinin giderek daha iyi anlaşılmasıyla, hastalığın sınıflaması da sürekli yenilenmektedir (Tablo 1). Gerçi DM'un tüm tiplerinde temel özellik hiperglisemi olmakla birlikte, hiperglisemiye neden olan fizyopatolojik mekanizma farklıdır [8]. DM insülin salgılanmasının eksikliğine bağlı Tip I ve insüline direnç gelişmesi ve uygunsuz insülin salınımının olduğu Tip II olmak üzere 2 alt gruba ayrılabilir [11].

Tablo 1: Diyabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması [8]

1. Tip 1 diyabetes mellitus (β -hücre harabiyeti olup, genellikle mutlak insülin eksikliği vardır)
a) İmmün tip
b) İdyopatik tip
2. Tip 2 diyabetes mellitus (insülin direnci ve nispi insülin eksikliği veya insülin sekresyon defekti ve insülin rezistansı olabilir)
3. Diğer spesifik diyabet tipleri
a) β -hücre fonksiyonlarında defekte yol açan mutasyonlar
i) Hepatosit nükleer transkripsiyon faktör 4 α (MODY 1)
ii) Glukokinaz (MODY 2)
iii) HNF-1 α (MODY 3)
iv) İnsülin promoter faktör (IPF)-1 (MODY 4)
v) HNF-1 β (MODY 5)
vi) Mitokondrial DNA
vii) Proinsülin veya insülin dönüşüm
b) İnsülin etkisinde genetik kusurlar
i) Tip A insülin direnci
ii) Leprechaunizm
iii) Rabson-Mendenhall sendromu
iv) Lipoatrofik diyabet
c) Pankreas hastalıkları: pankreatit, pankreatektomi, neoplazi, kistik fibrozis, hemokromatozis, fibrokalküloz pankreatopati
d) İlaçlar ve kimyasal maddeler: vakor, pentamidin, nikotik asit, steroidler, tiroid hormonları, diazoksit, beta adrenerjik agonistler, tiazidler, fenitoin, α -interferon, proteaz inhibitörleri, klozapin, beta blokerler
e) İnfeksiyonlar: konjenital kızamıkçık, sitomegalovirus, koksaki virüs
f) İmmün diyabetin diğer nadir şekilleri: stiff-man sendromu, antiinsülin antikolarlar
g) Diyabetin bazen eşlik ettiği nadir sendromlar: Down sendromu, Wolfram sendromu, Klinefelter sendromu, Fredreich ataksisi, Huntington koreası, Laurence-Moon-Biedl sendromu. Myotonik distrofi, porfiria, Prader -Willie sendromu
h) Endokrinopatiler: akromegali, cushing sendromu, glukogonoma, feokromazitoma, hipertiroidizm, somatostatinoma, aldosteronoma
4. Gestasyonel diyabetes mellitus

2.2.2. Diğer DM Tipleri

Diğer DM sebepleri arasında insülin salınım veya etkinliğindeki genetik bozukluklar, insülin etkisini bozan metabolik anormallikler ve glukoz intoleransına neden olabilen sebepler sayılmaktadır (Tablo 1). Gençlerin erişkin tipi diyabeti (MODY) otozomal dominant geçişli, erken yaşta başlayan hiperglisemi ve insülin sekresyon bozukluğuyla karakterize bir tablodur. İnsülin reseptör mutasyonları, şiddetli insülin direnciyle karakterize bir grup nadir hastalığa sebep olabilmektedir [8].

Gebelik sırasında glukoz intoleransı ortaya çıkabilir veya var olan bozukluk, ilk defa gebelikte kendini gösterebilir. Gebeliğin geç döneminde oluşan metabolik değişiklikler insülin direnci yapabildiğinden insülin ihtiyacı artabilir, hiperglisemi veya glukoz tolerans bozukluğu meydana gelebilir. Klinik gözlemlere göre bu tablonun çoğu doğumdan sonra normale dönmektedir [8].

2.3. Akut Hiperglisemi ve Mikrovasküler Komplikasyonlar

Hiperglisemi mikrovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmaya başlanılmıştır [12]. Kan glukoz konsantrasyonundaki hızlı artışlar diyabetik veya diyabetik olmayan bireylerde sıklıkla gözlenmektedir. Hiperglisemi normal insan homeostazisini hızlı bir şekilde değiştirebilmektedir [13].

2.3.1. Nefropati

Yüksek kan glukoz konsantrasyonu glomerüler hiperfiltrasyon oluşumuna katkı sağlayabilmektedir. Bu durum ise diyabetik böbrek hastalığının oluşumundan önceki olay olarak bilinir [14]. Diyabetik hastalarda kan glukozunda akut bir artışla glomerüler filtrasyon hızının artabileceği belirtilmektedir [15]. Bu durum proteinürili hastalarda normoalbuminürili hastalara göre daha ciddi bir değişikliktir [16, 17]. Örneğin akut hiperglisemi nefropatili hastalarda daha büyük bir etkiye neden olabilmektedir. İlginç olan akut hipergliseminin neden olduğu glomerüler filtrasyon hızındaki artış hem çok hızlı olmakta hem de hiperglisemi boyunca sürmektedir [18]. *In vitro* deneylerde mezansiyal hücrelerin aralıklı olarak yüksek

glukoz konsantrasyonuna maruz kalması fazla kollajen üretimi için kronik olarak maruz kalmasından daha ciddi bir uyarı oluşturabilir [19]. Mezanşiyal hücrelerin fazla kollajen üretimi için uyarılması diyabetik nefropati gelişiminde önemli rol oynamaktadır [20].

2.3.2. Retinopati

Dünya sağlık örgütü, tüm dünyadaki körlüklerin %5'nin sebebinin diyabetik retinopati olduğunu bildirmiştir. Diyabetik olan hemen herkeste 20 yıl içinde belli bir düzeyde göz hasarı gelişebilir. Ancak hastaların sadece %20-50'sinde görmeyi tehdit edici hastalık gelişmektedir [21]. Diyabetik retinopatinin oluşumu ve ilerlemesinde önemli bir etken retinal dolaşımın hiperperfüzyonudur [22]. Ayrıca bu alanda yapılan çalışmalar retinal perfüzyonun artmasında hipergliseminin önemli bir rol oynadığını göstermiştir [23]. Diyabetik hastalarda retina kan akımı, plazma glukoz konsantrasyonu ile yakın bir paralellik göstermektedir [24, 25].

2.3.3. Nöropati

Diyabetli hastalarda, tüm yaşamları boyunca kronik periferik nöropati gelişme riski %30-50'dir (Tablo 2).

Tablo 2: Diyabette çıkabilen nöropatiler [21]

Periferik Nöropatiler	Otonom Nöropatiler
Distal simetrik sensorimotor nöropati	Postural hipotansiyon
Femoral nöropati (amyotrofi)	Mesane disfonksiyonu
Mononöropatiler (oküler ya da turunkal)	Gastrik parezi
Basıya bağlı tutulum (Medyan, ulnar veya lateral)	Bölgesel terleme (alında, yüzde, kafa ve yemek sonrası boyunda)
	Konstipasyon ve/veya diare
	Gastrik parezi

Bu hastaların %10-20'sinde ciddi şikayetler gelişebilir. Periferik nöropati, ayak ülseri ve alt ekstremitte amputasyonuna neden olabilir. Erektile disfonksiyon, diyabetli

erkeklerin %50'sinde 50 yıl içinde gelişirken, diyabetik olmayan erkeklerde bu oran %15-20'dir. Diğer nöropatiler nadir görülür, ancak yaşam süresi ve kalitesi üzerinde önemli etkiye sahiptir [21].

Hiperglisemi diyabetik nöropati oluşumunda belirleyici bir faktördür. Birçok klinik çalışma, kan glukoz konsantrasyonunun kontrolüyle nöropatinin tipik belirtilerinin düzelebildiğini ve/veya durdurulabileceğini göstermiştir [26, 27, 28]. Diyabette hiperglisemi motor ve duyu sinir ileti hızının bozulmasına neden olabilir [29, 30]. Sinir fonksiyonlarının bozulmasında hipergliseminin doğrudan etkisi akut hiperglisemiye maruz kalan diyabeti olmayan bireylerde de bildirilmiştir [31, 32]. Akut hiperglisemi hem hayvan modellerinde hem de diyabetik hastalarda ağrı eşiğini düşürebildiği gibi diyabetik hastalardaki nöropatik ağrının oluşumunda da rol oynayabilir [33, 34].

2.4. Akut hiperglisemi ve Makrovasküler Komplikasyonlar

2.4.1. Hiperglisemi ve Damar Hareketleri

Damar kasılmasında glukozun etkileri hakkında çok az bilgi vardır. Kısa dönemde olmasına rağmen, yüksek glukoz seviyeleri glukoz transportunu arttıran kalsiyum bağımlı mekanizmaları inhibe edebileceğini bildiren çalışmalar vardır [35]. Bir çalışmada yüksek glukoz konsantrasyonlarında kasılma cevaplarında önemli azalmalar gözlenmiştir. Bu etkinin de muhtemelen düz kas hücrelerindeki glukoz transportunu arttıran mekanizmaların inhibisyonuna ikincil olarak geliştiği bildirilmektedir [36]. Ayrıca hiperglisemi fosfoinozitol metabolizmasını azaltarak kaslarda kasılmaya zarar verebilir [37, 38, 39].

Kısa dönemde hiperglisemi Tip 2 diyabetik hastalarda hipertansiyona katkıda bulunmayabilir. Fakat hiperglisemi uzun dönemde endotel aracılı damar gevşemesiyle sonuçlanan endotel üzerindeki zararlı tesirlerden dolayı damar rijiditesinde artmaya, fibronektin ve kollajen IV ün aşırı ekspresyonuna, kas hücre hiperplazisine ve damar dokusunun yeniden yapılanmasına sebep olabildiği

bildirilmiştir. Bu etkilerde uzun dönemde hem nefropatiye hem de hipertansiyona sebep olabilmektedir [40].

Akut hipergliseminin endotel fonksiyonu üzerine etkileri *in vitro* ve *in vivo* hayvan deneylerinde araştırılmıştır. Williams ve arkadaşları *in vivo* olarak sağlıklı ve diyabetik olmayan bireylerde akut hipergliseminin endotel bağımlı vazodilatasyonu azalttığını göstermişlerdir [41]. Tesfamariam ve arkadaşları tavşan aort halkalarını 44 mmol/L (790 mg/dl), 11 mmol/L (198 mg/dl) ve 5,5 mmol/L (99 mg/dl) glukoz içeren çözeltilerle inkübe etmişlerdir. 44 mmol/L glukoz içeren çözeltide bulunan aort halkalarının asetilkoline (ACh) olan endotel bağımlı gevşemelerde önemli derecede azalma olduğunu gözlemlemişlerdir [42]. Benzer şekilde Bolen ve Lash *in vivo* olarak 300 mg/dl (16,7 mmol/L) ve 500 mg/dl (27,8 mmol/L) glukoz konsantrasyonlarının ACh aracılığı ile olan vazodilatör cevapları önemli ölçüde azalttığını fakat sodyum nitro pürsit ile olan vazodilatör yanıtların azaltmadığını göstermişlerdir [43].

Yüksek glukoz konsantrasyonlarına maruz kalma endotel hücrelerini de içeren çeşitli hücrelerde novo diaçil gliserol üretimini uyarmaktadır. Bu uyarı da protein kinaz C (PKC)'nin aktivasyonuna eşlik etmektedir [34, 44]. PKC aktivasyonunun bir sonucu olarak, endotelden vazokonstriktör prostanoitlerin üretimindeki artmadan dolayı yükselmiş glukoz konsantrasyonlarında endotel aracılı gevşeme bozulabilmektedir [45]. ACh aracılı damar gevşemelerine endotel aracılı gevşeme faktörlerinin salınımı aracılık etmektedir [46]. Tesfamariam ve arkadaşları, diyabetik tavşanların aortları veya normal tavşanların aortlarının 6 saat yüksek glukoz konsantrasyonuna maruz bırakılmasının ACh'ye olan gevşeme yanıtlarını azalttığını bildirmişlerdir. Zarar gören gevşeme yanıtları her iki diyabet modelinde de siklooksijenaz ve prostaglandin endoperoksit/tromboksan A₂ reseptör blokörleri ile düzelmiştir. ACh aynı zamanda bu damar dokularından vazokonstriktör prostanoitlerin salınımında bir artma yapmaktadır [42, 47].

2.4.2. Diyabette Kardiyovasküler ve Periferik Arter Hastalıkları

Diyabet, kardiyovasküler hastalık (KVH) için önemli bir risk faktörüdür. KVH’larda glukozun patojenik rolü hem diyabetik olmayan hem de diyabetik hastalarda gerçekleştirilen epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir. Tip 2 diyabetli kişiler diyabeti olmayanlara göre 2–4 kez daha fazla KVH için risk taşırlar. Birçok ülkede hala iskemik kalb hastalığı mortalite sıralamasında ilk sıradadır. Önceden myokard infarktusu (Mİ) geçirmemiş bir diyabetikte Mİ riski, diyabeti olmayanlara göre %20 daha fazladır, buda önceden Mİ geçirmiş diyabetsiz kişinin riskine denktir. KVH için diğer bilinen risk faktörlerinin düzeltilmesinden sonra dahi KVH riski yüksek kalır. KVH riski, diyabetin süresi ve şiddeti ile de sıkı bir korelasyon gösterir [48]. Gerek DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) gerekse UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study) çalışma sonuçları makrovasküler komplikasyonların önlenmesinde iyi glisemik kontrolün mikrovasküler komplikasyonlardaki kadar belirgin olmasa da etkin olduğunu göstermiştir [49].

Diyabetiklerde biriken bu verilerin yanı sıra diyabeti olmayan fakat bozuk açlık hiperglisemisi, bozuk glukoz toleransı veya her ikisi birden olan kişilerde de diyabetin ortaya çıkmasını beklemeden kardiyovasküler riskin aşık bir şekilde arttığı gösterilmiştir. Amerikan Diyabet Vakfı’nın 1997 yılında diyabet tanısında öne sürdüğü kriterler hastaları hiperglisemi riskinden korumak için erken tanı konması ve özellikle de KVH riskinin hafif glisemik ortamda da artabileceğinin gösterilmesi sonucu gerekli bir adım olarak değerlendirilmekte ve hiperglisemi düzeyinin daha aşağılara çekilme düşüncesi giderek güçlenmektedir [48].

Epidemiyolojik veriler koroner arter hastalığı, inme, intermitant claudication gibi kardiyovasküler hastalıklarla hiperglisemi arasında belirgin bir ilişki göstermiştir. Risk artışı devamlı ve açlık plazma glukozu, postprandial glukoz ve HbA1c seviyeleri ile düzenli bir korelasyon göstermektedir [48].

Framingham çalışmasında diyabetik olmayan kadınlarda glukoz seviyeleri ile KVH arasında aşık bir ilişki gösterilirken erkeklerde benzer ilişki saptanamamıştır. Çeşitli çalışmalarda da diyabetli veya hiperglisemili kadınlarda kardiyovasküler risk

artışı erkektekinden daha yüksek bulunmuştur. Özellikle yüksek postprandial glukoz seviyelerinin KVH için bağımsız önemli bir risk faktörü olduğunu gösteren çalışmalar giderek artmaktadır. Hoorn çalışması Tip 2 diyabet için risk altındaki kişilerde ikinci saat postprandial glukoz seviyelerinin açlık glukozu ve HbA1c düzeylerine göre anormal intima-media kalınlığı ile birlikte olduğunu göstermiştir [50, 51].

Son zamanlarda yapılan bir çalışma da DECODE (Diabetes Epidemiology: Collaborative Analysis of Diagnostic Criteria in Europe) çalışmasıdır. Bu çalışmada 22 farklı Avrupa kohortundan 30–89 yaşları arasında, diyabet hikayesi olmayan 19377 erkek ve 10377 kadın ortalama 11 yıl takip edilmiştir. Çalışmanın en önemli sonuçlarından biri, KVH için bilinen risk faktörleri düzeltilmesinden sonrada bozuk açlık hiperglisemisinin KVH için bağımsız bir risk oluşturmazken ikinci saat postprandial hipergliseminin bağımsız olarak riski artırdığı bulunmuştur. Özellikle IGT'ye sahip olan kişilerde mortalite riskinin, yüksek açlık glukozu veya normoglisemisi olanlara göre çok daha fazla olması, IGT'nin kardiyovasküler hastalık ve mortalite için çok daha iyi bir belirleyici olduğunu göstermektedir [48].

Hipergliseminin vasküler sistem üzerinde etkilerini açıklamak için çeşitli teoriler öne sürülmüştür. Son yıllarda vasküler patolojilerde damar endotelinin de önemli rol oynadığı ortaya çıkmıştır. Özellikle hipergliseminin endotel üzerindeki etkileri KVH oluş mekanizmalarını açıklamak bakımından önemlidir. Tokluk durumundaki birçok değişim damar endotelini etkileyebilir. Hipergliseminin endotel üzerinde yaptığı bozukluklar Tablo 3'deki mekanizmalarla izah edilebilir [52].

Tablo 3: Hipergliseminin neden olduğu endotel fonksiyon bozukluğu için mekanizmalar [48]

PKC aktivasyonunda artma	Damarların proliferasyonunda artma, kontraksiyon değişikliği, sinyal iletim bozukluğu
Büyüme faktörlerinin ekspresyonunda artma	Düz kas hücresinin artmış proliferasyonu ve fenotipik değişiklik
Proteinlerin ve diğer moleküllerin (DNA gibi) artmış glikozilasyonu	Antijenitede değişim sonucu immünite ile ilgili değişiklik
Diaçil Gliserol sentezinde artma	Vazodilatasyon bozukluğu, vasküler düz kas hücre proliferasyonunda artma
PAI-1 artmış yapımı	Fibrinolizisin azalması, tromboza eğilim
Oksidatif stres	Nitrik oksit yapımının azalması, düz kas hücrelerinin vazokonstrüktif uyarıya cevabının artması, adezyon moleküllerinde artma, inflamasyonda artma

Hiperglisemi proteinlerin primer aminlerinin nonenzimatik yoldan glikolize olmalarına neden olabilir. Bu proteinler içinde özellikle albümin, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu uyarabilirler. Ek olarak, çapraz bağlı proteinlerin yıkım ürünleri makrofajların spesifik reseptörleri ile etkileşebilirler ve “platelet derive growth factor” (PDGF), TNF gibi vazoaktif ürünlerin ortama salınmasına neden olurlar. Proteinlerin nonenzimatik glikozilasyonu oksidatif ürünlerin yapımını artırabilir. Bunlar lipid ve proteinleri etkileyerek damar değişikliklerine ve harabiyete neden olurlar. Önemli bir olasılıkta hiperglisemi KVH risk faktörlerinden lipoproteinlerin etkisinin artmasına neden olabilir [48].

Hiperglisemi tarafından damar hücrelerinin sinyal iletiminde değişiklikler de kardiyovasküler komplikasyonlara neden olabilir. Damar dokusunda en iyi gösterilenlerden biri PKC aktivasyonudur. PKC aktivasyonu, vasküler geçirgenliğini, kontraktileti, hücre proliferasyonunu, bazal membran sentezini, trombosit agregasyonunu, makrofaj aktivasyonunu ve çeşitli sitokinler, hormonlar için sinyal mekanizmalarını düzenler [48].

Hiperglisemi diaçil gliserol (DAG) yapımını artırarak PKC'yi aktive edebilir. PKC'nin iyi bilinen iki fizyolojik düzenleyicisi DAG ve kalsiyumdur. Diyabetik hayvan çalışmalarında çeşitli damar dokularında hücre içi DAG seviyesi ve PKC aktivitesinin arttığı gösterilmiştir. Oksidan ve glikozilasyon ürünleri de PKC aktivasyonundan sorumlu olabilir [48].

PKC aktivatörlerinin hiperglisemi olduğu zaman damar fonksiyonlarında anormalliklere sebep olduğu buna karşın PKC inhibitörlerinin hem akut hiperglisemi de hem de diyabetik hayvan modellerinde damar fonksiyonlarındaki anormallikleri düzelttiği bulunmuştur [45, 53, 54, 55].

Diyabetik olmayan bireylerde tokluk durumun ateroskleroz gelişimine katkı sağladığını gösteren kanıtlar vardır [56]. Tokluk hiperglisemisinin aterosklerozla olan ilişkisi açlık glukozu veya HbA1c'den daha güçlüdür [57]. Tokluk glukoz yükselmeleri vücuttaki her bir organ için yapısal ve işlevsel glukoz aracılığıyla doku hasarına (oksidatif stres, glikozilasyon, ileri glikozilasyon son ürünleri) yol açabilir. Açlık ve tokluk glukoz seviyelerinin düşürülmesi HbA1c'nin azalmasına yol açarak bu komplikasyonları azaltır [7].

Mikhail N. ve arkadaşları tokluk hipergliseminin koroner arter hastalığı ile ilişkisinin bilinenden çok daha ötesinde olabileceğini söylemişlerdir ve yine buna ek olarak gestasyonel diyabetes mellituslu kadınlarda insülin dozlarının açlık kan şekere göre değil tokluk kan şekere göre ayarlandığında neonatal komplikasyon ve sezaryenle doğumda düşüş tespit etmişlerdir [58].

Trigliseritlerin kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir [59]. Tokluk durumda yapılan çalışmalar trigliseritlerin kardiyovasküler hastalıklar ve inme (stroke) için bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermiştir [60, 61, 62]. Plazma düşük dansiteli lipoprotein (LDL) konsantrasyonunda artma ile aterosklerotik damar hastalıklarının gelişme riskinde artma arasında bir korelasyon vardır [63]. Çeşitli araştırmalar akut kardiyovasküler hastalık riski ve aterosklerozda trombus oluşumunun rolü olduğunu göstermişlerdir

[64]. Ayrıca koagölasyon faktörü VII, kardiyovasküler hastalık riski gelişiminde bağımsız bir faktördür [65]. İnsanlar üzerinde yapılan diyet çalışmalarında faktör VII koagölün aktivitesi ile plazma trigliserit konsantrasyonu arasında bir bağlantı bulunmuştur [66, 67]. Son zamanlarda yapılan küçük çaplı çalışmalarda koroner kalp hastalığı olan hastalarda ve sağlıklı bireylerde “absorptive lipemia” esnasında faktör VII’nin aktive olduğu gösterilmiştir [68, 69]. Ayrıca faktör VII’nin aktivasyon derecesi plazma trigliserit artışı ile orantılıdır [70]. Bu sebepten koagölasyon ve plazma lipoproteinleri arasındaki ilişki önemlidir. Tokluk fazında trombotik eğilimde artış görülebilir [46, 71].

Diyabetik olmayan bireylerde tokluk durumunda ortaya çıkan kardiyovasküler risk faktörlerinin çoğu diyabette değişir ve glisemideki akut bir artıştan direkt olarak etkilenebilir [49]. Orta dereceli açlık hipertrigliseridemi obez olmayan Tip 2 diyabetik hastalarda tokluk durumunda aterojenik lipoprotein profilini yükseltebilir [72]. Diyabette trigliserit hiperglisemi ile ilişkilidir ve tokluk glukoz kontrolüyle tokluk trigliseritteki artmaları azaltılabilir [73, 74]. Diyabette LDL oksidasyonu metabolik kontrolle ilişkilidir ve LDL oksidasyonunun öğünlerden sonra arttığı bulunmuştur [75, 76, 77]. Bu da direkt olarak hipergliseminin derecesiyle alakalıdır [77]. Hem diyabetik hastalarda hem de sağlıklı bireylerde hiperglisemi pıhtılaşma faktör VII düzeyinde akut bir artış yapabilir [78]. Tip 2 diyabetik hastalarda tokluk fazında trombin aktivitesinde bir artış gözlenmiştir [79]. Ayrıca fibrinojen sentezi (diyabetik ve diyabetik olmayan bireylerde kardiyovasküler hastalıklar için güçlü bir risk faktörü) diyabetik hastalarda besin alımı esnasında artabilmektedir [80, 81].

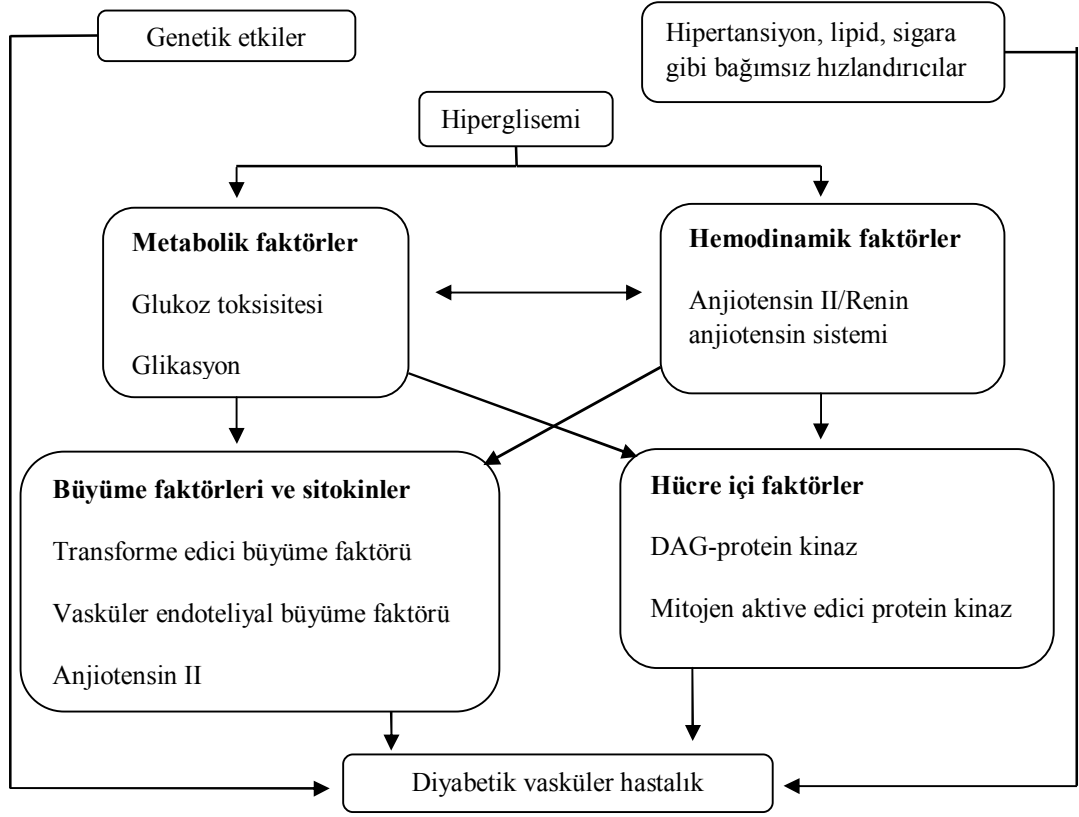
Adezyon molekülleri, endotel ve lökosit arasındaki etkileşimi düzenlemektedir [82]. Bu moleküller aterogenesis işleminde görev almaktadır. Endotel yüzeyinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunda bir artma özellikle monositlerde olmak üzere lökositlerin adezyonunu arttırmaktadır [83]. Bu olayın ise ateromaya neden olan süreçteki ilk olaylardan biri olduğu iyi bilinmektedir. Çeşitli proadezif proteinler arasında intrasellüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1) özel bir yere sahiptir. ICAM-1’in çözünen formu hücrelerde toplanır ve çeşitli uyarılardan sonra hızlı bir şekilde ekspre edilebilir [82]. Bu molekülün dolaşımdaki formu ise damar hastalığı olan

bireylerde ve damar hastalığı olan veya olmayan diyabetik bireylerde artabilmektedir [84, 85]. Sonuç olarak bu molekül aterojenik işlemlerin bir işaretçisi olabilir [86]. Hem normal hem de diyabetik bireylerde akut hiperglisemi dolaşımdaki ICAM-1 konsantrasyonunu arttırmak için yeterli bir uyarı oluşturabilir. Böylece aterojenik işlemlerin ilk adımlarından biri aktive olmuş olur [87, 88].

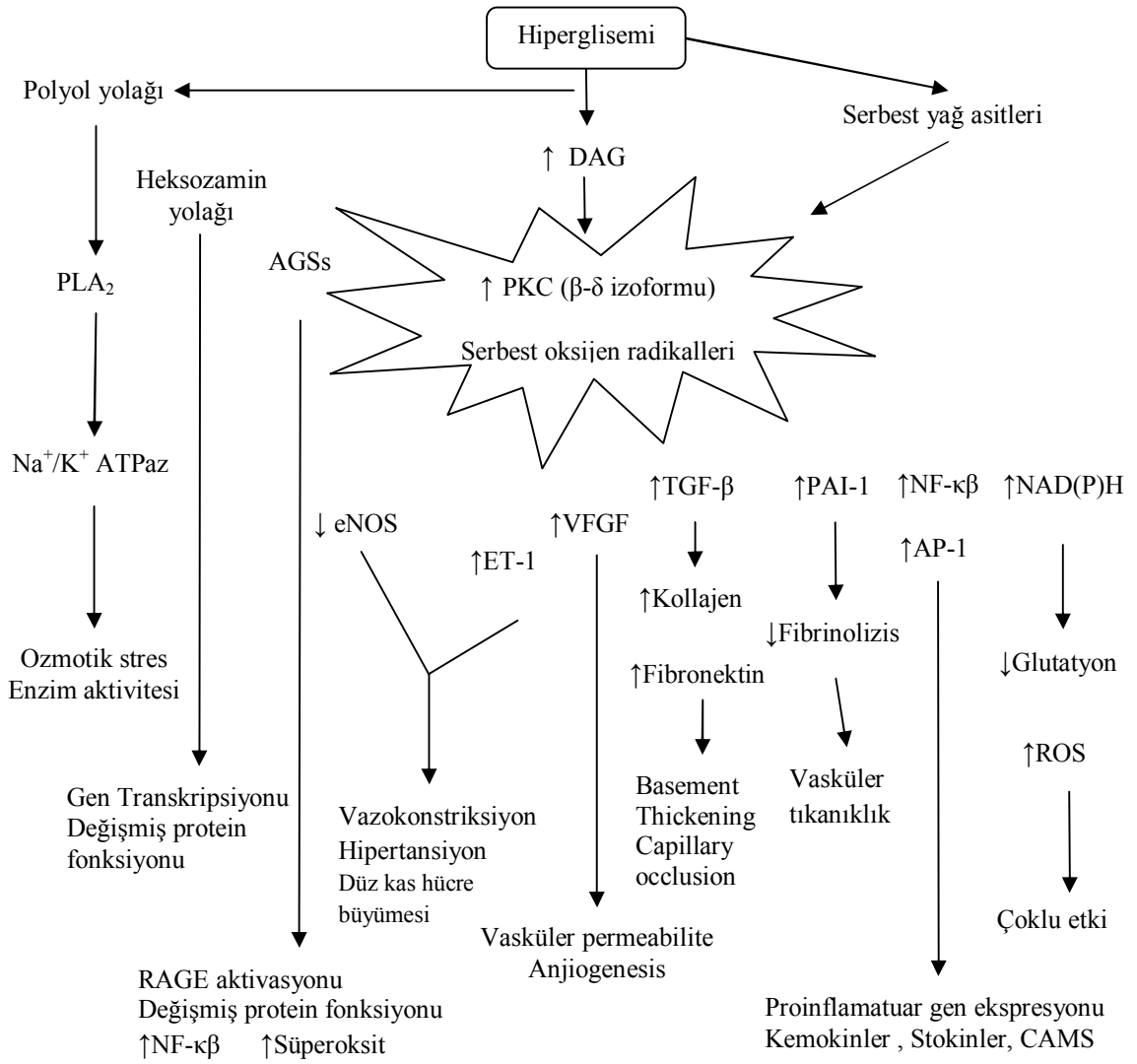
Akut hipergliseminin arteriyel duvarda hasarlanma yaptığının (oksidatif stres, endotel fonksiyon bozukluğu ve koagülasyon kaskadının aktivasyonu mekanizmalarıyla) deneysel çalışmalarda gösterilmesi üzerine Avrupa Diyabet Politikası Grubu (European Diabetes Policy Group) tokluk glukoz hedefini 135mg/dl'nin altı olarak belirlemiş ve bu seviye arteriyel riski ise azaltmaktadır. Tokluk glukoz seviyesi 160mg/dl'ı geçmedikçe mikrovasküler risk ise düşüktür [89].

2.5. Muhtemel Patojenik Mekanizmalar

Diyabetin hem metabolik hem de hemodinamik anormallikleri, komplikasyonların gelişimine katkıda bulunur. Hücre içinde gelişen hiperglisemi, glukoz alımını azaltmaz. Bu da biyokimyasal ve hemodinamik yolları uyarır (Şekil 2 ve 3). Sinyal molekülleri ve büyüme faktörlerinin aktivasyonu, doku hasarı ile sonuçlanır. Genetik faktörler ve eksternal hızlandırıcılar da ayrıca katkıda bulunur. Bu yolların aktive olmasının, mitokondriyal elektron transport zincirinde süperoksidin aşırı üretilmesi arasında bağlayıcı bir mekanizma olduğu öne sürülmüştür [21].



Şekil 2: Diyabetin vasküler komplikasyonlarına katkıda bulunan metabolik yollar [21]



Şekil 3: Hipergliseminin metabolik sonuçları [90]

Glisemideki hızlı bir artış çeşitli organ sistemlerinin fizyolojik homeostazisini değiştirebilir. Hiperglisemi muhtemelen nonenzimatik glikozilasyonu ve serbest radikal üretimini tetikler [91, 92]. Bu işlemler de hiperglisemi sırasında gözlenen anormalliklere katkı sağlayabilir [49].

Düzensiz glikozilasyonda, bir amino aside nonenzimatik bir bağla bağlanan glukoz Schiff gibi bir bileşiğe dönüşür. Bu reaksiyon glukoz konsantrasyonuna bağımlı ve geri dönüşümlüdür. Eğer molekülün işlevselliğinde reaksiyonla ilişkili amino asit temel ise onun aktivitesi azalacaktır. Bağ geri dönüşümlü olduğu için glukoz serum

konsantrasyonu düştüğü zaman protein aktivitesi düzelebilir. Birçok biyolojik bileşik için bu işlemin deneysel kanıtı bulunmaktadır [91].

Hipergliseminin işlevsel ve yapısal değişiklik oluşturma mekanizması hücre içi ve hücre dışında glukoz konsantrasyonun etkisi olarak ileri glikozilasyon son ürünleri artması ile karakterizedir. İleri glikozilasyon son ürünleri oluşumu hücre içinde hücre dışından daha hızlıdır. İleri glikozilasyon son ürünleri lipoproteinler ve proteinlerin glukoz ile nonenzimatik olarak bağlanması sonucunda oluşur. İleri glikozilasyon son ürünleri oluşma miktarı glukoz konsantrasyonu ve bunun süresi ile orantılıdır. İleri glikozilasyon son ürünleri ateroskleroz gelişimini reseptör ve reseptör dışı birçok mekanizma ile hızlandırır. İleri glikozilasyon son ürünlerinin endotelde reseptörüne bağlanması sonucunda gen ekspresyonunda değişiklikler meydana gelir ve bunun sonucunda endotel yüzeyinde prokoagulan aktivitede artma, damar duvarında inflamatuvar değişiklikler meydana gelebilir (Tablo 4) [7].

Tablo 4: İleri glikozilasyon son ürünleri etki mekanizması [7]

İnflamasyon
Sitokin artışı (TNF,IL-1)
Monosit kemotaksisi artışı
Hücre çoğalması
PDGF artışı
ILGF-1 artışı
Endotel hücre geçirgenlik artışı
Adezyon molekülleri artışı
Prokoagülan aktivite artışı
Hücre içi oksidatif stres artışı
Hücre dışı matrikse etki
<ul style="list-style-type: none"> • LDL nin endotel altına geçişi artışı • Matriks kollajen sentezi artışı • NO azalması
Lipoprotein modifikasyonu
<ul style="list-style-type: none"> • Glikolize LDL • LDL oksidatif modifikasyonu • LDL' nin reseptör tanınması azalması

Diyabetik koroner arter hastalarının aterom plaklarında ileri glikozilasyon son ürünleri birikimlerinin olduğu gösterilmiştir [93]. Son zamanlarda ileri glikozilasyon son ürünlerinin mikro ve makrovasküler komplikasyon oluşumundaki rolüne odaklanılmıştır. İleri glikozilasyon son ürünlerinin makrovasküler hastalık oluşturmasında birkaç potansiyel mekanizma tanımlanmıştır. Bunlar; monosit aktivasyonu, sitokin ve büyüme faktörü üretimi, bozulmuş endotelial fonksiyon, LDL'nin modifikasyonu ve nitrik oksit (NO) sentezinin azalması. İleri glikozilasyon

son ürünlerinin endotel ve düz kas hücresi üzerindeki reseptörlerine bağlanması (receptor of AGE, RAGE) transkripsiyon faktörlerinin artmasına (nükleer faktör $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) gibi) bununda hücre içi oksidatif stres artışına yol açmasına neden olur. İleri glikozilasyon son ürünleri çok heterojen bir gruptur; pyrraline, pentosidin, crossline ve carboxymethyllysine gibi. Kilhovd ve arkadaşları Tip 2 DM'li koroner arter hastalarında ileri glikozilasyon son ürünleri konsantrasyonunu koroner arter hastalığı olmayanlara göre belirgin şekilde yüksek bulmuşlardır [94].

Oksidatif stres diyabetik komplikasyonlarının çıkmasında önemli bir mekanizma olarak tarif edilmektedir [95]. Glukozdan serbest radikallerin üretimi biyokimyasal olarak üç yolla elde edilebilir.

- Düzensiz glikozilasyon [96]
- Glukozdan direkt bir şekilde otooksidasyon işlemi [97]
- Sorbitol yolağının aktivasyonu: Bu işlem sonucunda NADH/NAD⁺ sisteminde bir dengesizlik ve serbest radikal üretiminde bir artış olabilmektedir [98].

Oksidatif stresle glukoz arasındaki bağlantıyı en iyi açıklayan olay, hiperglisemi durumunda serbest radikallerin hücre içi üretiminin gösterilmesidir. Endotel hücresinde, GLUT 1 glukozu serbest olarak geçirme özelliği mevcuttur. Dolaşımdaki glukozu konsantrasyonuna bağlı olarak alabilen hücre bunu enerjiye dönüştürmeye çalışır. Bu olay şunu göstermektedir. Mitokondrial seviyede serbest glukoz akışı sadece enerji üretimine değil süperoksit anyonlarının üretimine de dönüşmektedir. Dolayısıyla glukoz konsantrasyonuna bağlı olarak serbest radikaller üretilebilir. Ve bu olayda glukoz serum konsantrasyonunda ani bir artışa paralel olarak akut oksidatif stres artabilir hipotezini güçlendirmektedir [99]. *In vivo* plazma süperoksit anyon konsantrasyonunun diyabetik hastalarda artması ve glisemi seviyesi ile korelasyon göstermesi de bu hipotezi desteklemektedir [100].

Yapılan çalışmalarda, kan glukoz konsantrasyonundaki akut bir artışın canlı organizmanın çeşitli sistemlerindeki fizyolojik homeostazise zarar verebileceği gösterilmiştir. Antioksidan sistemlerde bu zararlı etkilere karşı koymaya

çalışmaktadır [92]. Bu yüzden akut hiperglisemi oksidatif strese hem doğrudan hem de dolaylı şekilde sebep olabilir. Dolaylı kanıtlar; endotel fonksiyonu gibi hipergliseminin neden olduğu bazı etkilerin antioksidan kullanılmasıyla engellenebilmesi, koagülasyon aktivasyonu ve plazmada ICAM-1 düzeyinin artmasıdır [31, 87, 101, 102, 103]. Bu da akut hipergliseminin etkilerine serbest radikal üretiminin aracılık edebileceği görüşünü ortaya çıkarmaktadır [49]. Doğrudan kanıtlar oksidatif stres belirteçleri (total radical-trapping antioxidants parameter - TRAP-) üzerine akut hipergliseminin etkilerinin bir tahmini ile bağlantılıdır. Tip 1 ve Tip 2 diyabetik bireylerde azalmış TRAP aktivitesi rapor edilmiştir. Oral glukoz yüklemesi esnasında antioksidan korumanın azaldığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [104, 105, 106, 107]. Bu etki yemek sonrası gibi fizyolojik durumlarda da bulunabilir [108]. Hipergliseminin rolü bir hastaya iki farklı yemek verilerekte gösterilebilir. Bu deney, iki farklı tokluk hiperglisemi konsantrasyonu ile sonuçlanmaktadır. Antioksidan aktivitede daha fazla düşme daha yüksek hiperglisemi konsantrasyonu ile bağlantılıdır [77]. Diyabetik bireylerde LDL'ler tokluk fazda oksidasyona daha meyillidir [76]. Hatta bu durumda daha yüksek hiperglisemi konsantrasyonları daha büyük LDL oksidasyonu ile eşleştirilmektedir [77].

Tokluk hiperglisemisi oksidatif strese neden olarak kardiyovasküler hastalık riskini artırabilmektedir. *In vitro* çalışmalarda glukoz membran lipidleri, proteinleri, lipoproteinleri ve DNA'nın oksidasyonuna ve inflamasyona neden olabilir. *In vivo* olarak da reaktif oksijen radikallerini artırır ve antioksidan üretimini azaltarak kan basıncı artışına, koagülasyon artışına ve endotel bağımlı vazodilasyonu azaltabilir [7].

Tokluk glisemisindeki yükselmeler monositlerde reaktif oksijen üretimine yol açabilir [109]. Bütün hücre tiplerinde glukoz yüklemesi sonrası glukoz seviyesi 108 mg/dl'in üzerinde olanlarda reaktif oksijen radikalleri üretimi 2 kattan fazla artar ve bu akut hipergliseminin oksidatif stres oluşumunda etkisini ortaya koymaktadır [7].

Glukoz primer yakıt ve pankreatik adacığın beta hücre fonksiyonunun düzenleyicisidir. İnsülinin temel fonksiyonu kan glukoz konsantrasyonunu güvenli sınırlar içerisinde sürdürmektir. Ancak kronik hiperglisemi glukozun neden olduğu insülin salınımına ve insülin gen ekspresyonuna zarar verebilir [110]. Glukoz reaktif oksijen ürünlerini üretebileceğinden dolayı potansiyel mekanizmalardan biri oksidatif streştir [111, 112, 113, 114]. Oksidatif stres te, adacık fonksiyonları üzerine ters etki gösterebilir [115, 116, 117, 118]. Yükselmiş glukoz konsantrasyonuna maruz kalmayla oluşan reaktif oksijen ürünlerinin üretiminin artması beta hücrelerinin aktivitesinin azalmasında önemli bir rol oynayabilir [119, 120]. Bu sebepten dolayı tekrarlayan tokluk hiperglisemi diyabetin gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynayabilir [121].

3. MATERYAL METOD

3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Çalışma 8-10 haftalık dişi Wistar albino ratlarda yapıldı.

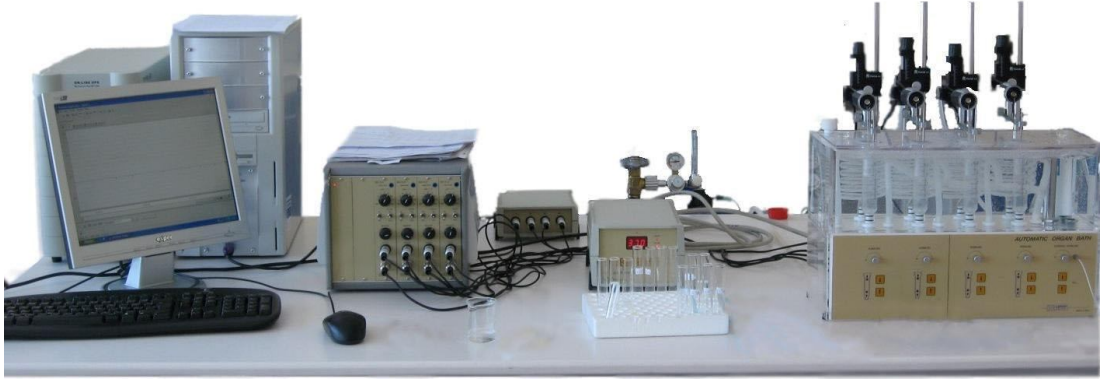
3.2. İzole Organ Banyosu Deneyleri

3.2.1. Aort Halkalarının Çıkarılması ve Organ Banyosuna Asılması

Hayvanlar servikal dislokasyon yöntemiyle öldürüldü. Deneyde her sonuç için iki hayvan göğüs aortu kullanılarak beş sonuç elde edildi. Hayvanların göğüs boşluğu açılarak göğüs aortu dikkatlice çıkarıldı ve normal krebs solüsyonu içine bırakıldı (NaCl 119 mM, KCl 4,7mM, MgSO₄ 1,5 mM, KH₂PO₄ 1,2 mM, CaCl₂ 2,5 mM, NaHCO₃ 25 mM, Glukoz 11 mM). Bu göğüs arter parçalarına öncelikle hasar vermemeye özen gösterilerek çevrelerindeki bağ dokular temizlendi. Daha sonra bu göğüs arterinden 2-3 mm'lik dört damar halkası elde edildi. Bu halkalar Farmakoloji Anabilim Dalındaki içinde 20 ml normal krebs solüsyonu bulunan dört gözlü organ banyosunun (Panlab s.l. LE 01.046) her gözüne bir halka gelecek şekilde çelik teller asılarak gergin bir ip aracılığıyla transdusere (TRI 201, Panlab s.l.) bağlandı (Şekil 4). Organ banyosunun sıcaklığı 37 °C olacak şekilde ayarlandı (Şekil 5). Ayrıca dokuların içinde bulunduğu banyolardaki Krebs solüsyonu her 20 dakikada bir taze Krebs solüsyon ile değiştirildi.



Şekil 4: Transduser



Şekil 5: İzole organ banyosu

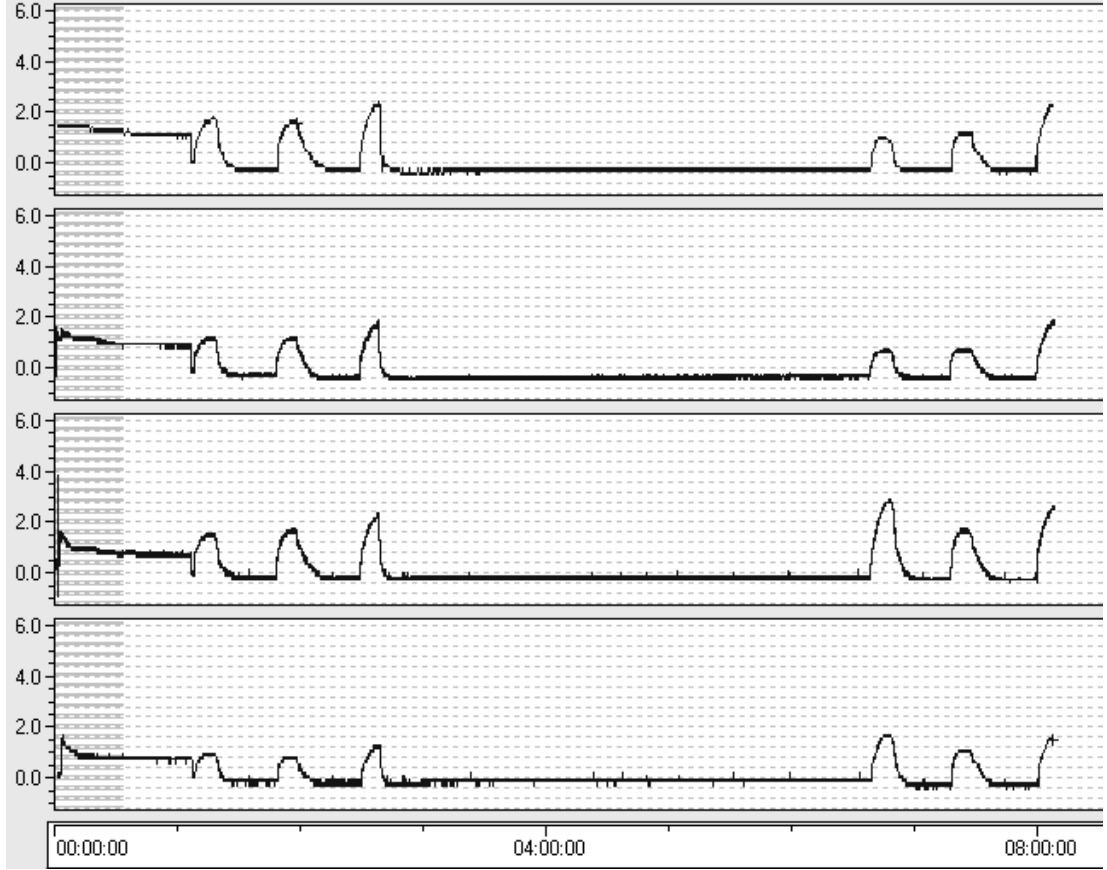
3.2.2. İzole Organ Banyosunda Aort Halkalarında Yapılan Deneyle

Aort halkaları organ banyosuna yerleştirildikten sonra 1,5 gram istirahat gerilimi altında bir saat dinlenmeye bırakıldı. Bu süre sonunda arter halkalarına sırasıyla 10^{-5} M serotonin, 10^{-6} M fenilefrin ve 60 mM KCl ile ayrı ayrı kasıldı. Her kasılmadan sonra aort halkaları krebs solüsyonu ile birkaç defa yıkanarak 30 dakika dinlenmeye bırakıldı. Ayrıca banyo içindeki krebs solüsyonu dinlenme boyunca da 20 dakika arayla tazelendi. Sonra da halkalar aşağıda detaylarıyla verilen üç farklı glukoz konsantrasyonunda 4 saat bekletildikten sonra çeşitli endojen vazokonstriktör maddelere arterlerin verdiği damar cevapları bilgisayar ortamında ProtoWin v1.0 programıyla kaydedildi.

Kasılma cevabı değişimlerine gözlemlemek için aşağıdaki işlemler uygulandı.

- Birinci banyodaki aort halkası, glukoz konsantrasyonu 11 mM olan Krebs solüsyonu ile 4 saat bekletildi ve sırasıyla 10^{-5} M serotonin, 10^{-6} M fenilefrin ve 60 mM KCl ile ayrı ayrı kasıldı.
- İkinci banyodaki aort halkası, glukoz konsantrasyonu 22 mM olan Krebs solüsyonu ile 4 saat bekletildi ve sırasıyla 10^{-5} M serotonin, 10^{-6} M fenilefrin ve 60 mM KCl ile ayrı ayrı kasıldı. Arter halkası her kasılmadan sonra yarım saat dinlendirildi.
- Üçüncü banyodaki aort halkası, glukoz konsantrasyonu 44 mM olan Krebs solüsyonu ile 4 saat bekletildi ve sırasıyla 10^{-5} M serotonin, 10^{-6} M fenilefrin ve 60 mM KCl ile ayrı ayrı kasıldı. Arter halkası her kasılmadan sonra yarım saat dinlendirildi.

-Arterin kimyasallarla kasılma yanıtları izometrik transduser aracılığıyla bilgisayar sistemine kaydedildi (Şekil 6) ve elde edilen doz cevap eğrileri yorumlandı.



Şekil 6: Proto Win programı ile kaydedilen kasılma cevaplarının ekran görüntüsü

3.2.3. Biyokimya Laboratuvarında Yapılan Analizler

Bu analiz farklı glukoz konsantrasyonlarının damar kasılmasında neden olabileceği değişikliklerin muhtemel mekanizmasını bulmak için yapıldı. Hipergliseminin dokularda yaptığı değişikliklerden en fazla sorumlu olan mekanizmalardan biri oksidatif streştir. Lipid peroksidasyonu sırasında biyolojik yapılardan kolayca tespit edilebilen ve peroksidatif hasarın belirteci olan malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda da damar dokularında hiperglisemiye bağlı oksidatif stresin olup olmadığını incelemek için 11, 22 ve 44 mM glukoz konsantrasyonlarında 4 saat bekletilmiş beşer tane damar dokusunda MDA düzeylerine bakıldı. MDA ölçümleri HPLC' de yapıldı.

Tartılan dokular pH 7.16 olan fosfat tamponuna kondu ve alındıktan hemen sonra -20 °C ısıda laboratuvar analizleri yapılana kadar saklandı. Numuneler çalışılacakları zaman donmuş dokuların çözülmesi için beklendi ve 500 ppm BHT ilavesinden sonra bu tamponda Ultra Turrax T25 Homogenizer ile 2500 rpm'de +4 °C'de sıcaklıkla homojenize edildi. Homojenatlar 10,000 X g'de 30 dakika boyunca +4° C'de santrifüj edildi. Süpernatantlardan 250 µL eppendorf tüplere alındıktan sonra üzerine 6 M 50 µL NaOH solüsyonu eklenerek son hacim 300 µL'ye çıkarıldı. Alkali süpernatantlar daha sonra 60 °C su banyosunda 30 dakika inkübe edildi (proteine bağlı MDA'nın hidrolizi). Numuneler soğutulduktan sonra %35'lik (v/v) perklorik asit ilavesiyle proteinlerin presipitasyonu sağlandı. Karışım 2800 X g'de 10 dakika santrifüj edilip süpernatantlardan 250 µL eppendorf tüplere aktarıldı ve üzerine 25 µL dinitro fenil hidrazin (DNPH, 5 mM) eklenerek vorteks işlemine tabi tutuldu. 30 dakika karanlıkta türevlenmeye bırakılan numunelerden 50 µL HPLC sistemine injekte edilerek ölçümler gerçekleştirildi.

3.2.4. Deneylerde Kullanılan Maddeler

Deneylerde kullanılan fenilefrin, serotonin ve krebs solüsyonunda kullanılan maddeler Sigma firmasından alındı.

3.2.5. Deney Sonuçlarının Analizi

İstatistiksel analiz GraphPad Prism 5 Demo programı kullanılarak yapıldı. Deney gruplarında damar kasılma yanıtları serotoninin 10^{-5} M, fenilefrinin 10^{-6} M ve KCl'nin 60 mM konsantrasyonu ile elde edilen kasılma cevaplarının en büyük değerinin yüzdesi olarak hesaplandı. Her gruptaki farklı glukoz ortamlarının kasıcı maddelere cevapları "One-way Anova Kruskal-Wallis" testi kullanıldı. Benzer şekilde MDA deneyi sonuçlarında da One-way Anova testi kullanıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Deneyde, damar düz kaslarının kasılma cevapları üzerine farklı glukoz düzeylerinin etkileri çalışıldı.

4.1. Serotonin Kasılma Yanıtları

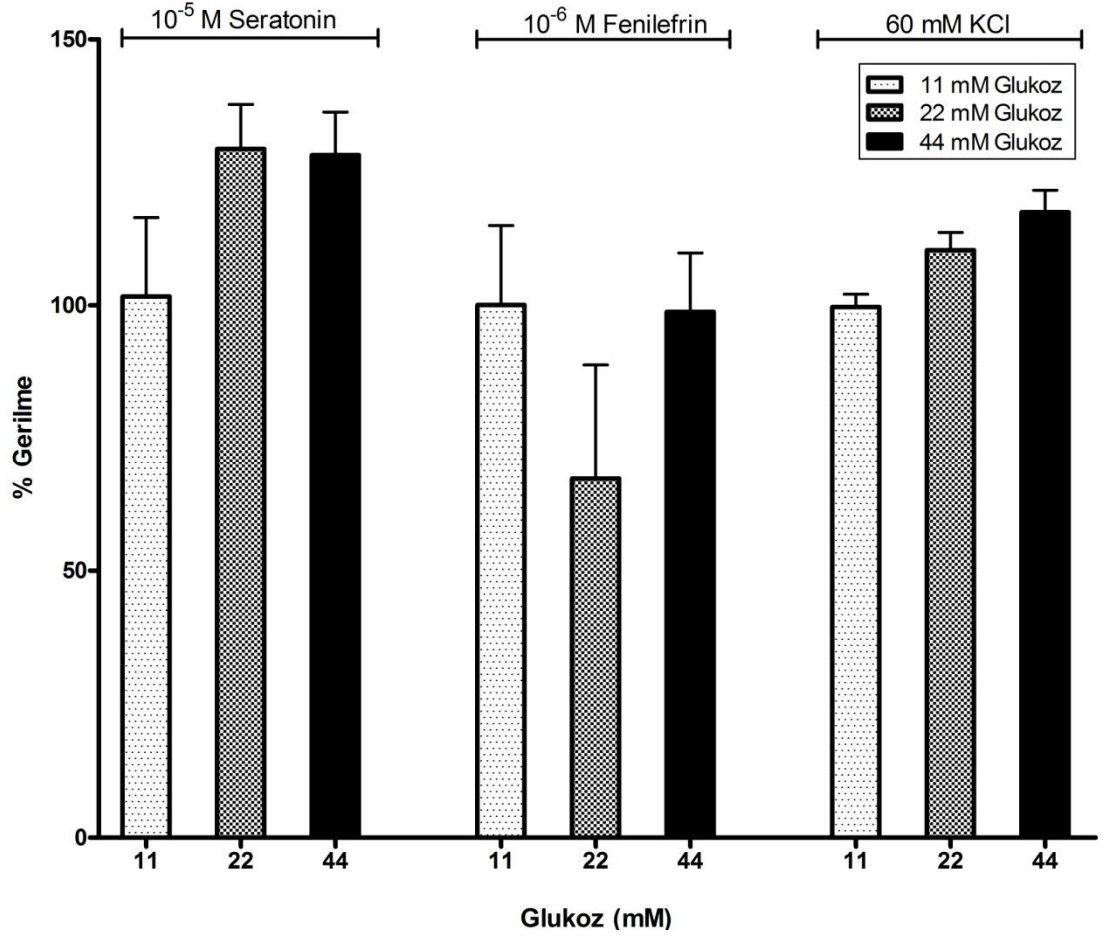
Serotonin grubunda 11 mM glukoz içeren banyonun değeri, kontrol değeri ve 22 ile 44 mM glukoz içeren banyonun değeri ise hiperglisemi değeri olarak seçilmiştir. 11 mM glukoz ortamı, 22 ve 44 mM glukoz ortamlarıyla karşılaştırıldığında 10^{-5} M serotoninin damar kasılma yanıtlarını hiperglisemik koşullarda anlamlı bir fark olmamasına rağmen arttırdığı görüldü ($P=0,065$) (Şekil 7).

4.2. Fenilefrine Kasılma Yanıtları

Fenilefrin grubunda 11 mM glukoz içeren banyonun değeri, kontrol değeri ve 22 ile 44 mM glukoz içeren banyonun değeri ise hiperglisemi değeri olarak seçilmiştir. Fenilefrinin 10^{-6} M konsantrasyonuna kasılma yanıtlarda 11, 22 ve 44 mM glukoz ortamlarında anlamlı bir fark bulunamadı ($P=0,22$) (Şekil 7).

4.3. KCl Kasılma Yanıtları

KCl grubunda 11 mM glukoz içeren banyonun değeri, kontrol değeri ve 22 ile 44 mM glukoz içeren banyonun değeri ise hiperglisemi değeri olarak seçilmiştir. 11 mM glukoz ortamı, 22 ve 44 mM glukoz ortamlarıyla karşılaştırıldığında 60mM KCl'nin damar kasılma yanıtlarını hiperglisemik koşullarda anlamlı olarak arttırdığı görüldü ($P=0,029$) (Şekil 7).



Şekil 7: İzole rat aortu halkalarında Serotonin, Fenilefrin ve KCl'e kasılma yanıtlarında görülen değişiklikler. KCl ile olan kasımlarda anlamlı bir artış olurken ($P < 0,05$) serotonin ve fenilefrin ile olan kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunamadı ($P > 0,05$).

4.4. Malondialdehit Sonuçları

Bu çalışmada MDA düzeylerinin hiperglisemik koşullarda (22 ve 44 mM glukoz içeren krebs solüsyonu) anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir (Tablo 5, 6 ve Şekil 8).

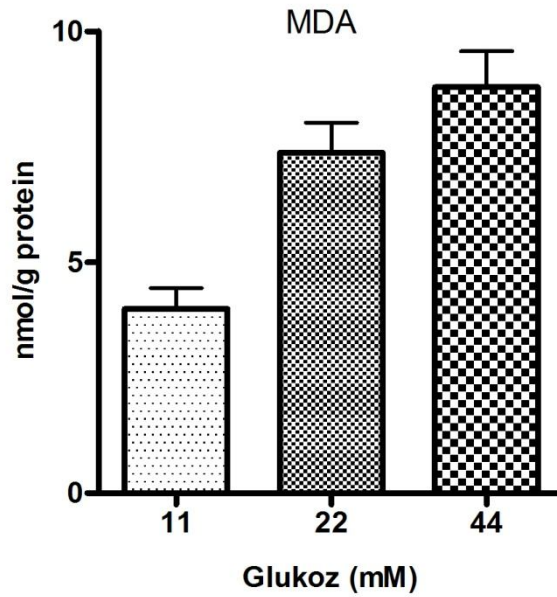
Tablo 5: Gruplardaki aortik MDA seviyeleri

Gruplar	n	Malondialdehit (nmol/g protein) (Ortalama ± SEM)
I- 11 mM Glukoz içeren Krebs	5	3,9880 ± 2,7238
II- 22 mM Glukoz içeren Krebs	5	7,3700 ± 5,5606
III- 44 mM Glukoz içeren Krebs	5	8,7880 ± 6,6283

Tablo 6: Gruplar arası P değerleri

Gruplar		P Değerleri
11 mM Glukoz	22 mM Glukoz	0,002 *
	44 mM Glukoz	0,000 *
22 mM Glukoz	11 mM Glukoz	0,002 *
	44 mM Glukoz	0,129
44 mM Glukoz	11 mM Glukoz	0,000 *
	22 mM Glukoz	0,129

* P < 0.05



Şekil 8: Normoglisemik ve hiperglisemik ortamlarındaki MDA sonuçları

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Hiperglisemi normal insan homestazisinin akut bir şekilde değişmesine neden olabilmektedir. Serum glukoz konsantrasyonundaki artış hem normoglisemik bireylerde hem de diyabetik bireylerde çeşitli değişimlere sebep olabilir [49].

Hiperglisemide hipotetik sıralama şu şekilde olabilir. Tokluk fazda oksidatif stres ortaya çıkabilir. Bu etkide trigliseritler önemli bir rol oynamaktadır. Daha sonra LDL oksidasyonu, trombosit aktivasyonu, endotel fonksiyon bozukluğu ve sonuç olarak ta kardiyovasküler bir olayla sonuçlanabilir [49].

Hiperglisemi ayrıca programlanmış hücre ölümüne de sebep olabilmektedir [122]. Hiperglisemi *in vitro* diyabet modellerinde bir dizi enzimatik ve nonenzimatik glukoz metabolizmalarını (nöropatininde bulunduğu) aktive eder.

Bunlar;

- Artmış polyol yolağı aktivitesi sorbitole dönüşüme yol açar ve fruktoz birikmesi, NADP-redoks dengesizliğı ve sinyal transdüksiyonunda değişimler,
- Protein ürünlerinin nonenzimatik glikozilasyonu,
- PKC aktivasyonu (bir dizi stres cevaplarını başlatır),
- Artmış heksozamin yolağı aktivitesi,
- Mitokondrial elektron transfer zinciriyle hiperglisemi aracılı fazla süperoksit üretimi.

Bu mekanizmaların her biri reaktif oksijen ürünleri ile sonuçlanabilir [99, 123, 124].

Bu çalışmada, farklı glukoz konsantrasyonlarıyla muamele edilen rat aortlarının KCl' ye olan kasılma yanıtlarının hiperglisemik koşullarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır. Serotonine olan kasılma yanıtları hiperglisemik koşullarda artmış fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Fenilefrine olan kasılma yanıtlarının ise 22 mM glukoz konsantrasyonunun da azaldığı fakat azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

Günümüze kadar, yüksek glukoz seviyelerinin gerek diyabetik gerekse de diyabetik olmayan hayvan damarlarının gevşeme yanıtları üzerine etkilerini gösteren birçok çalışma yapılmıştır [45, 111, 125, 126, 127]. Ancak hipergliseminin hayvan damarları üzerine kasılma yanıtlarında yaptığı değişiklikler hakkında fazla çalışma bulunmamaktadır [40, 128]. Yapılan çalışmalarda da farklı sonuçlar elde edilmiştir. Houben ve arkadaşları norepinefrine olan kasılma cevaplarının kısa dönem hiperglisemide (1 ve 7 saatler) ön kol perfüzyon teknikleri (forearm perfusion techniques) kullanılan sağlıklı bireylerde etkisiz olduğunu belirtmişlerdir [129, 130]. María ve arkadaşları ise rat femoral arterinin farklı glukoz konsantrasyonlarında perfüze edildikleri ve KCl (80 mmol/L) ile uyarıldıkları zaman, yüksek glukoz ortamındaki (11 mM'lık tyrode solüsyonu) kasılma cevapları normal glukoz ortamıyla (5,5 mM'lık tyrode solüsyonu) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığını bulmuşlardır [40]. Hamaty ve arkadaşları da rat kuyruk arterlerinde yaptıkları çalışmada arterlerin 2 saatlik yüksek glukoz ortamında (20 mM'lık glukoz içeren tampon solüsyonu) KCl ve norepinefrine olan kasılma yanıtlarında bir değişiklik olmadığını söylemişlerdir [128]. Bizim çalışmamızda ise rat aortları kullanılmış ve yüksek glukoz ortamlarında (22 ve 44 mM'lık krebs solüsyonu) arterlerin KCl'ye (60 mM) olan kasılma yanıtlarının anlamlı bir şekilde artarken serotonin (10^{-5} M) ve fenilefrine (10^{-6} M) olan cevaplarda anlamlı bir değişiklik bulunamamıştır.

Farklı sonuçların nedeni kesin olarak bilinmemekle birlikte şu faktörlere bağlı olabilir.

- Deneyde kullanılan hayvan türüne ve yaşına,
- Deneyde kullanılan yöntem,
- Deneyde kullanılan damar çeşidine,
- Damarların hiperglisemik solüsyonda bırakılma süresine,
- Damar yanıtlarının hesaplandığı yöntem,
- Deneyin yapıldığı damar halkalarında endotelin sağlam olup olmamasına.

Düz kas tonusu, depolarizasyon derecesi (pacemaker hücreler gibi), transmitter maddeler (ACh, noradrenalin gibi) ve çeşitli hormonlar (anjyotensin II, histamin ve damar kaslarındaki serotonin, bradikinin gibi) tarafından düzenlenmektedir [131].

Sağlıklı, normotansif hayvan ve insanlarda endotel fonksiyonunun normal olduğu durumlarda damar tonusu vazodilatasyonun baskın olduğu bir denge halindedir. Hiperglisemi ortamında ise damar endotel fonksiyon bozukluğu oluştuğunu gösteren birçok çalışma vardır. Endotel fonksiyonunun bozulmasıyla NO, endotel bağımlı hiperpolarizan faktör ve prostaglandin I₂ (PGI₂) gibi vazodilatör maddelerin üretimi azalır ve/veya yıkılımlarında artma olur. Bu durumda hemodinamik denge vazokonstriktör maddelerin baskın olacağı şekilde bozulur [132]. Bunun sonucu olarak da damar düz kasında myojenik tonusta artma ve uzun dönemde hipertrofi gelişmesi beklenir [133]. Bizim çalışmamızda da KCl ve serotonine olan kasılma yanıtlarının artmasının sebebi vazokonstriktör maddelerin vazodilatör maddelere göre nisbi olarak aktivitelerinin artmasıyla açıklanabilir. KCl aracılı kasılmanın başlıca voltaj bağımlı Ca⁺² kanalları aracılığı ile olduğu düşünülmektedir [128]. Hiperglisemi DAG yapımını artırarak PKC'yi aktive edebilir. PKC de hücre içine doğru Ca⁺² iyon girişini arttırarak damar düz kasılmasına neden olabilir. Bu olayda bizim çalışmamızda ki KCl ile olan kasılma yanıtının artmasıyla paralellik göstermektedir.

Fenilefrin kasılmaları α_1 ve α_2 reseptörlerinin uyarılmasıyla olmaktadır. Rat aortunda α_1 reseptörler daha yoğun olarak bulunmaktadır. α_2 reseptörleri ise daha çok küçük çaplı arterlerde sık olarak bulunmaktadır [134]. Bizim çalışmamızda fenilefrine olan kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişikliğin olmaması alfa reseptörlerinin down regülasyona uğramasıyla ilişkili olabilir. Bu sonuçta Houben ve arkadaşları tarafından yapılan norepinefrine olan kasılma cevaplarının kısa dönem hiperglisemide normal bireylerde bir değişiklik göstermemesiyle benzerlik göstermektedir [129, 130]. Ayrıca alınan damarlardaki reseptör sayısının farklı olabilme ihtimalide fenilefrin sonuçlarının istatistiksel olarak anlamsız olmasına neden olmuş olabilir.

Vücutta akut hiperglisemi esnasında birçok mekanizma ile oksidatif stres oluşabilir [121]. Bizde bu çalışmamızda oksidan hasarı incelemek amacıyla lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeylerini inceledik. Normoglisemik krebs

solüsyonunda (11 mM glukoz) bulunan aort halkalarının MDA seviyeleri hiperglisemik solüsyondaki (22 ve 44 mM) aort halkaları ile karşılaştırıldığı zaman her iki hiperglisemik solüsyonda da MDA düzeyleri anlamlı bir şekilde artmıştır ($P<0,05$). Bu sonuçtan yola çıkarak hiperglisemik solüsyondaki aort halkalarının kasılma yanıtlarındaki artmalardan sorumlu olan mekanizmalardan biri oksidan hasarın artmasıyla endotel hasarının oluşması sonucu nitrik oksit düzeyinin azalması ve damar tonusu üzerine vazokonstriktör maddelerin daha etkin olmasıyla açıklanabilir.

Özellikle tokluk hiperglisemisi hem diyabetiklerde hem de diyabetik olmayan bireylerde kardiyovasküler sistemde ciddi komplikasyonlara neden olmaktadır. Erken devrede hipergliseminin sıkı kontrolü hastaların KVH'dan korunmasında önemli bir basamaktır. Bu özellikle Tip 2 diyabet için potansiyel risk taşıyan kişilerin hiperglisemi yönünden taranması gerekliliğini gündeme getirmektedir [48].

Sonuç olarak; hipergliseminin damar hareketlerinde değişikliklere sebep olması ve normal fizyolojik çeşitli maddelere kasılma cevaplarını değiştirebileceği kuvvetle muhtemeldir. Bu mekanizmalardan biri çalışmamızda da gösterildiği gibi muhtemelen artmış oksidatif strestir. Bu çalışmanın bulguları diğer literatür bilgileri ile birlikte değerlendirildiğinde, sağlıklı insanların hiperglisemiden vücutlarını korumaya çalışmaları kardiyovasküler olaylardan uzak kalmaları adına çok önemlidir. Bu çalışmadan çıkarılabilecek diğer önemli bir sonuçta, *in vitro* ya da *in vivo* olarak hipergliseminin damar gevşeme yanıtları üzerine etkilerini inceleyecek bir çalışma planlandığı zaman mutlaka damarların hiperglisemik koşullardaki kasılma yanıtlarında bir değişiklik olup olmadığı kontrol edilmelidir.

ÖZET

Hipergliseminin Rat Aort Kasılmalarında Yapabileceği Değişikliklerin İzole Organ Banyosunda Değerlendirilmesi

Hipergliseminin vazodilatasyon üzerine etkileri hakkında birçok çalışma vardır. Fakat hipergliseminin damar kasılma cevapları üzerine çok fazla bilgi mevcut değildir. Ayrıca çalışmalar genellikle hiperglisemiye kronik olarak maruz kalma hakkındadır. Bu çalışmanın amacı ise kısa dönem hipergliseminin damar kasılma yanıtlarını etkileyip etkilemediğini ve bunun altında yatan mekanizmayı araştırmaktır.

Deney her grupta beş tane aort halkası olmak üzere 3 grup ile yapıldı. Her gruptaki damarlar normal Krebs solüsyonu ile 1,5 g gerilim altında 1 saat dinlenmeye bırakıldı. Sonra serotoninle (10^{-5} M) kasıldı. Kasılmadan sonra damar halkaları gerilimin bazal seviyeye inmesi için yıkandı ve bu işlemler fenilefrin (10^{-6} M) ve KCl (60mM) ile de tekrarlandı. Daha sonra aort halkalarının Krebs solüsyonu değiştirilerek halkalar 4 saat farklı solüsyonlarla inkübe edildi. (1) Normoglisemi: 11 mM glukoz içeren Krebs solüsyonu; (2) Hiperglisemi 1: 22 mM glukoz içeren Krebs solüsyonu; (3) Hiperglisemi 2: 44 mM glukoz içeren Krebs solüsyonu. 4 saat inkübasyondan sonra her gruptaki damarlar sırasıyla serotonin (10^{-5} M), fenilefrin (10^{-6} M) ve KCl (60 mM) ile tekrar kasıldı ve kasılma cevapları ProtoWin v 1.0 programı ile kaydedildi.

Aort halkaları farklı glukoz konsantrasyonu ile inkübe edilip vazokonstriktör maddeler ile uyarıldı. Hiperglisemik Krebs solüsyonlarındaki (22 ve 44 mM) KCl cevapları 11 mM glukoz içeren Krebs solüsyonu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttı. Serotonin grubunda hiperglisemik solüsyonlarda kasılma cevapları artmasına rağmen bu artış ve fenilefrin grubundaki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ayrıca hiperglisemi ortamında oksidatif hasarın bir belirteci olan Malondialdehit düzeyleri ise anlamlı olarak arttığı bulundu.

Sonuç olarak kısa dönem hiperglisemi kasılma cevapları üzerinde artmaya neden olabilir. Bu artışlara neden olan mekanizmalardan biri ise oksidatif stresle açıklanabilir.

Anahtar Kelimeler: Fenilefrin, hiperglisemi, kasılma cevapları, oksidatif stres, serotonin

SUMMARY

The Evaluations of the Changes in Hyperglycemia Will Be Able To Make Changes on Aortic Contractions of Rats in Isolated Organ Bath

There are a lot of studies on vasodilatation of the effect of hyperglycemia. Furthermore, long-term exposure to high concentrations of glucose has generally been studied. But there is a poor knowledge of the effect of hyperglycemia on vascular contractile responses. So the aim of this study was to investigate whether short-term hyperglycemia affected vascular contractility and its underlying mechanism.

Experiments were carried out in three groups with five aortic rings. The vessels in each group were superfused with normal Krebs' solution under 1,5 g tension for 1 hour to allow stabilization and then vasocontraction was achieved by adding serotonin (10^{-5} M); afterwards they were washed so that the tension returned to basal level, and the stimulus was repeated again by adding phenyleprine (10^{-6} M) and KCl (60 mM). After this, the aortic rings in each group were incubated for 4 hours in different media for following experiments: (1) Normoglycemia: 11 mM glucose in Krebs' solution; (2) high glucose 1: 22 mM glucose in Krebs' solution; (3) high glucose 2: 44 mM glucose in Krebs' solution. After 4 hours incubation, rings in each group were contracted by serotonin (10^{-5} M), phenyleprine (10^{-6} M) and KCl (60 mM) respectively and contractile responses were recorded by ProtoWin v1.0 software.

When arteries were perfused with different glucose concentrations and stimulated with KCl, their response in the presence of Krebs' solution with high glucose (22 and 44 mmol/L) was significantly increased when compared with the response generated in Krebs' solution with the normal glucose concentration of 11 mmol/L. When serotonin added to the media, contraction observed in high glucose solutions while phenyleprine alone could not create that effect. But both agents did not create a statistically significant effect. On the other hand, malondialdehyde increased significantly during the hyperglycemia.

Consequently, short-term hyperglycemia may lead to augment contractile response in aort rings through several mechanisms and our results showed that oxidative stress is most probably one of them.

Key words: Contractile response, hyperglycemia, phenyleprine, oxidative stress, serotonin

KAYNAKLAR

1. <http://www.diabetes.org/type-1-diabetes/hyperglycemia.jsp>
2. http://pennhealth.com/health_info/diabetes1/diabetes_step2.html
3. <http://diabetes.health.ivillage.com/glucose/hyperglycemia2.cfm>
4. American Diabetes Association, Postprandial blood glucose. *Diabetes Care*, 2001. 24: p. 775–778.
5. Wolever, T. M., Chiasson, J. L., Csima, A., Hunt, J. A., Palmason, C., Ross, S. A., et al., Variation of postprandial plasma glucose, palatability, and symptoms associated with a standardized mixed test meal versus 75 g oral glucose. *Diabetes Care*, 1998. 21(3): p. 336-40.
6. Haris, M., Klein, R., Welborn, T., and Knudman, M., Onset of diabetes mellitus occurs at least year before clinical diagnosis. *Diabetes Care*, 1992. 15: p. 815-819.
7. Şahin, İ., Koroner Arter Hastalıklarında Postprandiyal Glisemi İle Gensini Skoru İle Bakılan Koroner Arter Hastalığı Ciddiyetinin İlişkisi, *Kardiyoloji*, 2006, Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Merkezi, İstanbul. 83s
8. Özata, M. and Yöntem, A., *Endokrinoloji Metabolizma ve Diabet*. 1.Baskı. 2006, İstanbul: İstanbul medikal yayıncılık.
9. Mayor, S., Diabetes affects nearly 6% of the world's adults. 2006. 9: p. 1191.
10. Marshall, S. M. and Flyvbjerg, A., Prevention and early detection of vascular complications of diabetes. *BMJ*, 2006. 2: p. 475-480.
11. Gokalp, O., Hipertansiyon, diabet, hipertansiyon ve diabet oluşturulan sıçanlarda izole göğüs aortunun bazı kasıcı ve gevşetici maddelere yanıtları. Kaptopril'in bu yanıtlarda oluşturduğu değişiklikler, *Farmakoloji Anabilim Dalı*, 2000, Akdeniz Üniversitesi, Antalya. 27s
12. Coert, J. Z., Demirci, C., Keoman, A., Vink, H., and Ince, C., Short-term hyperglycemia increases endothelial glycocalyx permeability and acutely decreases lineal density capillaries with flowing red blood cells *J Appl Physiol*, 2005. 99(1471-1476).
13. Piga, R., Naito, Y., Kokura, S., Handa, O., and Yoshikawa, T., Short-term high glucose exposure induces monocyte-endothelial cells adhesion and transmigration by increasing VCAM-1 and MCP-1 expression in human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis*, 2007. 193(2): p. 328-34.
14. Wiseman, M. J., Saunders, A. J., Keen, H., and Viberti, G., Effect of blood glucose control on increased glomerular filtration rate and kidney size in insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med*, 1985. 312(10): p. 617-21.
15. Skott, P., Vaag, A., Hother-Nielsen, O., Andersen, P., Bruun, N. E., Giese, J., et al., Effects of hyperglycaemia on kidney function, atrial natriuretic factor and plasma renin in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest*, 1991. 51(8): p. 715-27.
16. Remuzzi, A., Viberti, G., Ruggenti, P., Battaglia, C., Pagni, R., and Remuzzi, G., Glomerular response to hyperglycemia in human diabetic nephropathy. *Am J Physiol*, 1990. 259(4 Pt 2): p. F545-52.
17. Tuttle, K. R., Bruton, J. L., Perusek, M. C., Lancaster, J. L., Kopp, D. T., and DeFronzo, R. A., Effect of strict glycemic control on renal hemodynamic response to amino acids and renal enlargement in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1991. 324(23): p. 1626-32.
18. De Cosmo, S., Earle, K., Morocutti, A., Walker, J., Ruggenti, P., Remuzzi, G., et al., Glucose-induced changes in renal haemodynamics in proteinuric type 1 (insulin-dependent) diabetic patients: inhibition by acetylsalicylic acid infusion. *Diabetologia*, 1993. 36(7): p. 622-7.

19. Takeuchi, A., Throckmorton, D. C., Brogden, A. P., Yoshizawa, N., Rasmussen, H., and Kashgarian, M., Periodic high extracellular glucose enhances production of collagens III and IV by mesangial cells. *Am J Physiol*, 1995. 268(1 Pt 2): p. F13-9.
20. Steffes, M. W., Bilous, R. W., Sutherland, D. E., and Mauer, S. M., Cell and matrix components of the glomerular mesangium in type I diabetes. *Diabetes*, 1992. 41(6): p. 679-84.
21. Marshall, S. M. and Flyvbjerg, A., Diyabetin vasküler komplikasyonlarının önlenmesi ve erken tanısı. *BMJ Türkiye*, 2007. 12: p. 38-43.
22. Kohner, E. M., Patel, V., and Rassam, S. M., Role of blood flow and impaired autoregulation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes*, 1995. 44(6): p. 603-7.
23. Grunwald, J. E., Brucker, A. J., Schwartz, S. S., Braunstein, S. N., Baker, L., Petrig, B. L., et al., Diabetic glycemic control and retinal blood flow. *Diabetes*, 1990. 39(5): p. 602-7.
24. Patel, V., Rassam, S. M., Chen, H. C., and Kohner, E. M., Oxygen reactivity in diabetes mellitus: effect of hypertension and hyperglycaemia. *Clin Sci (Lond)*, 1994. 86(6): p. 689-95.
25. Rassam, S. M., Patel, V., and Kohner, E. M., The effect of experimental hypertension on retinal vascular autoregulation in humans: a mechanism for the progression of diabetic retinopathy. *Exp Physiol*, 1995. 80(1): p. 53-68.
26. Pirart, J., Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4,400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabetes Care*, 1978. 1: p. 139-140.
27. Young, R. J., Macintyre, C. C., Martyn, C. N., Prescott, R. J., Ewing, D. J., Smith, A. F., et al., Progression of subclinical polyneuropathy in young patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes: associations with glycaemic control and microangiopathy (microvascular complications). *Diabetologia*, 1986. 29(3): p. 156-61.
28. Masaoka, S., Lev-Ran, A., Hill, L. R., Vakil, G., and Hon, E. H., Heart rate variability in diabetes: relationship to age and duration of the disease. *Diabetes Care*, 1985. 8(1): p. 64-8.
29. Ward, J. D., Barnes, C. G., Fisher, D. J., Jessop, J. D., and Baker, R. W., Improvement in nerve conduction following treatment in newly diagnosed diabetics. *Lancet*, 1971. 1(7696): p. 428-30.
30. Gregersen, G., Variations in motor conduction velocity produced by acute changes of the metabolic state in diabetic patients. *Diabetologia*, 1968. 4(5): p. 273-7.
31. Marfella, R., Verrazzo, G., Acampora, R., La Marca, C., Giunta, R., Lucarelli, C., et al., Glutathione reverses systemic hemodynamic changes induced by acute hyperglycemia in healthy subjects. *Am J Physiol*, 1995. 268(6 Pt 1): p. E1167-73.
32. Yeap, B. B., Russo, A., Fraser, R. J., Wittert, G. A., and Horowitz, M., Hyperglycemia affects cardiovascular autonomic nerve function in normal subjects. *Diabetes Care*, 1996. 19(8): p. 880-2.
33. Thye-Ronn, P., Sindrup, S. H., Arendt-Nielsen, L., Brennum, J., Hother-Nielsen, O., and Beck-Nielsen, H., Effect of short-term hyperglycemia per se on nociceptive and non-nociceptive thresholds. *Pain*, 1994. 56(1): p. 43-9.
34. Lee, T. S., MacGregor, L. C., Fluharty, S. J., and King, G. L., Differential regulation of protein kinase C and (Na,K)-adenosine triphosphatase activities by elevated glucose levels in retinal capillary endothelial cells. *J Clin Invest*, 1989. 83(1): p. 90-4.
35. Suzuki, K. and Kono, T., Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1980. 77(5): p. 2542-5.
36. Clausen, T., The role of calcium in the activation of the glucose transport system. *Cell Calcium*, 1980. 1: p. 311-325.
37. Avrameas, S., Ternynek, T., and Guesdon, J., Coupling of enzymes to antibodies and antigens. *Scand J Immunol*, 1978. 8: p. 7-23.

38. Green, D., Lattimer, S., and Sima, A., Sorbitol, phosphoinositides and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *N Engl J Med*, 1987. 316(599-606): p. 599.
39. Stralfors, P., Insulin stimulation of glucose uptake can be mediated by diacylglycerol in adipocytes. *Nature*, 1988. 335: p. 554-556.
40. Nava, P., Collados, M. T., Masso, F., and Guarner, V., Endothelin mediation of insulin and glucose-induced changes in vascular contractility. *Hypertension*, 1997. 30(4): p. 825-9.
41. Williams, S. B., Goldfine, A. B., Timimi, F. K., Ting, H. H., Roddy, M. A., Simonson, D. C., et al., Acute hyperglycemia attenuates endothelium-dependent vasodilation in humans in vivo. *Circulation*, 1998. 97(17): p. 1695-701.
42. Tesfamariam, B., Brown, M. L., Deykin, D., and Cohen, R. A., Elevated glucose promotes generation of endothelium-derived vasoconstrictor prostanoids in rabbit aorta. *J Clin Invest*, 1990. 85(3): p. 929-32.
43. Bohlen, H. G. and Lash, J. M., Topical hyperglycemia rapidly suppresses EDRF-mediated vasodilation of normal rat arterioles. *Am J Physiol*, 1993. 265(1 Pt 2): p. H219-25.
44. Ishizuka, T., Hoffman, J., Cooper, D. R., Watson, J. E., Pushkin, D. B., and Farese, R. V., Glucose-induced synthesis of diacylglycerol de novo is associated with translocation (activation) of protein kinase C in rat adipocytes. *FEBS Lett*, 1989. 249(2): p. 234-8.
45. Tesfamariam, B., Brown, M. L., and Cohen, R. A., Elevated glucose impairs endothelium-dependent relaxation by activating protein kinase C. *J Clin Invest*, 1991. 87(5): p. 1643-8.
46. Furchgott, R. F. and Zawadzki, J. V., The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 1980. 288(5789): p. 373-6.
47. Tesfamariam, B., Jakubowski, J. A., and Cohen, R. A., Contraction of diabetic rabbit aorta caused by endothelium-derived PGH₂-TxA₂. *Am J Physiol*, 1989. 257(5 Pt 2): p. H1327-33.
48. Bayraktar, M. Kardiyovaskuler risk faktörü olarak hiperglisemi. in 26. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kongresi.2003.
49. Ceriello, A., The possible role of postprandial hyperglycaemia in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetologia*, 2003. 46 Suppl 1: p. M9-16.
50. Balkau, B., Shipley, M., Jarrett, R. J., Pyorala, K., Pyorala, M., Forhan, A., et al., High blood glucose concentration is a risk factor for mortality in middle-aged nondiabetic men. 20-year follow-up in the Whitehall Study, the Paris Prospective Study, and the Helsinki Policemen Study. *Diabetes Care*, 1998. 21(3): p. 360-7.
51. de Vegt, F., Dekker, J. M., Ruhe, H. G., Stehouwer, C. D., Nijpels, G., Bouter, L. M., et al., Hyperglycaemia is associated with all-cause and cardiovascular mortality in the Hoorn population: the Hoorn Study. *Diabetologia*, 1999. 42(8): p. 926-31.
52. Calles-Escandon, J. and Cipolla, M., Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr Rev*, 2001. 22(1): p. 36-52.
53. Shiba, T., Inoguchi, T., Sportsman, J. R., Heath, W. F., Bursell, S., and King, G. L., Correlation of diacylglycerol level and protein kinase C activity in rat retina to retinal circulation. *Am J Physiol*, 1993. 265(5 Pt 1): p. E783-93.
54. Tesfamariam, B., Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction. *Free Radic Biol Med*, 1994. 16(3): p. 383-91.
55. Kontos, H. A., Oxygen radicals from arachidonate metabolism in abnormal vascular responses. *Am Rev Respir Dis*, 1987. 136(2): p. 474-7.
56. Ceriello, A., The post-prandial state and cardiovascular disease: relevance to diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev*, 2000. 16(2): p. 125-32.

57. Temelkova-Kurktschiev, T. S., Koehler, C., Henkel, E., Leonhardt, W., Fuecker, K., and Hanefeld, M., Postchallenge plasma glucose and glycemic spikes are more strongly associated with atherosclerosis than fasting glucose or HbA1c level. *Diabetes Care*, 2000. 23(12): p. 1830-4.
58. Mikhail, N., Postprandial hyperglycemia and risk of atherosclerosis. *JAMA*, 2002. 288(8): p. 955; author reply 955.
59. Castelli, W. P., The triglyceride issue: a view from Framingham. *Am Heart J*, 1986. 112(2): p. 432-7.
60. Groot, P. H., van Stiphout, W. A., Krauss, X. H., Jansen, H., van Tol, A., van Ramshorst, E., et al., Postprandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and without coronary artery disease. *Arterioscler Thromb*, 1991. 11(3): p. 653-62.
61. Patsch, J. R., Miesenbock, G., Hopferwieser, T., Muhlberger, V., Knapp, E., Dunn, J. K., et al., Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. *Arterioscler Thromb*, 1992. 12(11): p. 1336-45.
62. Ryu, J. E., Howard, G., Craven, T. E., Bond, M. G., Hagaman, A. P., and Crouse, J. R., 3rd, Postprandial triglyceridemia and carotid atherosclerosis in middle-aged subjects. *Stroke*, 1992. 23(6): p. 823-8.
63. Castelli, W. P., Garrison, R. J., Wilson, P. W., Abbott, R. D., Kalousdian, S., and Kannel, W. B., Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. *JAMA*, 1986. 256(20): p. 2835-8.
64. Falk, E., Unstable angina with fatal outcome: dynamic coronary thrombosis leading to infarction and/or sudden death. Autopsy evidence of recurrent mural thrombosis with peripheral embolization culminating in total vascular occlusion. *Circulation*, 1985. 71(4): p. 699-708.
65. Junker, R., Heinrich, J., Schulte, H., van de Loo, J., and Assmann, G., Coagulation factor VII and the risk of coronary heart disease in healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997. 17(8): p. 1539-44.
66. Marckmann, P., Sandstrom, B., and Jespersen, J., Effects of total fat content and fatty acid composition in diet on factor VII coagulant activity and blood lipids. *Atherosclerosis*, 1990. 80(3): p. 227-33.
67. Connelly, J. B., Roderick, P. J., Cooper, J. A., Meade, T. W., and Miller, G. J., Positive association between self-reported fatty food consumption and factor VII coagulant activity, a risk factor for coronary heart disease, in 4246 middle-aged men. *Thromb Haemost*, 1993. 70(2): p. 250-2.
68. Miller, G. J., Martin, J. C., Mitropoulos, K. A., Reeves, B. E., Thompson, R. L., Meade, T. W., et al., Plasma factor VII is activated by postprandial triglyceridaemia, irrespective of dietary fat composition. *Atherosclerosis*, 1991. 86(2-3): p. 163-71.
69. Silveira, A., Karpe, F., Blomback, M., Steiner, G., Walldius, G., and Hamsten, A., Activation of coagulation factor VII during alimentary lipemia. *Arterioscler Thromb*, 1994. 14(1): p. 60-9.
70. Silveira, A., Karpe, F., Johnsson, H., Bauer, K. A., and Hamsten, A., In vivo demonstration in humans that large postprandial triglyceride-rich lipoproteins activate coagulation factor VII through the intrinsic coagulation pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996. 16(11): p. 1333-9.
71. Gasser, J. A. and Betteridge, D. J., Lipids and thrombosis. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, 1990. 4(4): p. 923-38.
72. Cavallero, E., Dachet, C., Neufcour, D., Wirquin, E., Mathe, D., and Jacotot, B., Postprandial amplification of lipoprotein abnormalities in controlled type II diabetic subjects: relationship to postprandial lipemia and C-peptide/glucagon levels. *Metabolism*, 1994. 43(3): p. 270-8.

73. Hanefeld, M., Fischer, S., Schulze, J., Spengler, M., Wargenau, M., Schollberg, K., et al., Therapeutic potentials of acarbose as first-line drug in NIDDM insufficiently treated with diet alone. *Diabetes Care*, 1991. 14(8): p. 732-7.
74. Howard, B. V., Lipoprotein metabolism in diabetes mellitus. *J Lipid Res*, 1987. 28(6): p. 613-28.
75. Tsai, E. C., Hirsch, I. B., Brunzell, J. D., and Chait, A., Reduced plasma peroxy radical trapping capacity and increased susceptibility of LDL to oxidation in poorly controlled IDDM. *Diabetes*, 1994. 43(8): p. 1010-4.
76. Diwadkar, V. A., Anderson, J. W., Bridges, S. R., Gowri, M. S., and Oelgten, P. R., Postprandial low-density lipoproteins in type 2 diabetes are oxidized more extensively than fasting diabetes and control samples. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1999. 222(2): p. 178-84.
77. Ceriello, A., Bortolotti, N., Motz, E., Pieri, C., Marra, M., Tonutti, L., et al., Meal-induced oxidative stress and low-density lipoprotein oxidation in diabetes: the possible role of hyperglycemia. *Metabolism*, 1999. 48(12): p. 1503-8.
78. Ceriello, A., Giugliano, D., Quatraro, A., Dello Russo, P., and Torella, R., Blood glucose may condition factor VII levels in diabetic and normal subjects. *Diabetologia*, 1988. 31(12): p. 889-91.
79. Ceriello, A., Taboga, C., Tonutti, L., Giacomello, R., Stel, L., Motz, E., et al., Post-meal coagulation activation in diabetes mellitus: the effect of acarbose. *Diabetologia*, 1996. 39(4): p. 469-73.
80. Ceriello, A., Fibrinogen and diabetes mellitus: is it time for intervention trials? *Diabetologia*, 1997. 40(6): p. 731-4.
81. Bruttomesso, D., Iori, E., Kiwanuka, E., Zanetti, M., Pianta, A., Vettore, M., et al., Insulin infusion normalizes fasting and post-prandial albumin and fibrinogen synthesis in Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*, 2001. 18(11): p. 915-20.
82. Ruoslatti, E., Integrins. *J Clin Invest*, 1991. 187: p. 1-5.
83. Lopes-Virella, M. F. and Virella, G., Immune mechanisms of atherosclerosis in diabetes mellitus. *Diabetes*, 1992. 41 Suppl 2: p. 86-91.
84. Blann, A. D. and McCollum, C. N., Circulating endothelial cell/leukocyte adhesion molecules in atherosclerosis. *Thromb Haemost*, 1994. 72(1): p. 151-4.
85. Ceriello, A., Falleti, E., Bortolotti, N., Motz, E., Cavarape, A., Russo, A., et al., Increased circulating intercellular adhesion molecule-1 levels in type II diabetic patients: the possible role of metabolic control and oxidative stress. *Metabolism*, 1996. 45(4): p. 498-501.
86. Gearing, A. J. and Newman, W., Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today*, 1993. 14(10): p. 506-12.
87. Ceriello, A., Falleti, E., Motz, E., Taboga, C., Tonutti, L., Ezsol, Z., et al., Hyperglycemia-induced circulating ICAM-1 increase in diabetes mellitus: the possible role of oxidative stress. *Horm Metab Res*, 1998. 30(3): p. 146-9.
88. Marfella, R., Esposito, K., Giunta, R., Coppola, G., De Angelis, L., Farzati, B., et al., Circulating adhesion molecules in humans: role of hyperglycemia and hyperinsulinemia. *Circulation*, 2000. 101(19): p. 2247-51.
89. Bonora, E., Postprandial blood glucose as a risk factor for cardiovascular disease in type II diabetes : the epidemiological evidence. *Int J Clin Pract Suppl*, 2002. 129: p. 5-11.
90. Bartnik, M., Norhammar, A., and Ryde, L., Hyperglycaemia and cardiovascular disease. *journal of internal medicine*, 2007. 262: p. 145-156.
91. Ceriello, A., Quatraro, A., and Giugliano, D., New insights on non-enzymatic glycosylation may lead to therapeutic approaches for the prevention of diabetic complications. *Diabet Med*, 1992. 9(3): p. 297-9.
92. Ceriello, A., Acute hyperglycaemia and oxidative stress generation. *Diabet Med*, 1997. 14 Suppl 3: p. S45-49.

93. Nakamura, Y., Horii, Y., Nishino, T., and Shiiki, H., Immunohistochemical and ultrastructural detection of AGE in coronary atheroma and cardiac tissue in diabetes mellitus. *Am J Pathol*, 1993. 143: p. 1649-1656.
94. Kilhovd, B., Berg, T., Birkeland, K., and Thorsby, P., Serum levels of advanced glycation end products are increased in patients with type 2 diabetes and coronary heart disease. *Diabetes Care*, 1999. 22: p. 1543-1548.
95. Giugliano, D., Ceriello, A., and Paolisso, G., Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*, 1996. 19(3): p. 257-67.
96. Mullarkey, C. J., Edelstein, D., and Brownlee, M., Free radical generation by early glycation products: a mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990. 173(3): p. 932-9.
97. Wolff, S. P. and Dean, R. T., Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of 'autoxidative glycosylation' in diabetes. *Biochem J*, 1987. 245(1): p. 243-50.
98. Williamson, J. R., Chang, K., Frangos, M., Hasan, K. S., Ido, Y., Kawamura, T., et al., Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes*, 1993. 42(6): p. 801-13.
99. Nishikawa, T., Edelstein, D., Du, X. L., Yamagishi, S., Matsumura, T., Kaneda, Y., et al., Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*, 2000. 404(6779): p. 787-90.
100. Ceriello, A., Giugliano, D., Quatraro, A., Dello Russo, P., and Lefebvre, P. J., Metabolic control may influence the increased superoxide generation in diabetic serum. *Diabet Med*, 1991. 8(6): p. 540-2.
101. Giugliano, D., Marfella, R., Coppola, L., Verrazzo, G., Acampora, R., Giunta, R., et al., Vascular effects of acute hyperglycemia in humans are reversed by L-arginine. Evidence for reduced availability of nitric oxide during hyperglycemia. *Circulation*, 1997. 95(7): p. 1783-90.
102. Title, L. M., Cummings, P. M., Giddens, K., and Nassar, B. A., Oral glucose loading acutely attenuates endothelium-dependent vasodilation in healthy adults without diabetes: an effect prevented by vitamins C and E. *J Am Coll Cardiol*, 2000. 36(7): p. 2185-91.
103. Ceriello, A., Motz, E., Cavarape, A., Lizzio, S., Russo, A., Quatraro, A., et al., Hyperglycemia counterbalances the antihypertensive effect of glutathione in diabetic patients: evidence linking hypertension and glycemia through the oxidative stress in diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*, 1997. 11(4): p. 250-5.
104. Ceriello, A., Bortolotti, N., Crescentini, A., Motz, E., Lizzio, S., Russo, A., et al., Antioxidant defences are reduced during the oral glucose tolerance test in normal and non-insulin-dependent diabetic subjects. *Eur J Clin Invest*, 1998. 28(4): p. 329-33.
105. Tessier, D., Khalil, A., and Fulop, T., Effects of an oral glucose challenge on free radicals/antioxidants balance in an older population with type II diabetes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 1999. 54(11): p. M541-5.
106. Konukoglu, D., Hatemi, H., Ozer, E. M., Gonen, S., and Akcay, T., The erythrocyte glutathione levels during oral glucose tolerance test. *J Endocrinol Invest*, 1997. 20(8): p. 471-5.
107. Ceriello, A., Bortolotti, N., and Falletti, E., Total radical-trapping antioxidant parameter in non-insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes Care* 1997. 20: p. 194-197.
108. Ceriello, A., Bortolotti, N., Motz, E., Crescentini, A., Lizzio, S., Russo, A., et al., Meal-generated oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 1998. 21(9): p. 1529-33.
109. Mohanty, P., Hamouda, W., Garg, R., et al., A. a., and 2973, Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000. 85: p. 2970-2973.

110. Robertson, R., Harmon, J., Tanaka, Y., Sacchi, G., Tran, P., and Gleason, C., Glucose toxicity of the beta-cell: cellular and molecular mechanisms. In: Le Roith D, Taylor S, Olefsky JM eds. *Diabetes Mellitus. A Fundamental and Clinical Text*, 2nd edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2000, Philadelphia. 125–132.
111. Kawano, H., Motoyama, T., Hirashima, O., Hirai, N., Miyao, Y., Sakamoto, T., et al., Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol*, 1999. 34(1): p. 146-54.
112. Tesfamariam, B. and Cohen, R. A., Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. *Am J Physiol*, 1992. 263(2 Pt 2): p. H321-6.
113. Cosentino, F., Hishikawa, K., Katusic, Z. S., and Luscher, T. F., High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells. *Circulation*, 1997. 96(1): p. 25-8.
114. Sakamoto, T., Ogawa, H., Kawano, H., Hirai, N., Miyamoto, S., Takazoe, K., et al., Rapid change of platelet aggregability in acute hyperglycemia. Detection by a novel laser-light scattering method. *Thromb Haemost*, 2000. 83(3): p. 475-9.
115. Ihara, Y., Toyokuni, S., Uchida, K., Odaka, H., Tanaka, T., Ikeda, H., et al., Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic beta-cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes*, 1999. 48(4): p. 927-32.
116. Tiedge, M., Lortz, S., Drinkgern, J., and Lenzen, S., Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes*, 1997. 46(11): p. 1733-42.
117. Kubisch, H. M., Wang, J., Bray, T. M., and Phillips, J. P., Targeted overexpression of Cu/Zn superoxide dismutase protects pancreatic beta-cells against oxidative stress. *Diabetes*, 1997. 46(10): p. 1563-6.
118. Hohmeier, H. E., Thigpen, A., Tran, V. V., Davis, R., and Newgard, C. B., Stable expression of manganese superoxide dismutase (MnSOD) in insulinoma cells prevents IL-1beta- induced cytotoxicity and reduces nitric oxide production. *J Clin Invest*, 1998. 101(9): p. 1811-20.
119. Matsuoka, T., Kajimoto, Y., Watada, H., Kaneto, H., Kishimoto, M., Umayahara, Y., et al., Glycation-dependent, reactive oxygen species-mediated suppression of the insulin gene promoter activity in HIT cells. *J Clin Invest*, 1997. 99(1): p. 144-50.
120. Tanaka, Y., Gleason, C. E., Tran, P. O., Harmon, J. S., and Robertson, R. P., Prevention of glucose toxicity in HIT-T15 cells and Zucker diabetic fatty rats by antioxidants. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(19): p. 10857-62.
121. Miyazaki, Y., Kawano, H., Yoshida, T., Miyamoto, S., Hokamaki, J., Nagayoshi, Y., et al., Pancreatic B-cell function is altered by oxidative stress induced by acute hyperglycaemia. *Diabet Med*, 2007. 24(2): p. 154-60.
122. Vincent, A. M., McLean, L. L., Backus, C., and Feldman, E. L., Short-term hyperglycemia produces oxidative damage and apoptosis in neurons. *FASEB J*, 2005. 19(6): p. 638-40.
123. Brownlee, M., *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*. Nature, 2001. 414(6865): p. 813-20.
124. Du, X. L., Edelstein, D., Rossetti, L., Fantus, I. G., Goldberg, H., Ziyadeh, F., et al., Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000. 97(22): p. 12222-6.
125. Zhu, W., Zhong, C., Yu, Y., and Li, K., Acute effects of hyperglycaemia with and without exercise on endothelial function in healthy young men. *Eur J Appl Physiol*, 2007. 99(6): p. 585-91.
126. Arora, S., Lidor, A., Abularrage, C. J., Weiswasser, J. M., Nysten, E., Kellicut, D., et al., Thiamine (vitamin B1) improves endothelium-dependent vasodilatation in the presence of hyperglycemia. *Ann Vasc Surg*, 2006. 20(5): p. 653-8.

127. Akbari, C., Saouaf, R., Barnhill, D., Newman, P., LoGerfo, F., and Veves, A., Endothelium-dependent vasodilatation is impaired in both microcirculation and macrocirculation during acute hyperglycemia. *J Vasc Surg.* , 1998. 28(4): p. 687-694.
128. Marwan, H., Cristina B., G., Mary F., W., Ann M., B., Joseph, L., and James R., S., High Glucose-enhanced Acetylcholine Stimulated CGMP Masks Impaired Vascular Reactivity in Tail Arteries from Short-term Hyperglycemic Rats. *Int. Jnl. Experimental Diab. Res.*, 1999. 1: p. 69-79.
129. Houben, A. J. H. M., Schaper, N. C., De Haan, C. H. A., Huvers, F. C., Slaaf, D. W., De Leeuw, P. W., et al., The effects of 7-hours local hyperglycemia on forearm macro and microcirculatory blood flow and vascular reactivity in healthy man. *Diabetologia*, 1994. 37: p. 750-756.
130. Houben, A. J. H. M., Schaper, N. C., and Kruseman, C. A. N., Acute effects of local hyperglycemia on peripheral blood flow in man. *Diabetes Medicine*, 1993. 10: p. 39-43.
131. Silbernagl, S., *Color Atlas of Physiology*. 5th edition ed. 2003, New York: Thieme New York.
132. De Vriese, A., Verbeuren, T., and Voorde, J., Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharm*, 2000. 130: p. 963-974.
133. Hernandez, N., Torres, S., and Finol, H., Capillary and muscle fiber type changes in DOCA-Salt hypertensive rats. *The Anatomical Record*, 1996. 246: p. 208-216.
134. Vantrimpont, P., Rouleau, J., and Wun, C., Additive beneficial effects of beta- blokörs to angiotensin converting enzyme inhibitors in the survival and ventricular enlargement study. *J Am Coll Cardiol*, 1997. 29: p. 229-236.