



T.C.

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOZOTOSİN (STZ) İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA ENDOTELİN-A RESEPTÖR ANTAGONİSTİ
BQ-123'ÜN PLAZMA LEPTİN DÜZEYLERİNE ETKİLERİ**

Hazırlayan

AYFER ÖZTÜRK

Fizyoloji Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Doç. Dr. Hasan Erdoğan

TOKAT-2011



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOZOTOSİN (STZ) İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA ENDOTELİN-A RESEPTÖR ANTAGONİSTİ
BQ-123'ÜN PLAZMA LEPTİN DÜZEYLERİNE ETKİLERİ**

Hazırlayan
AYFER ÖZTÜRK

Fizyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Doç. Dr. Hasan Erdoğan

TOKAT-2011

STREPTOZOTOSİN (STZ) İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA ENDOTELİN-A RESEPTÖR ANTAGONİSTİ
BQ-123'ÜN PLAZMA LEPTİN DÜZEYLERİNE ETKİLERİ

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: 13.11.2011

Jüri Üyeleri (Ünvanı, Adı, Soyadı)

İmzası

Başkan: Doç. Dr. Hasan Erdem

.....

Üye: Doç. Dr. Fatih Elçi

.....

Üye: Yrd. Doç. Dr. Fikriye Şen

.....

Bu tez Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 13.11.2011.. tarih ve 18-21 sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Hüseyin Özyurt

Mühür

İmza

.....

T.C
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

.../.../.....

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Ayfer ÖZTÜRK

İmzası

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca değerli bilgilerinden ve deneyimlerinden yararlandığım ve hiçbir konuda desteğini esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım **Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN**'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca değerli yardımlarını esiregemeyen ve tezimin proje yürütücüsü olarak görev alan değerli hocam **Doç. Dr. Fatih EKİCİ**'ye teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca bilgileriyle bana ışık tutan, desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam **Yrd. Doç. Dr. Duygu ÇAKIL**' a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamdaki biyokimyasal analizleri yapmamdaki yardımlarından dolayı Biyokimya A.D'dan **Yrd. Doç. Dr. Erkan SÖĞÜT** hocama teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamdaki istatistiksel analizleri yapmamdaki yardımlarından dolayı Biyoistatistik A.D'dan değerli hocam **Yrd. Doç. Dr. İlker ETİKAN**'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans ders dönemi ve tez aşaması boyunca her zaman yanımda olan ve dostluklarını esirgemeyen sevgili yüksek lisans arkadaşlarım **Şeyma ÖZSOY**, **Zeynep KASAP** ve **Hatice AYGÜN**'e ve yine Histoloji A.D'dan **Zafer İsmail KARACA** arkadaşıma değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Son olarak, tüm hayatım boyunca daima yanımda olan, benden sevgilerini, desteklerini esirgemeyen ve verdiğim kararları her zaman destekleyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Ayfer ÖZTÜRK

2009 yılında kaybettiğim

Sevgili babam Afer ÖZTÜRK'e...

ÖZET

Streptozotosin (STZ) ile Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Endotelin-A Reseptör

Antagonisti BQ-123'ün Plazma Leptin Düzeylerine Etkileri

ET_A reseptör antagonisti BQ-123'ün STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda leptin düzeylerine olan etkileri araştırılarak diyabette iki önemli endojen faktör, leptin ve ET-1 arasındaki ilişki değerlendirildi.

Çalışmada, 24 adet Wistar Albino erkek sıçan üç gruba ayrıldı; Kontrol, STZ, STZ+BQ-123 grupları. Deneysel diyabet, tek doz 60 mg/kg STZ *i.p.* uygulanarak oluşturuldu. STZ+BQ-123 grubundaki sıçanlara 39. ve 40. günlerde olmak üzere (2 mg/kg + 2 mg/kg) toplam 4 mg/kg BQ-123 *i.v.* verildi. Son BQ-123 uygulamasından 6 saat sonra alınan plazmada PC (Protein Karbonil), TBARS (Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri), NO (Nitrik Oksit), leptin, Na⁺, Cl⁻, K⁺ düzeyleri araştırıldı.

Deney sonunda, STZ ($p=0.0001$) ve STZ+BQ-123 ($p=0.015$) grubundaki sıçanların ağırlıkları, Kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. Kan glikoz düzeyleri STZ ve STZ+BQ-123 grubu sıçanlarda Kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($p=0.0001$). Plazma leptin düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.055$). Plazma TBARS düzeyi, STZ grubunda, Kontrol ($p=0.0001$) ve STZ+BQ-123 ($p=0.0004$) grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. PC düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ($p=0.665$). NO düzeyleri STZ ($p=0.001$) ve STZ+BQ-123 ($p=0.0001$) grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. Serum Na⁺ konsantrasyon değerleri, STZ grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p=0.001$). Serum K⁺ konsantrasyonu değerleri arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.375$). Serum Cl⁻ konsantrasyonu değerleri, STZ grubu ve

($p=0.0001$) ve STZ+BQ-123 ($p=0.0001$) grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü.

Sonuç olarak, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda Leptin, PC, K^+ düzeylerinde bir değişiklik meydana gelmediği; NO, Na^+ ve Cl^- düzeylerinde azalma ve TBARS düzeylerinde ise artış bulundu. BQ-123'ün ise diyabette azalan NO, Na^+ ve Cl^- düzeylerine anlamlı bir etkisinin olmadığı fakat diyabetik sıçanlarda artan serum TBARS düzeylerini azaltarak olumlu etki meydana getirdiği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Leptin, BQ-123, Endotelin-1, Streptozotosin

ABSTRACT

The Effects of Endothelin-A Receptor Antagonist BQ-123 over Plasma Leptin Levels in Rats with Streptozotocin-induced (STZ) Diabetes

We aimed to evaluate the relationship between leptin and ET-1, both of which are known as important endogenous factors in diabetes, by investigating the influence of BQ-123, an ET_A receptor antagonist, on leptin levels in rats with diabetes induced by STZ.

In this study, 24 male Wistar-albino rats were divided into three groups; Control, STZ, STZ+BQ-123 groups. Experimental diabetes was induced by delivering a single dose of 60 mg/kg intravenous STZ. The rats in the STZ+BQ-123 group received 2 mg/kg *i.v.* BQ-123 at 39 and 40 days (4 mg/kg in total). The plasma specimens collected 6 hours after the last BQ-123 delivery were studied for PC (Protein Carbonyl), TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances), NO (Nitric Oxide), leptin, Na⁺, Cl⁻, and K⁺ levels.

At the end of the experiment, the weights of rats in the STZ ($p=0.0001$) and STZ+BQ-123 ($p=0.015$) groups were significantly lower compared with the values in the Control group. Blood glucose levels were significantly higher in the STZ and STZ+BQ-123 groups than in the Control group ($p=0.0001$). There was no significant difference between the groups with regard to leptin levels ($p=0.055$). Plasma TBARS level was significantly higher in the STZ group than in the Control ($p=0.0001$) and STZ+BQ-123 ($p=0.0004$) groups. No statistically significant difference was observed between the groups in terms of PC concentration. NO levels were significantly lower in the STZ ($p=0.001$) and STZ+BQ-123 groups than in the Control group ($p=0.0001$). Serum Na⁺ concentration was significantly lower in the STZ group than in the Control

group ($p=0.001$), whereas there was no significant difference between the STZ+BQ-123 and Control groups. No significant difference was observed between the groups relative to K^+ values. Cl^- values were significantly lower in the STZ ($p=0.0001$) and STZ+BQ-123 ($p=0.0001$) groups than in the Control group.

In conclusion, while rats with STZ-induced diabetes demonstrated no changes with regard to Leptin, PC and K^+ levels, they exhibited reduced NO, Na^+ and Cl^- concentrations and significantly elevated TBARS levels. BQ-123 was found to have no significant impact over the Leptin levels and decreasing NO, Na^+ ve Cl^- concentrations in diabetes, whereas it was observed to have a positive effect by reducing increasing TBARS levels in diabetic rats.

Key Words: Diabetes, Leptin, BQ-123, Endothelin-1, Streptozotocin

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ETİK SÖZLEŞME.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İTHAF (ADAMA).....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
GRAFİKLER LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR LİSTESİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. DİABETES MELLİTUS (DM).....	6
2.1.1. Tanım	6
2.1.2. Tanı Kriterleri.....	7
2.1.3. Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırması.....	8
2.1.3.1. Tip 1 Diabetes Mellitus (IDDM).....	9
2.1.3.2. Tip 2 Diabetes Mellitus (NIDDM).....	10
2.1.3.3. Diğer Spesifik Tipler.....	11
2.1.3.4. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM).....	11
2.1.4. Pankreasın Histolojisi ve Fizyolojisi.....	12
2.1.5. Deneysel Diyabet Modelleri.....	13

2.1.5.1. Kimyasal Ajanlar ile Diyabet.....	13
2.1.5.2. Spontan Diyabet.....	13
2.1.5.3. Viral Diyabet.....	14
2.1.6. Streptozotosin (STZ) ile Diyabet Modeli.....	14
2.1.6.1. Sıçanlarda Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulması.....	16
2.1.6.2. Streptozotosin ile Oluşturulan Diyabet Modelleri.....	17
2.1.7. Diabetes Mellitus ile Nitrik Oksit (NO) Arasındaki İlişki.....	18
2.2. LEPTİN.....	19
2.2.1. Tanım	19
2.2.2. Leptinin Etki Mekanizması.....	20
2.2.3. Leptin Reseptörleri.....	22
2.2.4. Leptinin Sentezlenmesi.....	24
2.2.5. Leptin Sekresyonu.....	25
2.2.6. Leptin Sekresyonunun Regülasyonu.....	25
2.2.7. Leptinin Fizyolojik Fonksiyonları.....	25
2.2.8. Leptin Rezistansı.....	26
2.2.9. Leptin ve Diabetes Mellitus Arasındaki İlişki.....	26
2.2.10. Leptin ve Nitrik Oksit Arasındaki İlişki.....	29
2.3. ENDOTELİNLER.....	29
2.3.1. Tanım.....	29
2.3.2. Endotelinlerin Yapısı ve Sentezi.....	30
2.3.3. Endotelinlerin Hücresel Etki Mekanizmaları.....	32
2.3.4. Endotelin Reseptörleri.....	33
2.3.5. Endotelin Reseptör Antagonistleri.....	35

2.3.6. Endotelin-A (ET _A) Reseptör Antagonisti: BQ-123.....	36
2.3.7. Plazma Endotelin Düzeyleri.....	37
2.4. DİABETES MELLİTUS ve ENDOTEL DİSFONKSİYONU.....	38
2.5. ENDOTEL DİSFONKSİYONUNUN BİR GÖSTERGESİ OLARAK ENDOTELİN-1.....	40
2.5.1. Endotelin-1 ve Diabetes Mellitus Arasındaki İlişki.....	40
2.5.2. Endotelin-1 Reseptör Antagonistlerinin Diabetes Mellitusta Etkileri...	41
2.5.3. Endotelin-1 ve Leptin Arasındaki İlişki.....	42
3. MATERYAL ve METOD.....	44
3.1. Deney Grupları ve Deney Protokolü.....	45
3.2. Deneysel Diyabet Oluşturulması.....	48
3.3. Kardiyak Kan Alma.....	48
3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri.....	48
3.5. Biyokimyasal Analizler.....	49
3.5.1. Plazma Leptin Düzeyinin Ölçümü.....	49
3.5.2. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Miktarının Ölçümü...	50
3.5.3. Protein Karbonil (PC) Miktarının Ölçümü.....	50
3.5.4. Nitrik Oksit (NO) Miktarının Ölçümü.....	51
3.5.5. Diğer Biyokimyasal Analizler.....	51
3.5.6. İstatistiksel Analizler.....	51
4. BULGULAR.....	53
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	65
KAYNAKLAR.....	76

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1.2.1:	DM tanı kriterleri.....	7
Tablo 2.1.2.2:	IFG ve IGT tanı kriterleri	8
Tablo 2.1.3.1:	Diabetes Mellitus'un sınıflandırılması	9
Tablo 2.3.2.1:	Endotelin salınımını uyaran ve inhibe eden faktörler.....	32
Tablo 3.1.1 :	Deney grupları	46
Tablo 3.1.2 :	Deney Protokolü.....	47
Tablo 4.1.1 :	Deney boyunca sıçanların canlı ağırlık düzeyleri (gr)	53
Tablo 4.1.2 :	Deney boyunca sıçanların açlık kan-glikoz düzeyleri (mg/dl).....	55
Tablo 4.2.1 :	Deney sonundaki leptin, protein karbonil (PC), tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS), nitrik oksit (NO) düzeyleri.....	57
Tablo 4.3.1 :	Deney gruplarının Na^+ , K^+ , Cl^- düzeyleri.....	62

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.6.1	: Streptozotosin (STZ)'nin yapısı.....	15
Şekil 2.2.2.1	: Leptinin biyolojik etkilerinin şematik gösterimi. Adipoz dokuda leptin üretimi. Leptinin hipotalamus, immün sistem, anjiyogenezis, endokrin pankreas, overler, otonomik sistem ve kemik iliğindeki santral ve periferel etkileri.....	21
Şekil 2.3.2.2	: ET-1 ₍₁₋₂₁₎ ve ET ₍₁₋₃₁₎ peptidlerinin biyosentezi	31
Şekil 2.3.3.1	: Endotelinlerin Etki Mekanizması.....	33
Şekil 2.3.7	: BQ-123'ün kimyasal yapısı	37
Şekil 2.4.1	: Diabetes Mellitus'ta endotel disfonksiyonu.....	38

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 4.1.1	: Deney boyunca sıçanların canlı ağırlık düzeyleri	54
Grafik 4.1.2	: Deney boyunca sıçanların açlık kan glikoz düzeyleri.....	56
Grafik 4.2.1	: Deney gruplarının leptin düzeyleri	58
Grafik 4.2.2	: Deney gruplarının TBARS düzeyleri.....	59
Grafik 4.2.3	: Deney gruplarının PC düzeyleri.....	60
Grafik 4.2.4	: Deney gruplarının NO düzeyleri.....	61
Grafik 4.3.1	: Deney gruplarının Na ⁺ değerleri	63
Grafik 4.3.2	: Deney gruplarının K ⁺ değerleri	64
Grafik 4.3.3	: Deney gruplarının Cl ⁻ değerleri.....	64

KISALTMALAR LİSTESİ

α-MSH	:	Alfa –melanositi stimüle edici hormon
aa	:	Aminoasit
ADA	:	American Diabetes Association
AgRP	:	Agouti-Related Peptid
AMPK	:	Adenozin monofosfat ile aktive olan kinaz
ANP	:	Atrial natriüretik peptid
A II	:	Anjiyotensin II
Anti GAD	:	Glutamik asit dekarboksilaza karşı gelişen antikorlar
APG	:	Açlık plazma glikozu
ATP	:	Adenozin Trifosfat
BQ-123	:	Selektif Endotelin-A reseptör antagonisti
CART	:	Cocaine-Amphetamine-Regulated Transcript
cGMP	:	Siklik guanozin monofosfat
DAG	:	Diaçil gliserol
DM	:	Diabetes Mellitus
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
ECE	:	ET-converting enzyme
EDRF	:	Endotel kaynaklı gevşeme faktörü
eNOS	:	Endotelyal nitrik oksit sentetaz
ELISA	:	Enzime bağlı immün analiz
EMC	:	Ensefelomiyokardit
ERA	:	Endotelin reseptör antagonisti
ET	:	Endotelin

ET-1	:	Endotelin-1
ET-2	:	Endotelin-2
ET-3	:	Endotelin-3
ET_A	:	Endotelin-A
ET_B	:	Endotelin- B
FLA₂	:	Fosfolipaz A ₂
FLC	:	Fosfolipaz C
GC	:	Guanilat siklaz
GDM	:	Gestasyonel Diabetes Mellitus
HUVECs	:	İnsan umbilikal ven endotel hücreleri
IAA	:	İnsülin antikorları
IA-2	:	Islet antijen antikor
ICA	:	Anti adacık hücresi antikorları (Islet Cell Antibodies)
IDDM	:	İnsüline bağımlı diabetes mellitus
IFG	:	Bozulmuş açlık glikozu (impaired fasting glycemia)
IGT	:	Bozulmuş glikoz toleransı (impaired glucose tolerance)
IL-1	:	İnterlökin-1
IL-6	:	İnterlökin-6
IP₃	:	İnositol 1,4,5 trifosfat
PGI₂	:	Prostaglandin I ₂
PGE₂	:	Prostaglandin E ₂
PI3K	:	Fosfotidilinositol-3-kinaz
PKG	:	Protein kinaz
iNOS	:	Uyarılabilir (indüklenebilir) nitrik oksit sentetaz

i.v.	:	İntravenöz
i.p.	:	İntraperitonal
JAK	:	Janus kinaz
JAK2	:	Janus kinaz 2
KDa	:	Kilodalton
LHA	:	Lateral hipotalamik alan
MAP	:	Mitojenle aktive olan protein
MC3R	:	Melanokortin-3 reseptörü
MC4R	:	Melanokortin-4 reseptörü
MSS	:	Merkezi sinir sistemi
nNOS	:	Nöral nitrik oksit sentetaz
NAD	:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NIDDM	:	İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus
NIH	:	Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü
NO	:	Nitrik oksit
NOS	:	Nitrik oksit sentetaz
NPY	:	Nöropeptid Y
Ob	:	Obezite geni
Ob/ob	:	Homozigot ob geni mutant
OB-R	:	Leptin reseptörü
OB-Ra, OB-Rc, OB-Rd	:	Kısa leptin reseptörleri
OB-Rb	:	Uzun leptin reseptörü
OB-Rs	:	Kısa leptin reseptörleri
OB-RL	:	Uzun leptin reseptörleri

OGTT	:	Oral glukoz tolerans testi
PC	:	Protein karbonil
PGI₂	:	Prostasiklin
PI3K	:	Fosfotidilinositol-3-kinaz
POMC	:	Pro-opiomelanokortin
PreproET-1	:	Preproendotelin-1
PVA	:	Paraventriküler alan
SHP2	:	SH2 bölgesi içeren fosfotaz 2
STAT	:	İletici ve aktive edici transkripsiyon sinyali
STAT3	:	İletici ve aktive edici transkripsiyon sinyali 3
STZ	:	Streptozotosin
TBARS	:	Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri
TGFβ	:	Transforming growth faktör - β
Tip 1 DM	:	Tip 1 Diabetes Mellitus
Tip 2 DM	:	Tip 2 Diabetes Mellitus
TNF-α	:	Tümör nekroz faktör alfa
TxA₂	:	Trombaksan-A ₂
VIC	:	Vazoaktif intestinal-konstriktör peptid
VKİ	:	Vücut kitle indeksi
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü (World Healty Organization)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus (DM), insülinin gerçek ya da fonksiyonel eksikliği sonucu ortaya çıkan, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasının bozukluğu ile karakterize, çağımızın en sık görülen endokrin ve metabolik bozukluğudur (Sperling, 2004).

Günümüzde çeşitli maddeler ve yöntemler ile de deneysel diyabet modelleri oluşturulabilmektedir. Deneysel diyabet modeli oluşturmada kullanılan maddelerden biri de streptozotosin (STZ)'dir. STZ, onkolitik, onkojenik ve diyabetojenik özelliği olan dar spektrumlu bir antibiyotiktir. Molekül ağırlığı 457 dalton olan STZ, 1959 yılında "*Streptomyces achromogenes*" kültürlerinden elde edilmiştir (Herr ve ark., 1960). STZ diyabetojenik etkisini pankreastaki beta hücrelerini tahrip ederek gösterir. Hipergliseminin derecesi ve süresi, ilacın süresine, dozuna ve deney hayvanı türüne bağlıdır (Tozzo ve ark., 1997).

Endotelinler vücutta bir çok hücre tipinde doğal olarak oluşan peptidlerdir ve bilinen en güçlü vazokonstriktör moleküllerdir (Tamirisa ve ark., 1995; Stevenson ve ark., 1992). İnsan ve diğer memelilerde, yapısal ve farmakolojik etkileri farklı 3 Endotelin (ET) isopeptidi bulunmaktadır (Inoue ve ark., 1989). ET-1, ET-2 ve ET-3 olarak adlandırılan bu peptidler, insan, fare ve domuz genomlarında farklı kromozomlarda bulunan 3 farklı gen tarafından kodlanır (Bloch ve ark., 1989; Inoue ve ark., 1989). Başlangıçta kan damarlarının endoteliumundan üretilen peptidler oldukları düşünülse de, bir çok farklı dokuda üretildikleri bilinmektedir (Economos ve ark., 1992).

Endotelin-1 (ET-1), endotel hücrelerinde sentez edilen yegane endotelindir (Inoue ve ark., 1989). ET-1 ayrıca solunum epiteli, makrofajlar, fibroblastlar, kardiyak miyositler, nöronlar ve langerhans adacıkları tarafından da üretilebilirler (Gürel, 2009).

Endotelial ve düz kas hücrelerinde bulunan Endotelin-A (ET_A) ve Endotelin-B (ET_B) reseptörleri üzerinden parakrin ve otokrin etkilerini gösterirler (Economos ve ark., 1992). Endotelin reseptörleri tüm vücutta yaygın olarak yer alırlar. ET_A reseptörü ET-1 ve ET-2'ye yüksek afinite gösterirken ET-3'e ise zayıf bir afinite gösterir. ET_B ise bu üç izoforma eşit afinite göstermektedir (Masaki T., 1993).

Endotelinlerin çeşitli hastalıkların fizyopatolojisinde yer aldığına anlaşılmaya başlanmasıyla bunların istenmeyen etkilerini ortadan kaldıracak endotelin reseptör antagonistleri üzerinde çalışılmaya başlanmıştır. Bu amaçla, son yıllarda değişik kompetitif reseptör antagonistleri tanımlanmıştır (Turgan ve ark., 1996). İlk endotelin reseptör antagonisti, 1991'in başlarında Ihara ve ekibinin ET_A selektif reseptör antagonisti BQ-123'ü bulmasıyla ortaya çıkmıştır (Ray ve ark., 2000).

Yapılan araştırmalar diyabette ET-1 düzeylerinin arttığını göstermiştir ve bunu destekleyen birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, Makino ve Kamata 1998 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, hiperglisemi oluşumunun yanısıra ET-1 düzeylerinin de anlamlı bir şekilde arttığını bulmuşlardır (Makino ve Kamata, 1998). Yang ve arkadaşları ise diyabetik Wistar sıçanlarda kan ve idrar endotelin-1 düzeylerini yüksek olarak saptamışlardır (Yang ve ark., 2003). Diyabetiklerdeki ET-1 düzeylerindeki bu artışı indükleyen en önemli metabolik değişikliklerden biri hiperglisemidir. Sığır retinal kapiller endotel hücrelerinin kullanıldığı hücre kültür çalışmalarında, yüksek glikoz düzeyinin protein kinaz C yolağı üzerinden ET-1 salınımını arttırdığı bulunmuştur (Park ve ark., 2000). Stres ve diyabet gibi çeşitli durumlarda plazma endotelin düzeylerinin yükseldiği rapor edilmiştir. ET-1'in karaciğerde glikojenolizi sitümüle ettiği ve insülin rezistansına neden olduğu bulunmuştur. Sonrasında çeşitli durumlarda meydana gelen metabolik değişikliklerde

ET-1'in rolü olup olmadığı soruları akla gelmiştir (Said ve ark., 2005). Bunu test etmek için Said ve ark., tarafından, sıçanlarda STZ ile orta (38 mg/kg STZ) ve ağır (45 mg/kg STZ) derecede diyabet modeli oluşturulmuş ve E_A/E_B reseptör antagonisti bosentanın (50 ve 100 mg/kg) serum glikoz, insülin ve karaciğer glikoz düzeylerine olası etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda, orta derecede diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, bosentan tedavisinden 2 ve 4 saat sonra serum glikoz düzeylerinin belirgin bir şekilde azaldığı bulunmuştur. Ağır derecede diyabet oluşturulmuş sıçanlarda ise, başlangıç değeriyle kıyaslandığında, bosentan tedavisi insülin ve glikoz düzeylerinde belirgin bir değişim meydana getirmemiştir (Said ve ark., 2005).

Leptin, Yunanca "leptos" kelimesinden türetilmiş, zayıflatıcı ve ince anlamına gelen, yağ hücresinde ve diğer bir çok dokuda ob-gen tarafından üretilen ve plazmaya salınan bir hormondur (Caro ve ark., 1996; Wilding ve ark.,1997). Molekül ağırlığı16 kDa, 167 aminoasit içeren, plazmada belirli bir kan düzeyi oluşturan, kanda serbest halde ve proteine bağlı olarak taşınan bir polipeptittir. Ob-gen tarafından üretildiği için fizyologlar tarafından ob protein de denilmiştir (Auwerx ve ark., 1998; Wilding ve ark., 1997). Leptinin dolaşımdaki yarı ömrü yaklaşık 30 dakikadır ve pulsatif olarak yemeklerden 2-3 saat sonra salgılanır. Diürinal bir ritmi vardır ve sabah erken saatlerde pik yaparken, öğleden sonra en düşük düzeylere iner (Boden ve ark., 1997). Kana geçtikten sonra özel reseptörleri aracılığı ile kan beyin bariyerini aşarak merkezi sinir sistemine ulaşır ve besin alımını azaltıp, enerji harcanmasını arttırarak etkisini gösterir (Wilding ve ark., 1997; Scrocchi ve ark., 1997).

Leptinin ilişkili olduğu hormonlar arasında en çok araştırılmış olanı insüлиндür ve insülin ob gen ekspresyonunun önemli bir düzenleyicisidir (Leroy ve ark., 1996). Yapılan *in vivo* çalışmalarda, leptinin normal ve obez kemirgenlerde, özellikle

hipotalamus aracılığı ile glikoz metabolizmasını ve insülin duyarlılığını artırdığını gösterilmiştir. Ek olarak, leptinin diyabetik farelerde antidiyabetik etkisinin olduğu da bildirilmiştir (Gültürk ve Demirkazık, 2007). STZ kullanılarak insüline bağımlı diyabet oluşturulmuş sıçanlarda ve transgenik farelerde, leptinin güçlü antidiyabetik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Chinookoswong ve Wang, 1999). Leptinin bu etkisinin, santral sinir sistemi aracılığı ile mi, yoksa direkt periferik dokular üzerine etkileri ile mi olduğu tam olarak bilinmemektedir. Fakat leptinin intravenöz (*i.v.*) ve intra serebroventriküler (*i.c.v.*) infüzyon sonrasında hepatik glikoz metabolizmasını arttırması, bu durumun santral sinir sistemi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (Kamohara ve ark., 1997). Bunun yanında, perfüze sıçan karaciğerinde glikoneogenezis ve glikojenoliz üzerinde etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Bu nedenle, leptinin olası antidiyabetik etkilerinin, hem periferik dokulardaki hem de santral sinir sistemindeki etkilerinin birleşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir (Nemecz ve ark., 1999).

Diyabetik hastalarda, insülin ve leptin arasında pozitif bir korelasyon olduğu ve insülinin hem *in vivo* hem de *in vitro* koşullarda adipoz dokuda leptin üretimini uyardığı gösterilmiştir (Surwit ve ark., 1997). Literatür çalışmalarında diyabette leptin seviyelerinin azaldığı saptanmıştır (Sivitz ve ark., 1998). Aynı zamanda, uzun süreli hiperinsülinemide plazma leptin düzeylerinin arttığı bulunmuştur. Buradan insülinin yağ hücresinde ob-geni stimüle ederek leptin üretimini direkt yolla arttırdığı bildirilmektedir (Kolaczynski ve ark., 1996; Segal ve ark., 1996).

Leptin ve ET-1 arasındaki ilişkiyi, farklı hastalıklar ve sistemler üzerinde değerlendiren bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Xiong ve ark.larının yaptıkları bir çalışmada ET-1'in adiposit kültürlerinde ET_A reseptörü ile leptin üretimini uyardığını bulmuşlardır (Xiong ve ark., 2001). Yine Juan ve ark.larının yaptığı başka bir

çalışmada leptinin, vasküler düz kas hücrelerinde ET_A reseptör düzeylerinde artış meydana getirdiği bulunmuştur (Juan ve ark., 2007).

Quehenberger ve ark.larının yaptığı bir çalışmada, endotelial hücrelerde leptinin endotelin-1'i indüklediği bulunmuştur (Quehenberger ve ark., 2002). Bu veriler leptin ile ET-1 düzeyleri arasındaki ilişkiye bağlı olarak diyabette artan ET-1 düzeylerinin, plazma leptin düzeylerini de etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Değişik hastalıklarda ve sistemlerde hem ET-1'i hem de leptini ayrı ayrı değerlendiren birçok çalışma bulunmasına karşın, ET-1 ve leptinin diyabette birbirlerini nasıl etkilediklerini ve ET reseptör antagonistlerinin diyabette plazma leptin düzeylerini nasıl etkilediğini gösteren bir çalışma bulunamadı. Bu nedenle çalışmamızda, ET_A reseptör antagonisti BQ-123'ün STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçalardaki leptin düzeylerine olan etkilerini araştırmayı amaçladık.

Yapılan çalışmalar, STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda, leptin düzeylerinde azalma meydana gelebileceğini göstermektedir. Bu azalmanın ET_A reseptör antagonisti BQ-123 verilen diyabetik sıçanlarda nasıl etkileneceği bilimsel merak konumuz olmuştur. Çünkü diyabette ET-1 düzeylerinin arttığını, endotelinlerin de leptin sekresyonunu up-regüle ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur.

Dolayısıyla ET reseptör antagonisti uygulaması ile diyabette zaten azalmış olan leptin düzeyleri dahada azalabilir. Diyabette leptin düzeylerinin azalmasının olumsuz etkilere yol açtığı bilinmektedir. Öyleyse diyabette azalan leptin düzeyini ET_A reseptör antagonistinin nasıl etkileyeceği saptanmalıdır.

Çalışmamızda diyabette iki önemli endojen faktör olduğu bilinen leptin ve ET-1 arasındaki ilişkiyi farklı parametreler ışığında değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİABETES MELLİTUS (DM)

2.1.1. Tanım

Diyabet eski Yunanca'da "sifon" anlamına gelmektedir ve aşırı idrar yapımını anlatır. Mellitus kelimesi ise yine Yunanca'da "bal" anlamına gelen mel kelimesinden geliştirilmiştir (Sodeman, 1992).

DM, insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak veya göreceli azlığı sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan, kronik hiperglisemik bir grup metabolizma hastalığıdır (Altuntaş, 2001). Karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarındaki bozukluğun temelinde, insülin etkisindeki yetersizlik, azalmış sekresyon veya insüline verilen doku yanıtında azalma yatmaktadır (Rosenbloom and Silverstein, 2004).

Diyabette, ana besin maddelerinin metabolizmaları değişmiştir. İnsülin yokluğunun veya insülin direncinin glikoz metabolizmasına başlıca etkisi, beyin hariç glikozun birçok hücre tarafından alınmasının ve kullanılmasının engellenmesidir. Sonuç olarak, kan glikoz konsantrasyonu artar, glikozun kullanımı giderek azalır ve yağların ve proteinlerin kullanımı artar (Guyton ve Hall, 2007).

DM'nin seyri sırasında makrovasküler, mikrovasküler ve nöropatik komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bu komplikasyonlar sonucunda birçok organın, özellikle göz, sinir, böbrek, kalp ve kan damarlarının hasarı, fonksiyon bozukluğu ve yetmezliği gelişebilmektedir (Expert Committee, 2003; Bennett ve ark., 2005). Belirgin hipergliseminin semptomları poliüri, polidipsi, kilo kaybı, bazen de polifaji ve görme bozukluğunu içerir (Altuntaş, 2001; Arslan, 2005).

Diyabette kan glikoz düzeyi uzun bir süre kontrol altında tutulamadığında, birçok dokuda kan damarlarının işlevleri bozulur ve yapısal değişiklikler ortaya çıkar. Bu değişiklikler dokulara giden kan miktarında yetersizliğe yol açabilir. Buna bağlı olarak, kalp krizi, inme, son dönem böbrek hastalığı, retinopati ve körlük ve ekstremitelerde iskemi, gangren gelişme riski artar (Guyton ve Hall, 2007).

2.1.2. Tanı Kriterleri

Amerikan Diyabet Birliği (ADA)'nın 2005 yılında yayınladığı "DM'in tanısı ve sınıflandırılması isimli raporunda (American Diabetes Association, 2005), DM tanı kriterlerini aşağıdaki şekilde (tablo 2.1.2.1) tanımlamıştır. DM tanısı koymak için aşağıda sıralanan kriterlerden herhangi birinin bulunması yeterlidir.

Tablo 2.1.2.1. DM Tanı Kriterleri (ADA, 2005)

-
-
- Diyabet semptomlarının (poliüri, polidipsi, açıklanamayan kilo kaybı) bulunması ve günün herhangi bir zamanı bakılan kan şekerinin ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) olması.
 - Açlık* plazma glikozunun (APG) ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/l) olması
 - Oral glukoz tolerans testi (OGTT)'nde yüklemeden 2 saat sonra glikoz konsantrasyonunun ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) olması. Bu test Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından tanımlanan kriterlere göre yapılmalıdır. Suda erimiş olan 75 g ya da maximum 75 g olmak üzere, vücut ağırlığına göre 1.75 g/kg glikoz yüklemesi yapılmalıdır.

* Açlık, en az 8 saat boyunca kalori alımı olmaması şeklinde tanımlanmaktadır.

Kriterlerden bir tanesi saptandığında, ayrı bir gün, üç testten herhangi biri ile doğrulanmalıdır.

Karbonhidrat metabolizmasındaki bozulma kesintisiz bir süreçtir ve DM tablosuna doğru yavaş bir gelişim göstermektedir (Rosenbloom ve Silverstein, 2004). Bozulmuş açlık glikozu (IFG) ve bozulmuş glikoz tolerans (IGT) bozukluğu tablo 2.1.2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1.2.2: IFG ve IGT tanı kriterleri (ISPAD, 2006).

APG düzeyine göre kavramlar	
• APG < 5.6 mmol/L (100 mg/Dl)	= normal açlık glikozu
• APG 5.6-6.9 mmol/l (100-125 mg/dl)	= IFG
• APG ≥ 7.0 mmol/L (126 mg/dl)	= diabet tanısı (tanı diagnostik kriterler ile doğrulanmalıdır).
OGTT yapıldığında kategorilere karşılık gelen kavramlar	
• Yüklemeden 2 saat sonra glikoz <7.8 mmol/L (140mg/dl)	= normal glikoz toleransı
• Yüklemeden 2 saat sonra glikoz <7.8-11.1 mmol/L (140-199 mg/dl)	= IGT
• Yüklemeden 2 saat sonra glikoz >11.1 mmol/L (200mg/dl)	= diabet tanısı (tanı diagnostik kriterler ile doğrulanmalıdır).

2.1.3. Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflandırılması

1979 yılında, Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) Diabetes Veri Grubu, DM'yi insüline bağımlı ve insüline bağımlı olmayan DM olmak üzere 2 gruba ayırmıştır. Bu sınıflandırma patagonez ve etyoloji hakkında yetersiz kalınca ,1997 yılında, ADA ve WHO insüline bağımlı diyabet ve insüline bağı olmayan diyabet kavramlarını sınıflandırmadan çıkarıp günümüzde de kabul gören şekilde DM'yi 4 gruba ayırmıştır (ADA, 2005) (Tablo 2.1.3.1)

Tablo: 2.1.3.1. DM'in Sınıflandırılması, ADA 2005 (American Diabetes Association, 2005).

I	Tip I DM	İmmün mekanizmaya bağlı veya idiyopatik diyabet.
II	Tip II DM	İnsülin direnci ve insülin salgısında defekt sonucunda oluşan diyabet.
III	DİĞER SPASİFİK TİPLER	<p>β (beta) hücre genetik defektleri</p> <p>İnsülin etki mekanizmasında genetik defektler</p> <p>Ekzokrin pankreas hastalıkları</p> <p>Endokrinopatiler</p> <p>İlaç ve kimyasal madde aracılı diyabet</p> <p>İnfeksiyonlar</p> <p>İmmun mekanizmaya bağlı nadir formlar</p> <p>Diyabet ile ilişkili olabilen diğer genetik sendromlar</p>
IV	GESTASYONEL DM (GDM)	Gebeliğe bağlı olarak plasental hormonların insülin rezistansına yol açmasına bağlı olarak gelişen diyabet.

2.1.3.1. Tip I Diabetes Mellitus (İnsüline Bağımlı Diyabet; IDDM)

Tam bir insülin etkisi eksikliği, önemli bir hayati tehlikeye yol açan metabolik bozukluğa neden olur. Selektif β hücrelerinin yıkımının bir sonucu olarak, primer insülin eksikliği, tip-1 diabetes mellitus olarak bilinir. Hastalık genellikle yıkıcı bir

otoimmün süreci tetikleyen olası bir çevresel zarara bağlı genetik olarak aktarılan yaralanma olasılığı ile sonuçlanır. İnsülin yetersizliğinin bir sonucu olarak hepatik glikoz üretimi baskılanması ortadan kalkar ve periferik glikoz kullanım etkinliği azalır. Bu süreçler arasında 300-1000 mg/dl'lik çok yüksek düzeydeki glikoz seviyelerinde yeni bir dengeye ulaşır (Berne ve ark., 2008).

Diyabetin bu formu juvenil başlangıçlı olarak bilinmekle birlikte her yaşta oluşabilir. Tip I diyabet olgularının çoğu 20 yaşından önce ortaya çıkmaktadır ve beta hücrelerinin yıkımına neden olmaktadır (Dunger ve ark, 2004; Başkal, 2005). Bu diyabet tipinde hayatta kalmak için mutlaka insüline ihtiyaç vardır. Tip I DM' li hastalar, hastalık tanınır karakter kazanmadan önce metabolik olarak normaldirler, ancak beta hücre yıkımı, otoantikorların kesin olarak gösterilmesi ile erkenden yakalanabilir.

Tip 1 DM genellikle, beta hücre yıkımına sebep olan otoimmün belirteçlerden; glutamik asit dekarboksilaza karşı gelişen antikorlar (anti GAD), anti-adacık hücresi antikorları "Islet Cell Antibodies (ICA)", insülin antikorları (IAA), trozin fosfataz IA-2 ve IA-2b otoantikorlarının varlığı ile karakterizedir ve bu antikorlardan bir yada daha fazlasına sahip olan hasta immün aracılıklı Tip-1 diyabet olarak sınıflandırılır (Bennet ve Knowler, 2005; Arslan, 2005; Başkal, 2005).

2.1.3.2. Tip II Diabetes Mellitus (İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabet; NIDDM)

Tip 2 DM insülin direnci ve insülin salgısında defekt sonucunda oluşmaktadır. Tip 1'e oranla daha sık görülmektedir ve erişkin dönem başlangıçlı DM olarak tarif edilmiştir. Ancak çocuklarda ve adolesanlarda giderek artan sıklıkta görülmektedir (Vivian, 2006).

Tip 2 diyabet hetorejen bir hastalık olup, karaciğer, kas ve adipoz dokuda insülin duyarlılığının azalması ve beta hücre fonksiyon bozukluğu ile karakterizedir (Başkal, 2005). Tip 2 diyabetin erken safhasında, insülin etkisine direnç ve hiperproinsülinemiye düzeltmeye ilave olarak, insülin salınımında güç fark edilen anormallikler de görülür. Değişmiş siklus, azalmış dalga frekansı ve artan glikoz düzeyine geciken cevabı içeren bu anomaliler, daha sonra insülin salgısı için uyarıcı olan glikozu tanıma özelliğini tamamen kaybedecek değişikliklere uğrar. Sonuçta diğer besin ve farmakolojik uyarılarda etkisiz hale gelir ve insülinli bir tedavi gerektirir (Berne ve ark., 2008).

2.1.3.3. Diğer Spesifik Tipler

Pankreas harici hastalıklar ve ilaç tedavisi gibi çok sayıda özel nedenin, kan şekeri yükselmesine neden olabileceği bildirilmektedir (Chan ve ark., 1996). Pankreatit, enfeksiyon, travma, pankreotektomi, neoplazi diyabete yol açabilir. Yine çeşitli endokrinopati formları da diyabetle ilişkilidir (Rudolph ve ark., 2002). Diyabetojenik etkili kimyasallar (beta-blokerler, kalsiyum kanal blokerleri, fenitonin, oral kontraseptifler, tiyazid türevi diüretikler, alloksan, streptozotosin vs.) sekonder olarak diyabet oluşumuna neden olabilirler (Suzuki, 2002).

2.1.3.4. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)

Diyabetin bu tipinde, gebelik sırasında ilk kez glikoz düzeyinin yükselmesi ve glikoz toleransının bozulması söz konusudur. Plesanta ve plesantal hormonlar insülin rezistansına yol açmaktadır. Bu durum gebeliğin son trimestrında belirginleşmektedir (Buchanan ve Xiang, 2005).

2.1.4. Pankreasın Histolojisi ve Fizyolojisi

Pankreas hem endokrin hem ekzokrin bir bez olup, insan pankreası yaklaşık 65-125 g ağırlığında uzun ve sarı renkte bir organdır. Sıçan pankreası ise yaklaşık 5-15 g ağırlığındadır (Başaran, 2005; Bhogavan, 2001)

Pankreas başlıca 2 tip dokudan meydana gelmiştir. Bunlar: duodenuma sindirim sıvılarını salgılayan asinüsler ve insülin ve glukagonu doğrudan kana salgılayan *Langerhans adacıkları*'dır. İnsan pankreası, içine hormonların salgılandığı küçük kapillerler çevresinde organize olmuş, her biri yaklaşık 0,3 mm çapında 1-2 milyon Langerhans adacığına sahiptir. Bu adacıklar birbirlerinden morfolojileri ve boyanma özellikleri ile ayırt edilebilen başlıca üç farklı tipte hücre içerirler. Bunlar *alfa*, *beta* ve *delta* hücreleridir (Guyton ve Hall, 2007). Sıçan pankreasının bir gramında 17105 langerhans adacığı tespit edilmiş olup, tümünde bu sayı 85000-250000 arasındadır (Yenigün, 1995). Beta hücreleri tüm hücrelerin yaklaşık % 60'ını oluştururlar ve temel olarak adacıkların ortasında yer alırlar. Bu hücreler insülin ve insülin ile birlikte salgılanan ve işlevi tam olarak bilinmeyen amilin hormonu salgırlar. Toplam hücre sayısının % 25 kadarını oluşturan alfa hücreleri glukagon salgırlar. Toplam hücre sayısının % 10 kadarından sorumlu delta hücreleri ise, somatostatin salgırlar. Langerhans adacıklarında bu hücre tipleri arasında görülen karşılıklı sıkı ilişki, hücrelerin birbirleriyle iletişimine ve hormonlardan bazılarının salgılanmasının diğer hormonlar tarafından doğrudan denetimine izin verir (Guyton ve Hall, 2007).

2.1.5. Deneysel Diyabet Modelleri

Günümüzde çeşitli hastalıklara tanı konması, patogenezlerinin aydınlatılması, hastalıktan korunma ve tedavi olanaklarının incelenebilmesi için deneysel hayvan

modellerinin kullanımı oldukça yaygındır (İrer ve Alper, 2004). Günümüze dek tanımlanmış birçok hayvan diyabet modeli bulunmakla beraber, bu modellerden hiç biri insan diyabetine tam olarak eş değer tutulamaz (Pickup ve 2002).

Çok çeşitli deneysel diyabet modelleri bulunmaktadır. Deneysel hayvanlarında deneysel diyabet oluşturulması kimyasal ajanlarla, spontan olarak veya virüs aracılığı ile yapılabilmektedir (Chang ve ark., 1978; Kohnert ve ark., 1999; Ejrnaes ve ark., 2006). Her modelin avantaj ve dezavantajı olmakla birlikte, alloksan ve streptozotosin verilerek oluşturulan diyabet daha çok IDDM ile benzerlik gösterir (Öztürk ve ark., 1996). Fare, sıçan, tavşan, kobay, hamster, maymun, domuz, köpek ve kedi gibi deneysel hayvanları deneysel diyabet oluşturmak amacı ile kullanılabilir (Alarcon-Aquilar ve ark., 2000; Pari ve ark., 2000; Van de Maele ve ark., 2005).

2.1.5.1. Kimyasal ajanlar ile diyabet

Alloksan ve streptozotosin bu amaçla en çok kullanılan kimyasal ajanlardır (Öntürk ve Özbek, 2007). Alloksan ve streptozotosin beta hücre yıkımı ile insanlardaki IDDM' e benzer diyabet meydana getirir (Vega ve ark., 1993).

2.1.5.2. Spontan diyabet

Genetik olarak yatkın çeşitli hayvanlarda spontan diyabet oluşumları vardır ve diğer modellere göre insandaki diyabete daha çok benzerlik gösterirler. Ancak bu hayvanların temini her zaman çok kolay değildir (Gottlieb, 1988; Öztürk ve ark. 1996). Çin hamsteri, BB (Bio Breeding) Wistar sıçan, OB (DB: C57BL/KSJDB) fare, Makak maymunu, Güney Afrika hamsteri, sarı fare, Japon KK faresi, Welesley hibrid fare, Spiny fare, kum sıçanları (Öztürk ve ark., 1996) ve Non obese diyabetik (NOD) fare

(Boquist, 1989) örnek olarak verilebilir.

2.1.5.3. Viral diyabet

Hem insanlarda hem hayvanlarda, viral enfeksiyonlar diyabet nedeni olabilmektedir. Bu güne kadar insanlarda ve hayvanlarda diyabet gelişimi ile ilişkili bir çok farklı virüs bildirilmiştir. Virüslerden en çok üzerinde çalışılmış olan ensefalomiyokardit (EMC) virüsünün M varyantıdır. Farelerde bu virüsün enjeksiyonu sonrası yaklaşık % 40'ında pankreatik insülinitis gelişir ve ardından hastalık, inatçı hiperglisemi, glikoz tolerans bozukluğu veya ketoasidoz ve ölüm ile sonuçlanabilir (Pickup ve ark., 2002; Jun ve ark., 2001). Deneysel diyabet oluşturan diğer virüsler şunlardır: coxachi virüs, el ayak hastalığı virüsü, EMC virüsünün M varyantı, rubella, reovirus, Venezuela equine ensefalit virüsü (Craighead ve ark., 1986).

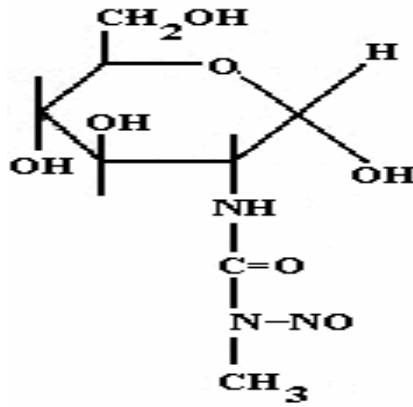
2.1.6. Streptozotosin (STZ) ile Diyabet Modeli

Molekül ağırlığı 457 dalton olan STZ, onkolitik, onkojenik ve diyabetojenik özelliği olan dar spektrumlu bir antibiyotiktir. 1959 yılında “*Streptomyces achromogenes*” kültürlerinden elde edilmiştir (Herr ve ark., 1960). STZ pankreas β hücrelerine doğrudan toksik etkilidir. Yapısında bir glikoz molekülü içerdiği için plazma membranındaki glikoreseptörlere bağlanan STZ glikozla uyarılan insülin salınımını bloke eder. STZ pankreas dokusu dışında böbrek ve karaciğerde hasar verir. (Pickup ve ark., 2002; Bell ve ark., 1983).

STZ, N-(Methylnitrosocarbamoyl)- α -D-glucosamine yapısındadır (şekil 2.1.6.1). -20°C' de ışıktan korunarak saklanmalıdır. Nötral pH' da hızla dekompoze olduğundan optimum stabilitesi için ortamın pH'ı 4-4.5 olmalıdır. Bu nedenle STZ çözündürülürken

pH'ı 4.5 sitrat tamponu kullanılmalı ve 4°C' de ışıktan korunarak hemen kullanılmalıdır. (Bell ve Ark., 1983).

STZ diyabetojenik etkisini, pankreastaki β hücrelerini tahrip ederek gösterir ve hipergliseminin derecesi, ilacın süresine, dozuna ve deney hayvanına bağlıdır (Tozzo ve ark., 1997; Imaeda ve ark., 2002).



Şekil 2.1.6.1. STZ' in yapısı (Schneider ve ark., 1984)

STZ hasarı enjeksiyondan sonraki 30 dakika ile 2 saat arasında görülmektedir (Mandrup ve ark., 1993).

1974 yılında Hinz ve Pfeiffer, C¹⁴ işaretli STZ kullanarak, izole fare langerhans adacıklarında gerçekleştirdikleri metabolik bir çalışmada, ilk dakikalarda ilacın “kolaylaştırılmış difüzyon” ile β hücrelerine girdiğini ve onuncu dakikada enerji metabolizmasını bloke ettiğini; böylece nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) ve adenosin trifosfat (ATP) içeriğinin azaldığını ve otuzuncu dakikada DNA' nın H³-timidin tutulmasının ortadan kalktığını bildirmişlerdir (Hinz ve Pfeiffer, 1974). STZ alloxana göre daha etkin ve β hücrelerine daha spesifiktir (Öztürk ve ark., 1996). STZ'den sonra kan keton cisimleri, kan plazma serbest yağ asitleri, glikojen ve sitrat

düzeyleri normaldir, hiperglisemi görülür. Çok yüksek doz STZ'den sonra ketonüri, insülinopeni meydana gelir ve hemoglobin A_{1c} düzeyi artmıştır. Tek intraperitoneal (ip) yada intravenöz (iv) doz terci edilir ve insülin tedavisi yapılmadan 1-2 yıl yaşarlar. İlk 24 saatte hipoglisemi sonucu konvülsiyon, koma ve ölüm görülebilir (Öztürk ve ark., 1996).

STZ'nin pankreas β hücrelerini hasarlayarak hem insüline bağımlı hem de insülininden bağımsız diyabete neden olduğu bilinmektedir.. Yetişkin sıçanlarda tek doz (40-60 mg/kg) damar içi STZ uygulamasının insüline bağımlı diyabete, yenidoğan sıçanlara tek doz periton içi yada damar içi yolla 100 mg/kg STZ uygulamasının ise insülininden bağımsız diyabete neden olduğu bildirilmiştir (Portha ve ark., 1974).

2.1.6.1. Sıçanlarda STZ ile diyabet oluşturulması

20 Mm sodyum sitrat tamponu (pH 4.5) içerisinde taze olarak hazırlanmış STZ çözeltisi (buzlu ortamda saklanmak koşulu ile) 65 mg/kg olacak şekilde (tek doz) periton içi yolla sıçanlara enjekte edilerek diyabet oluşturulmuştur (Tamer ve ark., 1997; Benwahhoud ve ark., 2001). Başka bir çalışmada bir gece önce aç bırakılan sıçanlara 0.1 M sitrat tamponu içerisinde (pH 4.5) çözündürülmüş STZ'nin 60 mg/kg dozunda uygulandığı, 72 saat sonra açlık kan şekeri ölçümü yapılarak kan şekeri düzeyi 350 mg/dL ve üzerinde olan sıçanların diyabetli kabul edilerek çalışmaya alındığı ve STZ uygulamasından sonra yem ve su alımının serbest bırakıldığı bildirilmiştir. Yine başka bir çalışmada sıçanlara 60 mg/kg tek doz intraperitoneal STZ uygulanmış ve kan şekeri düzeyi 200 mg/dL ve üzeri olan sıçanlar diyabetli olarak kabul edilmiştir (Akkaya ve Çelik, 2010). Yine Özgün ve ark. larının yaptıkları başka bir çalışmada sıçanlara 50 mg/kg tek doz *i.p.* STZ uygulanmış ve 72. saat sonunda kan

glikoz düzeyleri 200 mg/dl' nin üzerinde gelen sıçanlar diyabetik kabul edilmişlerdir (Özgün ve ark., 2010). Yapılan deneysel diyabet araştırmalarında, açlık kan şekeri düzeyi genellikle 200 mg/dL' in üzerinde ise deney hayvanı diyabetli olarak kabul edilmektedir. Bu durumda, bir çalışma grubunu oluşturan deney hayvanlarından birine ait kan şekeri düzeyi 201 mg/dL iken bir diğeri 450 mg/dL veya 560 mg/dL olabilecektir. Dolayısı ile çalışma grubunu oluşturacak hayvanların açlık kan şekeri düzeyleri birbirinden çok farklı değerlerden oluşacak ve standart sapma çok büyüyecektir. Bunu önlemek için kan şekeri değeri birbirine yakın olan hayvanlar seçilerek gruplar oluşturulabilir (Öntürk ve Özbek, 2007).

2.1.6.2. Streptozotosin ile oluşturulan DM modelleri:

- Tek doz ile; tek doz *i.v.* ya da *i.p.* olarak uygulanan STZ ile oluşturulur (Vega ve ark., 1993).
- Çok sayıda düşük doz ile; subdiyabetojenik dozlarda arka arkaya 5 gün süreyle yapılan enjeksiyon ile oluşturulur ve otoimmün diyabet meydana gelir (Pappaci ve ark., 1994).
- Neonatal enjeksiyon ile; 2 günlük sıçanlara *i.p.* STZ enjeksiyonu ile NIDDM' e benzer hiperglisemik bir tablo oluşur. Şiddetli diyabet değildir ve insülin tedavisi gerektirmez. 6 haftalık olana kadar plazma glukoz konsantrasyonu 200-350 mg/dl arasındadır (Portha ve ark., 1989).

2.1.7. Diabetes Mellitus ve Nitrik Oksit (NO) Arasındaki İlişki

NO renksiz bir gaz olup oksijen yokluğunda oldukça stabildir (Güray ve ark., 1997). Düşük moleköl ağırlığı ve lipofilik yapısı nedeniyle, prokaryotik hücre

duvarlarından ve ökaryotik hücre zarlarından kolay ve hızlı bir şekilde geçerek çok hızlı yayılabilen bir gaz molekülüdür. Bir çok dokuda, normal fizyolojik koşullarda salınan NO'in yarılanma ömrü sadece birkaç saniyedir (Ignarro, 1991). NO, son yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron olduğu için, kimyasal olarak reaktiftir ve serbest bir radikal gibi davranır (Smutzer, 2001).

DM' de NO biyoaktivitesinin azaldığı, bazal NO üretiminin düştüğü ve NO üretici enzim olan Nitrik Oksit Sentetaz (NOS) - için substrat olan L-arginin' in azaldığı belirlenmiştir ve bazı araştırmacılar, diyabetle L-arginin' in plazmadaki seviyesinin düşmesiyle NO üretiminin zarar gördüğüne işaret etmişlerdir (Kino ve ark., 2004).

DM' de, kan glikoz düzeyi ve hiperglisemiye maruz kalma süresi komplikasyon gelişme riskini arttıran başlıca faktörlerdir. Hiperglisemi varlığında normalizasyon için devreye giren mekanizmalar hipergliseminin indüklediği hasardan da sorumludurlar. Hiperglisemi varlığında diaçil gliserol sentezinde artış sonucunda protein kinaz C aktivasyonu düz kas hücrelerinde NO sentezini azaltır, endotelial hücrelerdeki Endotelial Nitrik Oksit Sentetaz (eNOS) messenger RNA ekspresyonunu inhibe ederek oksidatif hasarı artırır, endotelial hücrede permabilite artışına neden olur (Özbek ve ark.). STZ ile oluşturulan deneysel diyabet, IDDM' ye benzemektedir. NOS ile ilgili diyabetik düzensizlikler farklı dokularda araştırılmıştır. İzole pankreas adacıklarında ya da total pankreas homejantlarında NOS aktivitesi, diyabetiklerde kontrol hayvanlarına göre çok daha azdır. NOS' un iki alt tipi Nöral Nitrik Oksit Sentetaz (nNOS) ve İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz (iNOS)'un, STZ diyabetik sıçanların serebrokortekslerinde incelenmiş ve diyabetik sıçanların serebrokorteksinde nNOS aktivitesinin önemli derecede düşük olduğu bulunmuştur (Yu ve ark., 1999). Yine

nNOS aktivitesinin STZ diyabetik sıçanların serebellumlarında da kontrollerden daha az olduğu saptanmıştır (Yu ve ark., 2000). STZ-diyabetik sıçanlarda bazal iNOS aktivitesi azalmıştır (Yu ve ark., 1999; Reagan ve ark., 2002). Ayrıca kimyasal bir madde olan STZ ile meydana gelen adacık hücre harabiyetine bağlı olarak gelişen diyabette temel mekanizmanın antioksidanların oluşumu olduğu saptanmıştır; burada olay esasen STZ ile oluşturulan uygunsuz NO cevabı olarak düşünülmektedir (Kolb ve ark., 1992; Wolff, 1993).

DM sendromunda NO makrofajların rol aldığı sitotoksik aktivite ve sitokin etkileri ile oluşan pankreas adacık hücre harabiyetine aracılık eder. Diğer yandan da kronik hiperglisemi sırasında oluşumu hızlanan ileri glikolizasyon ürünleri tarafından NO' in hem vazodilatasyon oluşturucu hem de antiproliferatif etkilerinin önlenmesi diyabetin komplikasyonlarının gelişiminde önemli bir rol alır (Kocatürk, 1996).

Bazı çalışmalarda ise diyabette NO seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Bank ve Aynedjan isimli araştırmacılar da STZ verilen diyabetik sıçanlarda kontrollere göre idrar ve plazmada NO ürünlerinin (NO_2^- , NO_3^-) yükseldiğini saptamışlardır. Yakın zamanlarda yapılan çalışmalar diyabetik hayvanlarda NO seviyesinin değişmediği yönündedir. Bununla birlikte, diyabetik kemirgenlerde etyolojik olarak NO'ın önemli rol aldığı kesindir (Kino ve ark., 2004).

2.2. LEPTİN

2.2.1. Tanım

1950'lerin sonlarında, farelerde aşırı yemenin ve az enerji tüketiminin yol açtığı ağır obezite tablosuna neden olan genetik bir defekt saptanmıştır. Bu gen ob olarak adlandırılmış ve bu mutasyonu taşıyan obez farelere ise ob/ob denilmiştir. (Fantuzzi ve Faggioni, 2000). Daha sonra 1994 yılında, Zhang ve arkadaşları tarafından, ob/ob

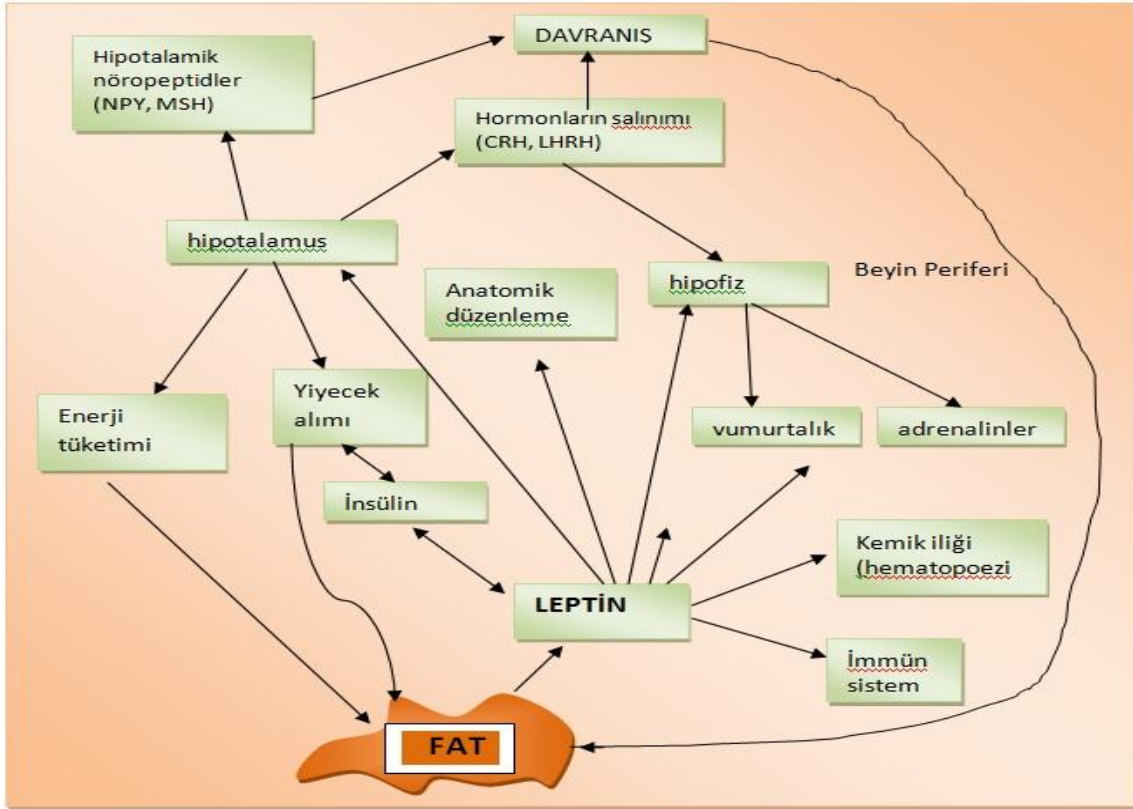
mutant obez farelerde bir mutejenik gen ürünü olarak leptin keşfedilmiştir (Zhang ve ark., 1994).

Leptin, adını Yunanca leptos (ince) kelimesinden alan (Zhang ve ark., 1994), 167 aminoasit içeren, 16 kDa molekül ağırlığında protein yapıda bir hormondur. Leptin ve reseptörleri yapısal ve fonksiyonel olarak stokinlere benzemektedir (Fantuzzi ve Faggioni, 2000).

Leptin, ob geni tarafından kodlanır. Bu genin DNA'sı 1500 baz çifti içerir ve 3 ekzona ve 2 introna sahiptir (Prolo ve ark., 1998). Fare leptin geni sıçanlarda 6 no'lu kromozomda yer alır (Semerci, 2004). Leptinin kodlama sekansı 2. ve 3. ekzonlardadır (Gong ve ark., 1996). İnsan leptin geni 7. kromozomun uzun kolunda (7q31) yer alır (Auwerx ve Staels, 1998) ve insan leptini fare leptini ile % 84 oranında, rat leptini ile % 83 oranında homologdur. (Rosenbaum ve Leibel, 1998; Prolo ve ark., 1998).

2.2.2. Leptinin Etki Mekanizması

Leptinin temel etki mekanizması, bir çok hipofizer hormonun regülasyonunda görev alan ve asıl etkisi iştahı artırmak olan nöropeptid-Y (NPY)'nin, arkuat nükleus'dan ekspresyonunu ve salınımını inibe etmektir (Spitzweg ve Heulfelde, 1997). Leptinin etkilerinin birçoğu, hipotalamustaki reseptörlerine bağlanması sonucunda ortaya çıkar. Bunun yanında periferik etkileri de vardır. Leptin, yağ ve glikoz metabolizması üzerine olan etkilerini, nöroendokrin fonksiyona etkilerini, enerji tüketiminin artırılması ve besin alımının azaltılması gibi etkilerini ya doğrudan ya da merkezi sinir sistemi (MSS)'nde aktive olmuş bazı spesifik merkezler aracılığı ile gerçekleştirir (Mantzoros, 1999) (şekil:2.2.2.1).



Şekil 2.2.2.1. Leptinin biyolojik etkilerinin şematik gösterimi. Adipoz dokuda leptin üretimi. Leptinin hipotalamus, immün sistem, anjiyogenezis, endokrin pankreas, overler, otonomik sistem ve kemik iliğindeki santral ve periferik etkileri. Prolo ve ark.larının makalesinden modifiye edilmiştir (Prolo ve ark., 1998).

Yapılan çalışmalar leptinin diğer bazı medyatörler ile de etkileşim içinde olduğunu göstermiştir. Bu medyatörler başlıca metabolik ve katabolik olarak ikiye ayrılabilirler. NPY gibi anabolik olanlar, günlük gıda alımını arttırdığı gibi enerji harcanmasını da azaltarak pozitif enerji dengesine yol açarlar. Katabolik olanlar ise, gıda alımını azaltırlar ve bunun yanında enerji harcanmasını artırırlar. Katabolik medyatörlerin ilk tanımlananı ve en önemli olanı bir melanokortin ailesi üyesi olan α -melanositi stimüle edici hormon (α -MSH)'dur. Pro-opiomelanokortin (POMC) ana molekülünden oluşan α -MSH, melanokortin ailesinin bir çok üyesi için ligandır. Bu üyelerden en önemli olanları, primer olarak beyinde sentezlenen melanokortin 3

reseptörü (MC3R) ve melanokortin 4 reseptörü (MC4R)'dür (Daniel ve ark., 2002). Genetik olarak MC4R defektli farelerin obez olduğu ve bu reseptörün sentetik antagonistinin verilmesi ile gıda alımının baskılandığının gösterilmesi, MC4R üzerinden sinyallerin gıda alımını ve yağ dokusu üzerindeki artışı sınırlandırdığını göstermiştir (Daniel ve ark., 2002).

Son yıllarda tanımlanan bir diğer molekül de "Agouti-Related Peptide" (AgRP)'dir. AgRP hem MC3R hem de MC4R'nin antagonistidir ve özellikle nükleus arkuatusdaki nöropeptid-Y içeren nöronlardan sentezlenir (Daniel ve ark., 2002). Nükleus arkuatusdaki POMC nöronları, "Cocaine-Amphetamine-Regulated Transcript" (CART) adında bir nörotransmitter daha salgırlar. CART hem normal hemde açlıkla indüklenmiş beslenmeyi inhibe eder ve bunun yanında nöropeptid-Y'ye bağlı gıda alımını bloke eder (Daniel ve ark., 2002).

Leptin, direk olarak arkuat nükleusda NPY/AgRP nöronlarını inhibe eder ve α -MSH/CART nöronlarını uyarır. Arkuat nükleus nöronları leptin sinyallerini lateralhipotalamik alan (LHA) ve paraventriküler alan (PVA)'a iletirken koordinasyon da sağlar (Ahima ve Osei, 2004).

2.2.3. Leptin Reseptörleri (OB-R)

Leptin reseptörü, ekstrasellüler bölgede, baskın bir sitokin homolog alanını içeren sınıf I sitokin reseptör ailesine aittir (Ahima ve Osei, 2004). Leptin reseptörleri interlökin-6 (IL-6) sitokin reseptörleri ile benzerlik göstermektedir (Tartaglia, 1997). OB-R'nin gen anlatımı MSS'nde ve birçok periferel dokuda yapılmaktadır. Leptinin vücutta bir çok alanda işlevsel olduğu kabul edilmiştir ve tüm fizyolojik etkilerini, reseptörleri aracılığı ile gerçekleştirir (Moran ve Philip, 2003; Ahima ve Osei, 2004;

Zhang ve ark., 2005). Alınan farklı kesitler sonucu, leptin reseptörün 6 farklı izoformunun olduğu kabul edilmektedir. Bunlar; OB-Ra, OB-Rb, OB-Rc, ORd, OB-Re ve OB-Rf'dir (Villareal ve ark., 1998). Bu reseptörlerin N terminalleri aynı iken C terminal bölgeleri farklılık göstermektedir (Kokta ve ark., 2004; Zhang ve ark., 2005). OB-Ra, OB-Rb, OB-Rc ve OB-Rd tek zar geçişli bölgeye sahipken, OB-Re membrana bağlanabilen bir bölgeye sahip değildir ve leptin bağlayıcı protein olarak dolaşımda çözülmüş halde bulunur. Zar geçişli bölgeye sahip olan leptin reseptörleri, zarı geçebilen bölgelerinin büyüklüklerine göre kısa ve uzun leptin reseptörleri olarak da ayırt edilmektedir (şekil 2.2.3.2). Bu reseptörlerden OB-Ra, OB-Rc ve OB-Rd kısa, OB-Rb ise uzun stoplazmik zar geçiş bölgesine sahiptir ve bu reseptörler bir çok dokuda sentezlenebilmektedir (Zhang ve ark.,2005; Ahima ve Osei,2004; Sweeny, 2002).

Uzun form reseptörler, sinyal iletme kapasitesine sahiptirler. Bu reseptörler en çok hipotalamusta, az miktarda ise; akciğer, böbrekler, karaciğer, iskelet kası, kalp, pankreas, ince bağısıklar, overler, testisler, hematopoietik hücreler, yağ dokusu ve daha bir çok hücre ve dokuda bulunur (Villareal ve ark., 1998).

Kısa form leptin reseptörleri, leptinin periferik etkilerinin oluşmasından sorumludurlar (Hauseknecht ve ark., 1998) ve sinyal iletiminde rolleri çok azdır (Wallace, 2000). Bu reseptörler başlıca böbrek, akciğer, beyin kapilleri ve pleksus koroideusta bulunurlar ve olasılıkla leptinin merkezi sinir sistemine transportunda rol oynarlar (Wallace, 2000). Son olarak tanımlanan OB-Rf formunun işlevi henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Villareal ve ark., 1998).

Bütün bu reseptörler Janus kinaz (JAK) ile iletici ve aktive edici transkripsiyon sinyali (STAT) yoluna bağlıdır. Leptinin reseptörüne bağlanması JAK-STAT kaskadının başlamasına neden olur (Zhang ve ark., 2005; Ahima ve Osei, 2004;

Sánchez ve ark., 2003). OB-R'nin leptine bağlanması Janus Kinaz 2 (JAK2)'nin aktivasyonuna neden olur. JAK2'nin aktivasyonu ile OB-Rb'nin bir çok trozin bakiyesi fosforile olur. Fosforile olan her bir trozin bakiyesi farklı bir sinyal yoluna aracılık eder. Leptin, reseptörüne bağlandıktan sonra, iletici ve aktive edici transkripsiyon sinyali 3 (STAT3)/JAK2, mitojenle-aktive olan protein (MAP) kinaz, SH2 içeren fosfataz 2 (SHP2), fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3K) ve adenozin monofosfat ile aktive olan kinaz (AMPK) sinyal yollarını başlatabilir (Ahima ve Osei,2004; Zhang ve ark., 2005).

2.2.4. Leptinin Sentezlenmesi

Leptin adipositler tarafından üretilir, ancak mide fundusu, iskelet kası, karaciğer ve plesanta gibi dokularda da üretimi gösterilmiştir (Meier ve Gressner, 2004). Ayrıca, böbrek, pankreas, dalak, timus, prostat, testis, over, ince barsak, kolon, akciğer ve kalp leptin reseptörlerinin varlığının bulunduğu dokulardır (Hekimoğlu, 2006). Leptin, kanda serbest ve proteine bağlı olmak üzere iki formda dolaşır. Leptinin aktivitesinden serbest formun sorumlu olduğu düşünülmektedir ve obez bireylerde serumdaki leptinin büyük kısmının serbest formda olduğu belirlenmiştir (Brabant ve ark., 2000). Bu nedenle obez kişilerde serbest leptin formunun artışının tespit edilmesi, obezite gelişmesinde asıl sorunun leptin eksikliği değil, leptin direnci olduğu hipotezini destekleyen kanıtlardan biri olarak görülmektedir (Aslan ve ark., 2004).

2.2.5. Leptinin Sekresyonu

Leptinin dolaşımdaki yarı ömrü yaklaşık 30 dakikadır ve yemeklerden 2-3 saat sonra pulsatif olarak salgılanır. Diurnal bir ritmi vardır ve sabah erken saatlerde pik yaparken, öğleden sonra en düşük düzeyler iner (Boden ve ark., 1996). Serum düzeyleri

kadınlarda erkeklere oranla daha yüksektir. Bu durum kadınlarda yağ dokusu fazlalığı ve cilt altı/visseral yağ oranının daha fazla olması ile açıklanmaktadır (Ostlund ve ark., 1996).

2.2.6. Leptin Sekresyonunun Regülasyonu

Leptin düzeyinin ana belirleyicisi vücut yağ kitlesi ve vücut kitle indeksi (VKİ) olsa da bir çok faktör leptin regülasyonunda rol oynamaktadır (Frederich ve ark., 1995; Ma ve ark., 1996).

İnsülin, glikokortikoidler ve prolaktin leptin sentezini stimüle ederken, troid hormonları, büyüme hormonu, somatostatin, serbest yağ asitleri uzun süre soğuğa maruz kalma ve katekolaminler leptin üzerine inhibitör etki gösterirler (Aslan ve ark., 2004). Tümör nekroz faktör- α (TNF- α), IL-1 ve IL-6 gibi stokinlerin dolaşımdaki leptin düzeylerini arttırdığı gözlemlenmiştir (Mantzoros, 1999).

2.2.7. Leptinin Fizyolojik Fonksiyonları

Leptinin vücuttaki başlıca rolü, beyin (özellikle hipotalamus) negatif “feedback” etki ile gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenlemek ve obezite gelişmesini engellemektir. Ayrıca metabolizmanın düzenlenmesi, cinsel gelişim, üreme, hematopoez, immünite, gastrointestinal fonksiyonların düzenlenmesi, sempatik sinir sistemi aktivasyonu, anjiyogenez ve osteogenez’de de çok önemli rolleri olduğu saptanmıştır (Aslan ve ark., 2004).

2.2.8. Leptin Rezistansı

Leptin genindeki mutasyon nedeniyle leptin eksikliği bulunan ob/ob farelere

leptin verilmesinin ardından elde edilen sonuçlar, insandaki obeziteden de leptin eksikliğinin sorumlu olabileceğini ve dışarıdan leptin tedavisi ile bunun düzeltilebileceği görüşünü gündeme getirmiştir. Fakat, çoğu obez hastada leptin kodlayan gen normal olmakla birlikte dolaşımdaki leptin seviyeleri normal bulunmuştur ve bu da obezitenin leptin rezistansı ile ilgili bir durum olabileceğini göstermektedir (Wauters ve ark., 2000).

2.2.9. Leptin ve Diabetes Mellitus Arasındaki İlişki

Leptinin ilişkili olduğu hormonlar arasında en çok araştırılmış olan insüлиндür. Yapılan invitro çalışmalarda, leptinin normal ve obez kemirgenlerde, özellikle hipotalamus aracılığı ile glikoz metabolizmasını ve insülin duyarlılığını artırdığını göstermiştir. Ek olarak, leptinin, lipoatrofik ve insülin yetmezliği olan diyabetik farelerde antidiyabetik etkisinin olduğu da bildirilmiştir (Gültürk ve Demirkazık, 2007). Özellikle diyabetik hastalarda leptin ve insülin arasında pozitif bir korelasyon olduğu ve insülinin hem invivo ve hem de invitro koşullarda adipoz dokuda leptin üretimini uyardığı gösterilmiştir (Deniz ve ark., 2003). STZ kullanılarak insüline bağımlı diyabet oluşturulmuş sıçanlarda ve transgenik farelerde, leptinin güçlü antidiyabetik etkileri olduğu gösterilmiştir (Chinookoswong ve Wang, 1999). Leptin bu etkilerinin MSS aracılığı ile mi yoksa direkt periferik dokular üzerine etkileri ile mi olduğu halen açıklanamamıştır. Fakat, leptinin intravenöz ve intraserebroventriküler infüzyonu sonrasında hepatik glikoz metabolizmasını arttırması, bu durumun MSS ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (Kamohara ve ark., 1997). Bunun yanında perfüze sıçan karaciğerinde glikoneogenezis ve glikojenoliz üzerinde de direkt etkilerinin olduğu kanıtlanmıştır. Bundan dolayı leptinin olası antidiyabetik etkilerinin hem periferik

dokularda hem de santral sinir sistemi üzerine etkilerinin bir bileşimi olabileceği düşünülmektedir (Nemecz ve ark., 1999).

1994 yılında leptinin keşfedilmesinden bu yana, diyabette serum leptin seviyesi ile ilgili yapılan gözlemler, diyabette bu seviyenin düştüğü yönündedir (Zhang ve ark., 1994; Havel ve ark., 1998).

Plazma leptin düzeyi, STZ ile oluşturulmuş diyabette belirgin bir şekilde azalmaktadır. Diyabetiklere 4-17 gün süre ile insülin uygulanması sonrasında, plazma leptin düzeyleri kontrol leptin düzeylerinin yaklaşık iki katına çıkmaktadır ve plazma leptin konsantrasyonu, insülin yetersizliğinde belirgin olarak düşerken, insülin uygulanması ile hızla artmaktadır (Sivitz ve ark., 1998; Wang ve ark., 2008).

STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda plazma insülin düzeylerinin düşük olmasının açlık ya da beslenmeye bağlı olmadığı, leptin mRNA' sına ve plazma leptin konsantrasyonlarına bağlı olduğu gösterilmiştir (Patel ve ark., 1998).

Yine 2009 yılında Akkaya ve Çelik'in yapmış olduğu bir çalışmada STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, serum leptin düzeyi kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulunmuştur (Akkaya ve Çelik, 2009).

Diyabet araştırmacıları, leptinin vücut ağırlığını azaltıcı etkilerine aşırı ilgi göstermektedirler. Çünkü obezite, Tip II diyabet hastalarının kontrol ve tedavisinde önemli bir sorundur. Diyabet hastalığının etyolojisinde leptinin kesin rolü açık olmamakla birlikte, bir çalışmada leptin seviyelerinin artışı, gelişen diyabet risklerinin artışı ile ilişkili bulunmuştur. Başka bir çalışmada, obez ve zayıf kişilerin yağ hücreleri kültürlerinde leptinin bazal ve insülinle stimüle edilen glikoz geri alımını arttırdığı gösterilmiştir. Bu da leptinin insan yağ hücrelerinde glikoz metabolizmasında düzenleyici rol oynayabileceğini göstermektedir. Kısaca leptinin Tip II diyabette ya

ağırlık kaybı sağlayarak indirekt, ya da glikoz metabolizması üzerinden direkt etki ile fayda sağlayabileceği ifade edilmektedir (Deniz ve Saygı, 2003).

2009 yılında Tip I ve Tip II diyabetli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada Tip I hasta grubunun leptin düzeyleri kontrol grubundan yüksek seyretmekle birlikte, bu yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (Koca ve ark., 2008).

Yine 2002 yılında yapılan bir çalışmada, Tip I diyabetli çocuklarda, diyabet ile serum leptin düzeyleri arasındaki ilişki incelenmiş olup, yeni tanı almış Tip I diyabetli çocuklarda serum leptin düzeyleri normal çocuklarınkine göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (Soliman ve ark., 2002).

Tip II diyabet hastaları ile normaglisemik kişilerin leptin konsantrasyonu arasında fark olup olmadığı hala tartışılan bir konudur, çünkü yapılan çalışmalar birbiriyle çelişkili sonuçlar açıklamaktadır (Koca ve ark., 2008). Yine Koca ve ark., yaptığı bir çalışmada, deneysel olarak Tip I diyabet oluşturulmuş sıçan serumlarında leptin düzeylerinin diyabet grubunda kontrole göre anlamlı derecede azalmış olduğu ve leptin düzeylerinin insülin düzeyleri ile ilintili olabileceği gösterilmiştir (Koca ve ark., 2008).

Yapılan çalışmalar STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda plazma leptin ve insülin düzeylerinin azaldığını ve diyabetik hiperfajiye neden olduğunu göstermektedir (Ishii ve ark., 2002; Dinçer ve Gülen, 2010).

2.2.10. Leptin ve Nitrik Oksit Arasındaki İlişki

NO ile leptin arasında önemli bir bağlantının olduğu düşünülerek çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen, halen bu ilişki tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Yapılan çalışmaların sonucu, leptinin NO üretimini indüklediği yönündedir. Frühbeck ve ark.

1999 yılında yapmış oldukları bir çalışmalarında, sıçanlara 3 doz leptin uygulaması yaptıktan sonra serum NO konsantrasyonlarında artış olduğunu gözlemlemişlerdir (Frühbeck, 1999).

Yine 2006 yılında yapılan bir çalışmada, diyabette artan NO'in histopatolojik olaylara neden olduğu, dışarıdan verilen leptinin ise özellikle nNOS miktarında artışa neden olduğu bulunmuştur (Kapucu, 2006)

2.3. ENDOTELİNLER

2.3.1. Tanım

ET'ler vücutta doğal olarak oluşan peptidlerdir ve bilinen en güçlü vazokonstriktör moleküllerdir. İlk defa 1985 yılında Hickey ve ark. tarafından, "endotensin veya endothelial contracting faktör" olarak tanımlandılar (Tokaç ve ark., 1998). 1988 yılında Nature dergisinde Yanagisawa ve ekibi tarafından ayrıntılı bir şekilde tanımlanan endotelinler bilim dünyasında büyük ilgi uyandırmıştır. Şu ana kadar bilinen en güçlü vazokonstriktör peptid olan endotelin-1 (ET-1), ilk kez kültürdeki domuz aortası endotel hücrelerinden elde edilmiştir (Turgan ve ark., 1996).

Ana ET kabul edilen ET-1 ile aynı peptid grubunda yer alan diğer ET'ler ise endotelin-2 (ET-2), endotelin-3 (ET-3) ve fare bağırsağından izole edilen endotelin-β ya da diğer adıyla vazoaaktif intestinal konstriktör (VIC)' dır (Rubanyı ve botelho, 1991; Turgan ve ark., 1996).

2.3.2. Endotelinlerin Yapısı ve Sentezi

-ET iki disülfid köprü (Cys1-Cys15 ve Cys3-Cys11) içeren 21 amino asit (aa)'li lineer bir peptid olup, 3 boyutlu yapısı konikal bir spiraldir. Diğer memeli peptid

gruplarının yapısına benzemeyen yapısı bir grup yılan zehrinin (srafotoksinler) yapısına benzemektedir. Her ikisi de vazokonstriksiyon, vazodilatasyon ve mitogenesis gibi ortak biyolojik etkilere sahiptir (Gültekin ve ark., 1994).

İnsan ve diğer memelilerde, yapısal ve farmakolojik etkileri farklı 3 ET isopeptidi bulunmaktadır (Gültekin ve ark., 1994). ET-1, ET-2 ve ET-3 olarak adlandırılan bu peptidler, insan, fare ve domuz genomlarında farklı kromozomlarda bulunan 3 farklı gen tarafından kodlanır (Vural, 1999). ET-1 endotel hücrelerinde sentez edilen yegane ET'dir (Gültekin ve ark., 1994). ET-1'i kodlayan mRNA sadece damar endotel hücrelerinde gösterilmiştir (Baykal ve ark., 1996). ET-2 ET-1' den 2 farklı aa, ET-3' den ise 6 farklı aa ile ayırt edilirler (Vural, 1999).

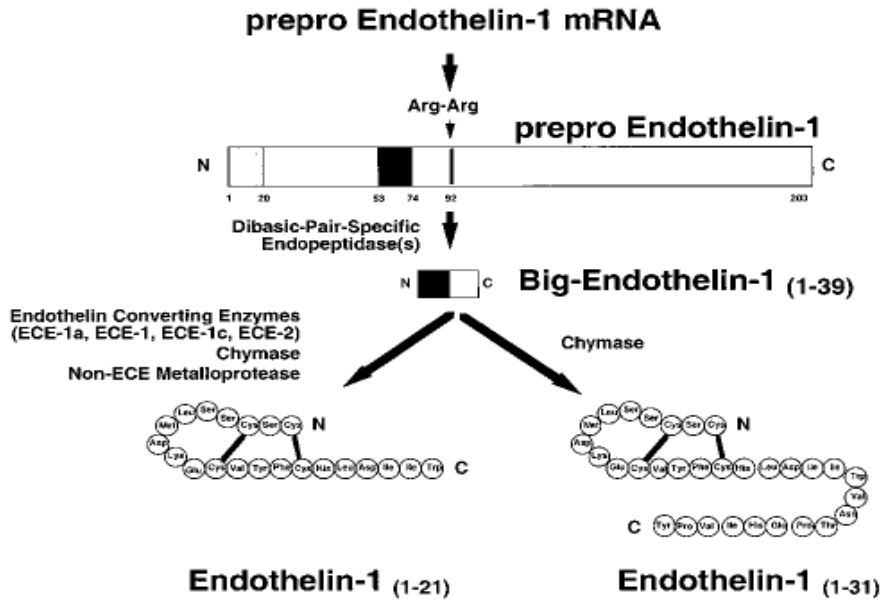
ET-1; vasküler endotelial ve düz kas hücreleri, hava yolu epitelyal hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, kardiyak miyositler, beyin sinirleri ve pankreatik adacıklar tarafından üretilmektedir. ET-2; over ve intestinal epital hücrelerinden sentezlenmektedir. Akciğer alveolarizasyon, termoregülasyon , ovulasyon ve intestinal epitelyal hücre homeostazisinde görev almaktadır. ET-3; endotelial hücrelerde, beyin sinirlerinde, renal tübüler epitelyal hücrelerinde ve intestinal epitelyal hücrelerinde bulunur. NO ve prostasiklin içeren vazodilatörlerin salınımına aracılık etmektedir (Barton ve Yanagisawa, 2008).

ET-1' in öncü proteini 203 aa'ten oluşan preproendotelin-1 (preproET-1)' dir (Turgan ve ark., 1996). PreproET-1 proteolizis ile önce bigET-1' e (38 aa'li), daha sonra da ET-1' e (21 aa'li) dönüşmektedir. BigET-1' in yapısında Trp 21 ve Val 22 arasındaki bağın hidrolizi, bir nötr metallopeptidaz olan ET-converting enzyme (ECE) tarafından gerçekleştirilir (Vural, 1999) (şekil 2.3.2.2)

ECE-1 ve ECE-2 olmak üzere 2 tipi vardır. ECE-1 çeşitli hücrelerden izole

edilmiştir ve 758 aa'lık iç membrana bağlı bir enzimdir. ECE-1 nötral endopeptidazdır ve mRNA' sı en fazla endotelde yapılır, fakat adrenal bezler, akciğerler, böbrekler ve bağırsaklarda da yapılabilir. ECE-1 bigET-1' i ET-2 ve ET-3'den daha etkili parçalar (Tokaç ve ark., 1998).

ECE-2 yapısal olarak ECE-1'e benzeyen membrana bağlı metalloproteazdır ve bigET-1' i ET-2 ve ET-3'den daha etkin bir şekilde parçalar. mRNA' sı belirgin olarak serebral korteks , serebellum ve adrenal medulla gibi nöral dokularda bulunur (Tokaç ve ark., 1998).



Şekil 2.3.2.2: ET-1₍₁₋₂₁₎ ve ET-1₍₁₋₃₁₎ peptidlerinin biyosentezi (Lüscher ve Barton., 2000).

ET-1 mRNA'sının induksiyonu ve bu peptidin salınım miktarının, mekanik stimülasyon trombin, transforming growth faktör β (TGF β), anjiyotensin II (AII), vazopressin, hemodinamik shear stres, interlökin-1, kalsiyum iyonoforları (A 23187 ve

iyonomisin) ve forbol esterleri tarafından artırıldığı bulunmuştur (Rubanyı ve Botelho, 1991; Turgan ve ark., 1996).

ET-1'in sentezini inhibe eden maddeler arasında ise atrial natriüretik peptid (ANP), prostasiklin 2 (PGI₂) ve NO gibi vazodilatörler sayılabilir (Vural, 1999) (tablo 2.3.2.1). Endotel oluşumunun esas düzenlenmesi, transkripsiyon veya translasyon düzeylerinde olur. Veziküllerde depolanmış endotelin bulunamamıştır (Tokaç ve ark., 1998).

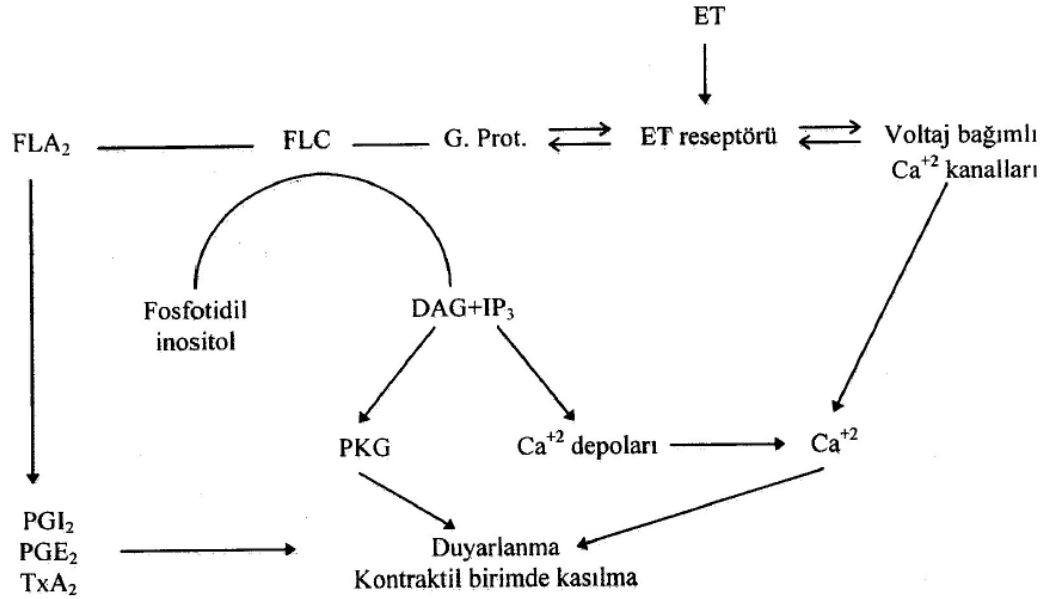
Tablo 2.3.2.1: Endotelin salınımını uyaran ve inhibe eden faktörler

Endotelin salınımını uyaranlar		Endotelin salınımını inhibe edenler	
İnsülin	ET-1	ANP	cAMP, cGMP
Anjiyotensin(II)	NF-1	Adrenomedullin	Heparin
Vazopressin	Endotoksin	Yüksek shear stres	Fe ⁺² ve Ca ⁺² şelatörleri
Kortizol	Trombin	NO	
IL-1	Düşük shear stres	PGI ₂ ve PGE ₂	
TGFβ	Glikoz		
Hipoksi	Okside HDL		
Bombesin			

2.3.3.Endotelinlerin Hücresel Etki Mekanizmaları

ET-1 vazokonstriktör etkisini protein kinaz C aktivasyonu ve sitozolik kalsiyum artışı üzerinden gösterir. Reseptör-ET birleşmesini takiben, G proteinlerde reseptöre bağlanarak fosfolipaz C'yi aktiflerler. ET'ler fosfolipaz C' yi aktive ederek fosfotidilin hidrolizine neden olurlar. Hidroliz sonucu; inositol 1,4,5 trifosfat (IP₃) ve diaçilgliserol (DAG) oluşur. İlki sitozolik Ca⁺² düzeyini arttırırken DAG ile proteinkinaz C'yi

aktifler. IP_3 sarkoplazmik retikulumdaki depolardan Ca^{+2} serbestleştirir. Dihidropiridine duyarlı voltaj bağımlı kanallardan Ca^{+2} girişini de kolaylaştırır ve total intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonu artar. İntrasellüler Ca^{+2} artışı kalmodülin artışı ile birlikte (Turgan ve ark., 1996; Tokaç ve ark., 1998) (Şekil 2.3.3.1).



Şekil 2.3.3.1: Endotelinlerin etki mekanizması (Tamirisa ve ark., 1995).

FLA: Fosfolipaz A2, **FLC:** Fosfolipaz C, **PKG:** Protein Kinaz, **PGI₂:** Prostaglandin I₂, **PGE₂:** Prostaglandin E₂, **TxA₂:** Trombaksan A₂

2.3.4. Endotelin Reseptörleri

ET reseptörleri tüm vücutta yaygın olarak yer alırlar ve ET izopeptidlerine olan afinitelerine göre 3 ana gruba ayrılırlar. Endotelin-A (ET_A) reseptörü, ET-1 ve ET-2'ye yüksek afinite gösterirken, ET-3 ise zayıf bir afinite gösterir (Baykal ve ark., 1996). Endotelin-B (ET_B) ise bu 3 izoforma eşit etki göstermektedir (Masaki, 1993).

1. ET_A afinite sıralaması: ET-1>ET-2>ET-3
2. ET_B afinite sıralaması: ET-1=ET-2=ET-3

3. ET_C (Endotelin-C) ise ET-3'e yüksek afinite gösterir (Lüscher, 1993).

Bu reseptörlerin dağılımı, değişik cinslerde ve dokularda büyük farklılıklar göstermektedir (Bonggwan ve ark., 2010). ET_A reseptörü vasküler düz kas hücresi tarafından sentezlenir ve ET-1' in kasıcı etkisinden sorumludur. Vazokonstrüksiyon, FLC, IP₃ ve DAG yolağının aktivasyonu ile gerçekleşir (Sakurai ve ark., 1990). Bu tip reseptörler vasküler düz kas hücresi, böbrek ve kalpte bulunur (Turgan ve ark., 1996).

ET_B reseptörleri ise, daha yoğun olarak böbrekler, uterus, santral sinir sistemi ve endotel hücrelerinde olmak üzere, geniş bir dağılım gösterirler (Tamirisa ve ark., 1995; Stevenson ve ark., 1992). ET_B reseptörleri, endotel hücresinde NO üzerinden vazodilatasyona neden olurken, vasküler düz kas üzerinde vazokonstrüksiyona neden olurlar (Sakurai ve ark., 1990). ET_C reseptörü ise en son keşfedilen reseptör olup endotel hücresinde lokalizedir ancak memeli hücresinde varlığı gösterilmemiştir (Turgan ve ark., 1996).

ET reseptörleri B1, B2, 5HT1, 5HT2, V1 ve V2 reseptörlerini de içeren Rodopsin süper ailesine dahildirler. Bu reseptörlerin yedi adet transmembran segmenti vardır ve etkilerini G proteinleri aracılığı ile gösterirler (Tokaç ve ark., 1998). G proteinler de reseptöre bağlanarak fosfolipaz C' yi aktiflerler. Aktiflenmiş fosfolipaz C'nin etkisi ile ikinci haberciler olan inozitol 1,4,5-trifosfat ve 1,2-diaçilgliserol sentezlenir (Turgan ve ark., 1996; Tokaç ve ark., 1998). IP₃ endoplazmik retikulumdan Ca⁺² salıverilmesini artırır ve ET-1 daha sonra membran Ca⁺² kanallarını açarak ekstrasellüler Ca⁺²'un hücreye girişine neden olur ve bunun sonucunda damarlarda yavaş gelişen fakat uzun süren bir vazokonstrüksiyon meydana gelir ve kan basıncı yükselir. ET bilinen endojen vazokonstrüktör maddelerin en güçlüsü olup, gravimetrik etki gücü AII'den 10 kat daha fazladır (Baykal ve ark., 1996).

2.3.5. Endotelin Reseptör Antagonistleri

ET'lerin çeşitli vücut sistemleri üzerine olan önemli etkilerinin anlaşılmaya başlaması ile bunların istenmeyen etkilerini ortadan kaldıracak reseptör antagonistleri üzerinde çalışılmaya başlanmıştır. Bu amaçla, son yıllarda değişik kompetitif ET reseptör antagonistleri tanımlanmıştır (Turgan ve ark., 1996).

ET'nin tanımlanmasından sadece 2 yıl sonra, endotelin reseptör antagonistinin (ERA) ilk raporu yayınlandı. Bu antagonist, ET-1'in bazı etkilerini bloke etti, fakat özgünlük yönünden eksikti. Bundan kısa bir zaman sonra "*Streptomyces misakiensis*" fermantasyonunun doğal bir yan ürününden kompetitif endotelin antagonisti (BE-18257B) izole edildi (Motte ve ark., 2006).

ET reseptör antagonistleri, selektif ET_A, selektif ET_B ve non-selektif ET_A/ET_B reseptör antagonistleri olmak üzere sınıflandırıldı. Daha sonra siklik pentapeptid BQ-123 ve modifiye edilmiş linear peptid FR139317' nin gelişimi ile ET alanında önemli bir gelişme yaşandı (Motte ve ark., 2006).

Bu her iki reseptör antagonisti, ET_A reseptörleri için yüksek ölçüde selektif antagonistlerdir (Motte ve ark., 2006). ET_A reseptör antagonistleri ve ECE inhibitörleriyle tedavinin, insanlarda konjestif kalp yetmezliğinin seyrini olumlu yönde etkileyebildiğine ilişkin erken klinik bulgular vardır. Hayvanlarda ET_A ve ET_B reseptör blokörü olan ve oral yolla uygulanabilen tek ET reseptör antagonisti olan Bosentan'ın hipoksi ile uyarılan pulmoner hipertansiyonu ve pulmoner arter remodeling'ini önlediği gösterilmiştir (Tokaç ve ark., 1998).

ET_A selektif reseptör antagonisti BQ-123 ve nonselektif reseptör antagonisti Ro 47-0203 ile iskemi ve siklosporinlere bağlı akut renal yetersizliğinin gerileyebileceği gösterilmiştir. ET_A selektif antagonisti, FR 139317'nin progresif proliferatif renal

hastalığı önleyebildiği bildirilmiştir. Tavşan, köpek ve farelerde antikorlar ve BQ-123'ün akut miyokart enfarktüsü alanını küçültücü etkisi gösterilmiştir (Gültekin ve ark., 1994). ET_A selektif reseptör antagonisti BQ-485 köpeklerde ve non selektif antagonist Ro 47-0203 tavşanda, serebrovasküler spazmı önlemede etkili olmuşlardır. Tavşan ve farelerde çeşitli antagonistler ile tansiyonun düşürülebileceği ve hipertansiyona bağlı sekonder böbrek hastalığının geriletilebileceği bildirilmiştir (Gültekin ve ark., 1994).

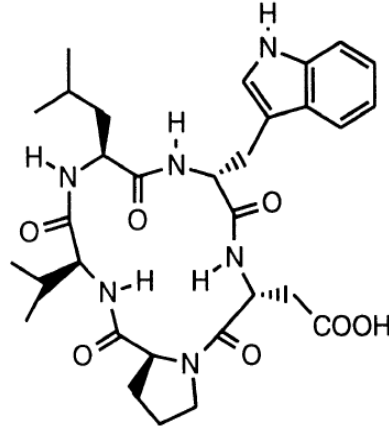
Sonuç olarak ET 'lerin vazokonstriksiyon görülen hastalıklardaki rolü gün geçtikçe belirginleşmektedir. Gelecekte reseptör antagonistlerinin ve ECE inhibitörlerinin geliştirilmesi ET 'lerin sağlıklı ve hasta kişilerdeki rolünü daha iyi anlamamıza ve de tedavide yeni yaklaşımların ortaya çıkmasına yol açacaktır (Gültekin ve ark., 1994).

2.3.6. Endotelin-A (ET_A) Reseptör Antagonisti: BQ-123

İlk ET -reseptör antagonisti, 1991'in başlarında Banyu Pharmaceutical Co. Ltd (Tokyo, Japonya) şirketinde Ihara ve ekibinin ET_A selektif reseptör antagonisti olan BQ-123'ün bulmasıyla ortaya çıkmıştır. Bu molekül 3 D-aminoasit içeren [cyclo(D-Trp-D-Asp-Pro-D-Val-Leu)] bir siklik pentapeptitti (şekil 2.3.6.1).

BQ-123 radyoaktif olarak etkilenmiş $ET-1$ 'i, rekombinant insan ET_A ve ET_B reseptörlerine sırasıyla 13 nM ve 10 nM'lik bir IC_{50} ile bağlanarak antagonize ediyor, böylece ET_B reseptör tiplerine göre ET_A reseptörlerine 1000 kat daha fazla afinite gösteriyordu. İzole edilmiş domuz koroner arterleri kullanıldığında da BQ-123 konsantrasyona bağlı ve kompetitif bir şekilde 7.4 pA₂'si üreterek $ET-1$ 'in etkisi sonucu meydana gelen kontraktıl tepkileri engelliyor ve benzer sonuçlar ortaya

çıkıyordu. BQ-123 ayrıca anestezi edilmiş normotansif sıçan modelinde ve gönüllü normotansif bir insanda, ET-1 etkisi ile meydana gelen tansiyon artışını engellemiştir. Ne var ki BQ-123'ün peptid yapısı nedeniyle oral yolla alınamama gibi bir dezavantajı bulunmaktadır (Ray ve ark., 2000).



Şekil 2.3.6.1: BQ-123'ün kimyasal yapısı (Webb ve Meek, 1997).

2.3.7. Plazma Endotelin Düzeyleri

Dolaşımdaki immünoreaktif ET konsantrasyonu ortalama 1-2 pg/mL olup bu miktar vazoaaktif için gerekli olan düzeylerin altındadır (Masaki, 1993). ET, sistemik olmaktan çok lokal, parakrin, otokrin bir hormon olarak etkisini gösterir. ET reseptörlerine sahip hedef hücrelerin ET sentez edici hücreler ile aynı dokuda bir arada bulunmaları, ET plazma düzeylerinin farmakolojik etkilerin gerektirdiğinden çok düşük olması ve ET'in hızla ve etkili bir şekilde akciğer ve diğer organlarca dolaşımdan uzaklaştırılması lokal etkiyi destekleyen bulgulardır (Gültekin ve ark., 1994).

Dolaşımdaki ET yarı ömrü 2 dakikadan kısadır ve ET'lerin yıkıma uğradığı organlar akciğer, böbrek ve karaciğerdir (Shiba ve ark.,1989; Gandhi ve ak., 1994). Yıkımda etkili enzim, nötral endopeptidaz olup, bu organların dışında vasküler düz kas

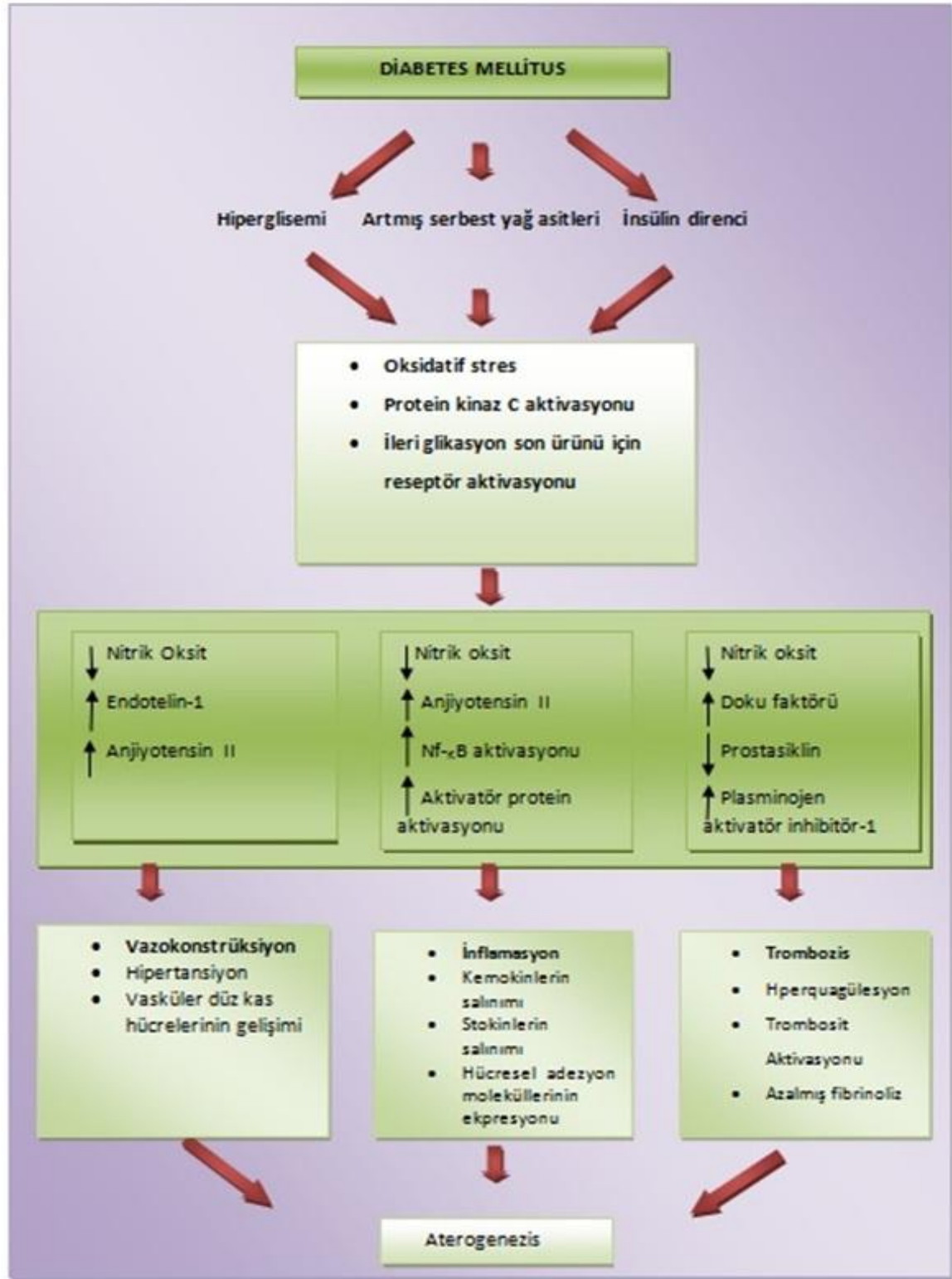
hücrelerinde de bulunur (Gandhi ve ark., 1994).

2.4. DİABETES MELLİTUS VE ENDOTEL DİSFONKSİYONU

Vasküler endotel disfonksiyonu, DM, hipertansiyon ve kardiovasküler hastalıkların patofizyolojisinde rol oynamaktadır (Beckman ve ark., 2002). Vasküler endotel hücreler sağlıklı insanda, kardiyovasküler homeostazın sağlanmasında önemli rol oynarlar. Damar duvarı ve lümen arasında fiziksel bir bariyer görevinin yanısıra endotel, trombosit agregasyonu, fibrinolizis, koagülasyon ve damar tonusu regülasyonundan sorumlu bir çok mediyatör sekrete eder. Endotel disfonksiyon terimi bu mediyatörlerin üretimindeki dengesizliği ifade etmektedir (Yener, 2005).

Diyabetli hastalardaki endotel disfonksiyonunu temel mekanizması, dislipoproteinemi ve reaktif oksijen radikallerindeki (ROS) artmasıdır (Watss ve ark., 1998). Buna ek olarak glikozun enzimatik olmayan yollarla oksidasyonu sonucu oluşan glikolizasyon son ürünleri de LDL oksidasyonunu artırır ve bunun sonucunda endotel disfonksiyonuna neden olur (Bucala ve ark., 1993). Diyabetik endotel disfonksiyonda ET-1'in rolü araştırılmaya devam edilmektedir.

Aşağıdaki şekil 2.4.1'de diyabetik hastalarda gelişen endotel disfonksiyonun nedenleri özetlenmiştir.



Şekil 2.4.1: Backman ve arkadaşlarının makalesinden modifiye edilmiştir. DM'da endotelial disfonksiyon (Backman ve ark., 2002)

2.5. ENDOTEL DİSFONKSİYONUNUN BİR GÖSTERGESİ OLARAK ENDOTELİN-1

2.5.1. Endotelin-1 ve Diabetes Mellitus Arasındaki İlişki

Stres ve diyabet gibi çeşitli durumlarda, plazma ET-1 düzeylerinin yükseldiği rapor edilmiştir (Said ve ark., 2005). Bu konu ile ilgili olarak yapılan bir çok araştırma da bunu desteklemektedir.

Makino ve Kamata 1998 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda hem ET-1 düzeylerinin hem de glikoz düzeylerinin belirgin bir şekilde arttığını bulmuşlardır (Makino ve Kamata, 1998).

Yang ve ark., diyabetik Wistar sıçanlarda kan ve idrar ET-1 düzeylerini yüksek olarak saptamışlardır (Yang ve ark.,2003)

Yine başka bir çalışmada, Takahashi ve ark., 100 diyabetik hasta ve 19 sağlıklı kontrolü dahil ettikleri çalışmalarında, plazma immunreaktif-ET konsantrasyonunun diyabetiklerde sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır (Takahashi ve ark.,1990).

2002 yılında Schneider ve ark.'nın 101 Tip 1 diyabetli, 124 Tip 2 diyabetli, 35 hipertansif ve diyabetli hasta ve 99 kişilik bir kontrol grubundan oluşan çalışmalarında plazma ET-1 düzeylerini araştırmışlar ve sonucunda diyabetli ve hipertansif hastalarda ET-1 düzeyinin arttığını bulmuşlardır (Schneider ve ark., 2002).

Diyabetiklerde ET düzeylerindeki artışı indükleyen en önemli metabolik değişiklikler, hiperglisemidir. Sığır retinal kapiller endotel hücrelerinin kullanıldığı hücre kültür çalışmalarında, yüksek glikoz düzeyinin protein kinaz C yolağı üzerinden ET-1 salınımını arttırdığı bulunmuştur (Park ve ark.,2000). Dolaşımdaki ET'lerin önemli bir kısmını oluşturan ET-1'in plazma konsantrasyonunun artışı, endotelial

hücreler tarafından aşırı üretimine ve fazla miktarın dolaşıma geçmesine bağlıdır. Diyabetik hastalarda plazma ET-1 düzeylerindeki artışın mekanizmasını açıklayan başka bir çalışmada, glikoz konsantrasyonu yüksek kültür ortamında hibrid endotel hücreleri ve insan umbilikal ven endotel hücrelerinde ECE-1 ekspresyonunun arttığı saptanmıştır (Keynan ve ark., 2004).

2.5.2. Endotelin-1 Reseptör Antagonistlerinin Diabetes Mellitus'da Etkileri

Diyabette, ET-1'in biyosentezi artmaktadır ve bu nedenle, bu peptid vasküler komplikasyonlara neden olmaktadır. Deneysel diyabet oluşturularak çeşitli ET reseptör antagonistlerinin etkilerini araştıran bir çok çalışma bulunmaktadır.

2002 yılında Kanie ve Kamata yaptıkları bir çalışmada, önce STZ ile sıçanlarda diyabet oluşturmuşlar, sonrasında ET_A ve ET_B reseptör antagonisti J-104132'nin oluşan endotel disfonksiyonuna olası etkilerini araştırmışlardır. Bunun için sıçanların aortalarını kullanmışlardır. Çalışmanın sonucunda, J-104132 tedavisinin, STZ ile diyabet oluşturulmuş ratların aortalarında meydana gelen endotel disfonksiyonunda iyileşme meydana getirdiği ve J-104132'nin bu etkisinin aortik süperoksid anyonlarda azalma meydana getirerek oluşabileceği sonucuna varmışlardır (Kanie ve Kamata, 2002).

Yine başka bir çalışmada Said ve arkadaşları, stres ve diyabet boyunca meydana gelen metabolik değişikliklerde, ET_A/ET_B reseptör antagonisti olan bosentanın etkilerini araştırmışlar ve diyabetik sıçanlarda artan ET-1'in, karaciğerde glikojenolizi stimüle ettiği ve insülin rezistansına neden olduğunu bulmuşlardır. Bosentan tedavisi sonucunda, yükselen serum glikoz düzeyinin düştüğü ve bosentanın insülinin hipoglisemik etkisini etkin hale getirdiği sonucuna varmışlardır (Said ve ark., 2005).

Bu sonuçlardan yola çıkarak, diyabette ET reseptör antagonistlerinin olumlu etkilere sahip olduğunu söyleyebiliriz.

2.5.3. Endotelin-1 ve Leptin Arasındaki İlişki

Leptin ve ET-1' in bir takım hastalıklar ve sistemler üzerine etkilerini değerlendiren bir çok çalışma yapılmıştır.

Daha önce ET-1'in adipositler üzerinde leptin üretilmesi yönünde stimülatör etkisinin olduğu (Xiong ve ark., 2001), leptinin de insan umbilikal ven hücrelerinden (HUVECs) ET-1 üretilmesi üzerine stimülatör etkisinin olduğu (Quehenberger ve ark., 2002), invitro modellerde gösterilmiştir.

2002 yılında Quehenberger ve arkadaşları, HUVEC'lerde ob gen ürünü olan leptinin ET-1 ekspresyonundaki etkisini araştırmışlardır. 125I-radyoaktif olarak etkilenmiş leptin kullanan bağlantılı çalışmalarda, HUVEC'lerde yüksek ve düşük duyarlılıklı leptin bağlama alanlarının (sırasıyla Kd1_13.1_3.1 nmol/L ve Kd2_1390_198 nmol/L), HUVEC'lerin leptin ile inkübasyonunun ardından süreye ve doza bağlı bir ET-1 mRNA ekspresyonu ve protein sekresyonu artışına neden olduğunu ortaya çıkarmıştır (Quehenberger ve ark., 2002).

Yine Xiong ve arkadaşları, 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada, adiposit hücreler üzerinde çalışmışlar ve ET'in iki farklı adiposit hücre çizgisinde leptin üretiminin uyarılmasında insülin kadar kuvvetli ve etkili olduğunu bulmuşlardır. ET'ler ET-1> ET-3 güç sırasına göre ET_A'nın leptin üretimini uyardığını bildirmişlerdir. Yaptıkları Northern Blot analizinde her iki hücre çizgisinde, ET_Bdeğil ancak ET_A ekspresyonunu tespit etmişlerdir. Ayrıca ET_A selektif reseptör antagonisti FR139317, ET-1 ile indüklenen leptin ekspresyonunu ET_B selektif reseptör antagonisti BQ-788'den

daha etkili bir şekilde önlediğini bulmuşlardır. Sonuç olarak ET-1'in, kültürlü adipositlerde ET_A reseptörü ile leptin üretimini uyardığı kanısına varmışlardır (Xiong ve ark., 2001). Bu verilerden yola çıkarak diyabette artan ET-1 düzeylerinin plazma leptin düzeylerini de etkileyebileceğini düşündük.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Mayıs 2011 - Haziran 2011 tarihleri arasında Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmamızda, ağırlıkları yaklaşık 180 ile 250 gr arasında olan 24 adet erkek Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Deney öncesi Gaziosmanpaşa Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan etik onay alındı ve "etik kurallara uygunluk esası" kararına uyuldu.

Denekler 12 saat aydınlık 12 saat karanlık siklusunda $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında tutularak, standart sıçan pellet yemi ve musluk suyu ile beslendiler. Hayvanlar, deney süresi boyunca Fizyoloji ABD laboratuvarında tutuldu ve burada bakıldı. Deneye başlamadan 12 saat önce tüm hayvanlar aç bırakıldı ve sonrasında kan glikoz düzeyleri ölçüldü.

Diyabet oluşturmak üzere 16 adet deney hayvanına (STZ grubu ve STZ+BQ-123 grubu) tek doz 60 mg/kg STZ *i.p.* olarak enjekte edildi. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra tekrar kan-glikoz düzeylerine bakıldı ve 200 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi. Sıçanlarda fizyolojik serum glikoz düzeyi 50-135 mg/dl olduğundan, diyabet oluşumunun tanısı > 200 mg/dl olarak belirlenmiştir. Diyabetik bozuklukların tam olarak oluşması için sıçanlar 40 gün uygun koşullarda tutuldu ve bu süre içinde hayvanlar beslenmeye devam etti. Deney süresince diyabetik sıçanlarda polifaji, poliüri, polidipsi ve stabil hiperglisemi gözlemlendi. Diyabet oluşan sıçanlarda poliüri, oluştuğundan kafeslerinin sık aralıklarla temizliği yapıldı ve fazla su tükettiklerinden dolayı günde 2 kez sulukları değiştirildi. Deney başında, ortasında ve deney sonunda olmak üzere sıçanların kilo takibi yapıldı.

40. gün BQ-123 verildikten 6 saat sonra tüm sıçanların göğüs kaviteleri 30 mg/kg ketamin (ketalar, Pfizer 50 mg/ml'lik solüsyon) ve 5mg/kg ksilazin hidroklorür

(Rompun, Bayer, %2'lik solüsyon) anestezisi altında açılarak kardiyak kan örnekleri alındı.

3.1. Deney Grupları ve Deney Protokolü

Çalışmada kullanılan sıçanlar her grupta 8 adet olacak şekilde 3 gruba ayrıldı (tablo 2.6.1.1). Kontrol, STZ, STZ+BQ-123 grubu.

Grup 1 (Kontrol grubu, n=8): STZ ve BQ-123 uygulamasının yapılmadığı, diğer bütün uygulamaların (kan şekeri ölçümü, kalpten kan alma) yapıldığı grup. STZ yerine tek doz eş hacimde fosfat-sitrat tampon (pH: 4,5) *i.p.* olarak verildi. 39. ve 40. gün BQ-123 yerine eş hacimde serum fizyolojik *i.v.* olarak verildi.

Grup 2 (STZ Grubu, n=8): Sıçanlara 60 mg/kg dozunda STZ'nin fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) çözdürülerek *i.p.* olarak tek doz enjekte edildiği diyabetik grup. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra kan glukoz düzeyleri 200 mg/dl'nin üstünde olanlar diyabet kabul edildi. BQ-123 yerine 39. ve 40. gün kuyruk veninden eş hacimde serum fizyolojik *i.v.* olarak verildi.

Grup 3 (STZ+ BQ-123, n=8) : Sıçanlara 60 mg/kg. STZ ve 29. ve 30. gün (2mg/kg + 2mg/kg) toplam 4 mg/kg olacak şekilde *i.v.* BQ-123'ün uygulandığı deney grubu. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra kan glukoz düzeyleri 200 mg/dl'nin üstünde olanlar diyabet kabul edildi.. STZ verildikten sonra 39. gün BQ-123, 2 mg/kg ve 40.gün BQ-123 2 mg/kg *i.v.* olarak lateral kuyruk veninden verildi. BQ-123 verilmesinden 6 saat sonra sıçanlar anestezisi edildi ve kardiyak kan örnekleri alındı.

Tüm gruplarda 40. gün sonunda ketamin (30 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) anestezisi altında 4-5 cc kardiyak kan örneği alındı ve sıçanlar sakrifiye edildi. Alınan kan örnekleri santrifüj edilerek elde edilen plazmada; ELISA kiti ile plazma leptin

düzeyine, ayrıca serumda NO düzeyleri, lipit hasarının göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) ve protein hasarının göstergesi protein karbonil (PC) düzeylerine bakıldı. Ayrıca kan glikoz ve elektrolit (Na^+ , K^+ , Cl^-) düzeylerine bakıldı.

Tablo 3.1.1 Deney Grupları

Grup adı	Sıçan sayısı	Uygulama
Grup 1 (Kontrol)	8	STZ ve BQ-123 verilmeyen bunun yerine eş hacimlerde tampon çözelti ve SF verilen grup.
Grup 2 (STZ)	8	60 mg/kg STZ'nin <i>i.p.</i> verildiği grup
Grup 3 (STZ+BQ-123)	8	60 mg/kg STZ ip + BQ-123 4 mg/kg (2 doz: 2mg+ 2mg= 4mg) <i>i.v.</i> olarak verildiği grup

3.1.2. Deney Protokolü

*Deney 40 günlük süreci kapsamaktadır. (Diyabet tablosunun tam olarak oluşabilmesi için STZ enjeksiyonundan sonra 40 gün beklendi).	
1.gün	<ul style="list-style-type: none"> Sıçanlar basit rastgele yöntem ile her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. (Kontrol grubu n=8, STZ grubu n=8, STZ+BQ-123 grubu n=8). 12 saat aç bırakılan her bir gruptaki sıçanların önce glikometre yardımıyla kan-glukoz düzeyleri ölçüldü ve kayıt edildi.. Sonrasında her bir sıçanın ağırlığı ölçülerek, STZ ve STZ+BQ-123 grubundaki sıçanlara fosfat-sitrat tampon (pH: 4.5) içinde çözündürülerek taze olarak hazırlanmış STZ 60mg/kg olacak şekilde <i>i.p.</i> olarak uygulandı. Kontrol grubuna ise sadece eş hacimde fosfat-sitrat tampon çözeltisi <i>i.p.</i> olarak verildi. Sonrasında sıçanların beslenmesi serbest bırakıldı.
3.gün gün (72 saat sonra)	<ul style="list-style-type: none"> 72 saat sonra STZ uygulanan gruptaki sıçanların tekrar açlık kan glikoz düzeyleri ölçüldü. Kan-glikoz düzeyleri 200 mg/dL ve üstü olanlar diyabetik kabul edildi.
20. gün	<ul style="list-style-type: none"> Tüm grupta sıçanların ağırlıkları tartıldı.
39. gün	<ul style="list-style-type: none"> STZ + BQ-123 grubundaki sıçanlara 2 mg/kg <i>i.v.</i> olarak kuyruk venlerinden BQ-123 verildi. Kontrol grubuna ise BQ-123 yerine eş hacimde SF verildi.
40.gün	<ul style="list-style-type: none"> STZ + BQ-123 grubundaki sıçanlara 2 mg/kg <i>i.v.</i> olarak kuruk veninden BQ-123 verildi. Kontrol grubuna ise BQ-123 yerine kuyruk veninden eş hacimde SF verildi. 6 saat sonra tüm sıçanlardan kardiyak kan örnekleri alındı. Leptin, PC, TBARS, NO, Na⁺, K⁺, Cl⁻ düzeylerine bakıldı.

3.2. Deneysel Diyabet Oluşturulması

Sıçanlarda diyabet oluşturmak için Sigma S0130 marka STZ kullanıldı. STZ uygulaması 60 mg/kg dozunda *i.p.* olarak tek doz yapıldı. STZ yi çözündürmek için 20Mm pH: 4,5 fosfat-sitrat tampon çözeltisi kullanıldı. STZ bu çözelti ile sulandırılarak taze olarak hazırlanıp hemen sıçanlara uygulandı. Diyabet grubu sıçanların her birinin STZ uygulamasından önce kan glikoz düzeyleri bir glikometre (pM 1-300 PlusMED accuro) yardımıyla ölçüldü. STZ uygulamasından 72 saat sonra yeniden kan glikoz düzeyleri ölçülerek diyabet oluşup oluşmadığı kontrol edildi. Diyabet için kan glikoz düzeyi >200 mg/dl olarak kabul edildi.

3.3. Kardiyak Kan Örneği Alma

Deney sonunda tüm sıçanlardan ketamin ve ksilezin anestezisi altında kardiyak kan örnekleri alındı ve sonrasında tüm sıçanlar sakrifiye edildi. Kan alırken yapılan işlem sırası şu şekildedir:

Sıçanlar ksilazin (5 mg/kg) ve ketamin (30 mg/kg) ile anestezisi edildi ve sırt üstü yatırılarak tesbit edildi. Göğüs kafesi açılarak, kalp görünür hale getirildikten sonra, kalbin apeksine bir enjektör yardımıyla girilerek yaklaşık 4-5 cc kan örnekleri alındı ve ilgili tüplere konuldu. Yeterli kan alındıktan sonra sıçanlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri

Streotozotocin: (2-Deoxy-2-(3-methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose)

Moleküler formülü: C₈H₁₅N₃O₇

Moleküler Ağırlığı: 265.2

Uygulama Şekli: Diyabet oluşturmak için 60 mg/kg olacak şekilde *i.p.* olarak uygulandı. İlacı çözmek için, taze hazırlanmış 20 Mm pH: 4.5 fosfat sitrat tampon kullanıldı.

ET_A Reseptör Antagonisti (BQ-123): (Cyclo(D-Asp-Pro-D-Val-Leu-D-Trp, Na)

Moleküler Formülü: C₃₁H₄₁N₆O₇ · Na

Moleküler Ağırlığı: 632.7

Uygulama Şekli: 4 mg/kg olacak şekilde *i.v.* olarak kuyruk veninden verildi. Çözücü olarak serum fizyolojik kullanıldı.

3.5. Biyokimyasal Analizler

3.5.1. Plazma Leptin Düzeyinin Ölçümü

Plazma leptin düzeyi, alınan kanlar santrifüj edilmeden sonra elde edilen plazmalarda Mouse/Rat ELISA Leptin kiti (BioVendor, Cat No: RD291001200R, North Carolina, USA) kullanılarak ELISA cihazında (Organon teknika reade230S) enzime bağlı immün analiz (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) yöntemi ile ölçüldü. Sonuçlar 450 nm'de okutuldu ve ng/ml olarak hesaplandı. Leptin ELISA kiti, sandviç prensibine dayalıdır. Mikrotitre tabakası, leptin molekülündeki tek entijenik kısma karşı duyarlı olan monoklonal antikorla kaplanmıştır. Büyük leptin molekülü içeren hasta numuneleri 'rabbit anti leptin' antikoruyla kaplanmış tabakada inkübe edilir ve sandviç kompleksi oluşturulur. İnkübasyondan sonra bağlanmamış materyal yıkanır ve bağlanmış leptinin tespiti için 'anti rabbit' peroksidaz eklenir. Substrat çözeltisi ilave edilir, oluşan rengin yoğunluğuyla hasta serumundaki leptin miktarı doğru orantılıdır (Considine ve ark.,1996)

3.5.2. Tiyoarbitürük Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Miktarının Ölçümü

TBA (tiyoarbitürük asit) testi, MDA (malondialdehit) için spesifik değildir ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehiti tek başına ölçebilecek başka bir biyokimyasal yöntemde mevcut değildir. MDA'dan başka diğer aldehit bileşikleri, okside lipitleri, sialik asit gibi maddelerde TBA ile birleşerek renkli kompleks oluşturur. Bu yüzden tiyoarbitürük asitle reaksiyonlaşan maddeler (TBARS) teriminin kullanılması daha doğrudur ve bu test tüm dünyada biyokimyasal olarak lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kabul edilir (Erdal ve ark., 2005).

Serum TBARS düzeyi, Mihara ve Uchiyama yöntemimile ölçüldü (Mihara ve ark., 1978). TBA test reaksiyonunda, malondialdehit (MDA) veya MDA benzeri maddeler TBA reaksiyona ile girerek pembe bir renk meydana getirir ve 532 nm maksimum absorbans verir. Reaksiyon, 15 dk pH 2-3 ve 90 °C' de gerçekleştirildi. Örneklerin proteinlerini çöktürmek için iki kat hacim % 10 soğuk trikloroasetik asit (w/v) karıştırıldı. Santrifüjle parçacıklar çöktürüldü ve supernatantın sıvı kısmı eşit hacimli % 0,67'lik (w/v) TBA ile kaynayan su banyosunda 10 dk reaksiyon gerçekleştirildi. Soğutulduktan sonra, 532 nm' da absorbansı spektrofotometrik okundu. Sonuçlar nmol/ml olarak hesaplandı.

3.5.3. Protein Karbonil (PC) Miktarının Ölçümü

Protein karbonil grubu saptaması; protein karbonil grupları ile 2,4-dinitrofenil hidrazinin reaksiyonu sonucu oluşan kararlı hidrazon bileşiklerinin 370 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayalı olarak yapıldı. Hesaplamalar sırasında 2,4 dinitrofenil hidrazinin için 370 nm'de molar absorpsiyon katsayısı $\epsilon = 22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ alındı. Protein karbonil düzeyleri nmol/ml olarak hesaplandı (Leveni ve ark., 1990).

3.5.4. Nitrik Oksit (NO) Miktarının Ölçümü

NO canlı organizmada katıldığı reaksiyonlar ile saniyeler içinde okside olarak nitrit (NO₂⁻) ve nitrat (NO₃⁻) son ürünlerini oluşturmaktadır. Bu iki son ürünün oranları değişkendir. Bu nedenle total NO üretiminin en iyi göstergesi NO₂⁻ ve NO₃⁻' ün birlikte ölçülmesidir. Serumda nitrit miktarı deproteinizasyondan sonra Griess reaksiyonu ile belirlendi (Cortas ve ark., 1990). Total nitrit (nitrit+nitrat) ise modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile değerlendirildi. Ph 9.7 glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granülleri deproteinize numune süpernatantı ile 90 dakikalık inkübasyon sonunda nitrat redüksiyonu sağlandı. Üretilen nitrit; sülfanilamid ve buna bağlı N-naphtylethylene daimin (NNDA) diazotizasyonuyla belirlendi. Reaksiyon sonucu olan pembe bir renk 545 nm dalga boyunda spektrofotometre (Cintra 10e UV-Vsible) yardımı ile okundu. Sonuçta elde edilen nitrit konsantrasyonu ile ilk konsantrasyondan çıkarılarak nitrat konsantrasyonu belirlendi.

3.5.5. Diğer Biyokimyasal Analizler

Plazma Na, K, Cl değerleri,(ise indirect Na⁺, K⁺,Cl⁺ kitleri kullanılarak bir otoanalizör (Cobas C 501, Tokyo, JAPAN) yardımı ile ölçüldü.

3.5.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, “ SPSS 19.0 for Windows” ile yapıldı. Gruplar arası farkların karşılaştırılmasında “One way ANOVA” testi kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uymadıkları durumda ise (Levene testine göre $p \leq 0.05$ olduğunda) bu test yerine “Kruskal Wallis Varyans Analizi” uygulanmıştır.

Tek yönlü varyans analizinde gruplar arası fark önemli bulunduğunda ($p \leq 0.05$)

gruplar ikişer ikişer Post Hoc testlerinden “Tukey HSD ” ile karşılaştırılmıştır.

Kruskal Wallis Varyans Analizinde gruplararası fark önemli bulunduğu (p≤0,05) ise gruplar ikişer ikişer “Mann-Whitney U testi (Bonferoni düzeltmeli)” ile karşılaştırılmıştır.

α (yapılanma düzeyi =hata payı)

Bonferoni düzeltmesi = $\frac{\alpha}{\text{İterasyon sayısı (ikişerli karşılaştırmaların toplam sayısı)}}$

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlıkları ve Kan Glikoz Değerleri

Sıçanların deney boyunca vücut ağırlıkları ve kan-glikoz düzeyleri tablo 4.1.1 ve tablo 4.1.2' de verilmiştir.

Tablo 4.1.1 Deney boyunca sıçanların canlı ağırlık düzeyleri (g)

Gruplar	Deney Başında (0. gün)		Deney Ortasında (20. gün)		Deney Sonunda (40. gün)		p değeri	Günlere Göre Anlamli Fark (Tukey HSD)
	n	X±SD	n	X±SD	n	X±SD		
Kontrol Grubu	8	184.38±12,37	8	193.13±11,63	8	239.38±15,68	F= 39.228 p= 0.001*	1-3, p=0.0001* 2-3, p=0.0001* 1-2, p=0.405
STZ Grubu	8	208.13±7,53	8	200.00±10,35	8	191.25±11,57	F= 5.741 p= 0.01*	1-3, p=0.07* 1-2, p=0.255 2-3, p=0.208
STZ+BQ-123	8	231.25±25,03	8	218.75±18,47	8	203.50±29,90	F= 2.490 p= 0.107	Gruplar arası fark önemsiz
p değeri	F = 7.236 p = 0.004*		$\chi^2 = 15.470$ p = 0.0001*		$\chi^2 = 12.862$ p = 0.002*			
Gruplara göre anlamli fark (Tukey HSD, Mann-Whitney-U)	Tukey HSD 1-2 0.594 1-3 0.004* 2-3 0.035*		Mann-Whitney U 1-2, 4.5 0.002* 1-3, 1.0 0.0001* 2-3, 11.5 0.028*		Mann-Whitney U 1-2 0.0 0.0001* 1-3 9.0 0.015* 2-3 20.0 0.234			

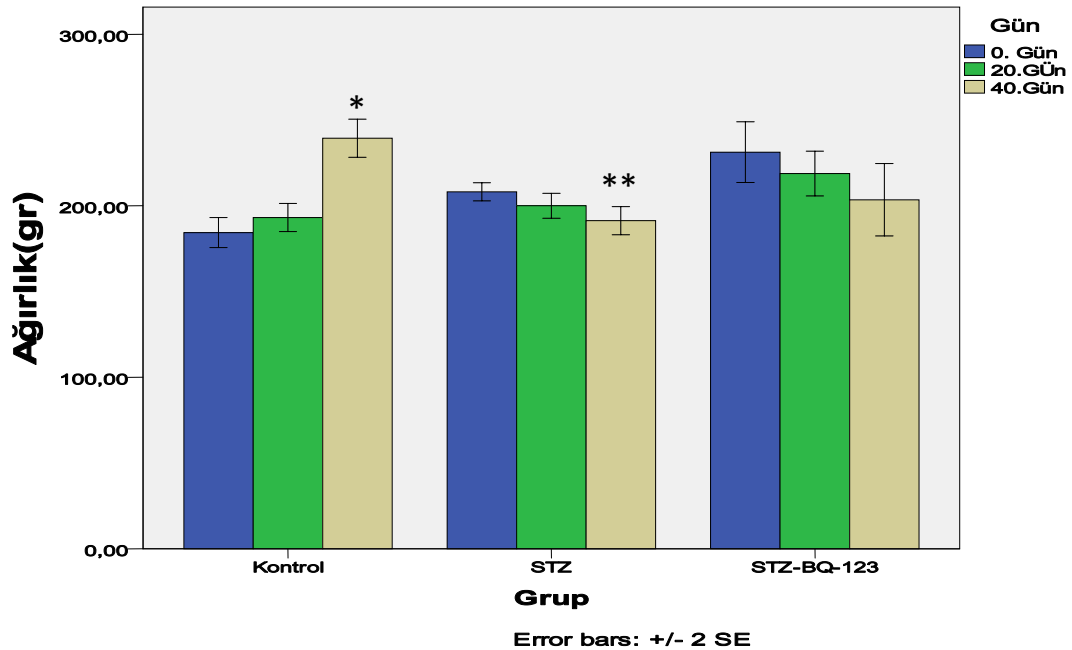
Kategoriler: "0. Gün=1"; "20.Gün=2"; 40. Gün=3".

Gruplar= "Kontrol=1"; "STZ=2"; "STZ+BQ-123=3"

Sıçanların deneye başlama ağırlıkları Kontrol, STZ, STZ+BQ-123 gruplarında sırasıyla 184.37 ± 12.37 ; 208.13 ± 7.53 ; 231.25 ± 25.03 g olarak ölçülmüştür (grafik 4.1.1). Deney ortasında sıçanların ağırlıkları Kontrol, STZ ve STZ+BQ-123 gruplarında sırasıyla 193.13 ± 11.63 ; 200.00 ± 10.35 ; 218.75 ± 18.47 g olarak ölçülmüştür.

Deney sonunda sıçanların ağırlıkları incelendiğinde Kontrol grubundaki sıçanların ağırlıkları deney boyunca artmış ve deney sonunda 239.38 ± 15.68 g olarak ölçülmüştür. Kontrol grubu sıçanların ağırlıkları deney başındaki ağırlıklarına göre anlamlı derece artış göstermiştir ($p= 0.0001$). STZ ve STZ+BQ-123 grubundaki sıçanların ağırlıkları ise deney boyunca azalmış ve deney sonunda sırası ile 191.25 ± 11.57 g; 203.50 ± 29.90 g olarak ölçülmüştür. STZ grubu sıçanların deney sonundaki ağırlıkları deney başındaki ağırlıklarına göre anlamlı derece azalma göstermiştir ($p= 0.07$). STZ+BQ-123 grubu sıçanların ağırlıklarında deney sonunda anlamlı bir fark oluşmamıştır ($p= 0.107$). Deney sonunda gruplar arası ağırlıklar karşılaştırıldığında, STZ grubu ($p= 0.0001$) ve STZ+BQ-123 grubu ($p= 0.015$) sıçanların ağırlıkları Kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Kontrol grubundaki sıçanlarda deney başından deney sonuna kadar ortalama 55 g'lık bir artış olurken, STZ grubunda ortalama 17 g'lık ve STZ+BQ-123 grubunda ise ortalama 28 g'lık bir kilo kaybı görülmüştür.



Grafik 4.1.1. Sıçanların deney boyunca canlı ağırlıkları (g).

* $p= 0.0001$, 0. ve 20. günlere göre anlamlı fark vardır.

** $p= 0.07$, 0. güne göre anlamlı fark vardır.

Tablo 4.1.2 Deney boyunca sıçanların açlık kan-glikoz düzeyleri (mg/dl)

Gruplar	Deney Başında (0.gün)		STZ Verildikten 72 Saat Sonra		Deney Sonunda 40. Gün		p değeri	Günlere Göre AnlamlıFark (ANOVA, MannWhitney-U Testi)
	n	X±SD	n	X±SD	n	X±SD		
Kontrol Grubu	8	111.50±22,34	8	127.00±15,32	8	125.13±16,90	F= 1.686 p= 0.209	ANOVA Gruplar arası fark önemsizdir.
STZ Grubu	8	104.25±25,33	8	491.75±72,65	8	564.75±49,74	$\chi^2= 16.557$ p= 0.0001*	Mann-Whitney U p 0.00 0.0001* (1-2) 0.00 0.0001* (1-3) 17.0 0.130 (2-3)
STZ +BQ-123 Grubu	8	96,25±15.89	8	501.13±75.75	8	538.88±91.47	$\chi^2= 15.981$ p= 0.0001*	Mann-Whitney U p 0.00 0.0001* (1-2) 0.00 0.0001* (1-3) 21.5 0.279 (2-3)
p değeri	F=1.003 p=0.384		$\chi^2=15.387$ p=0.0001*		$\chi^2=15.500$ p= 0.0001*			
Gruba Göre Anlamlı Fark (ANOVA, MannWhitney - U)	ANOVA Gruplar arası fark önemsizdir.		Mann-Whitney U p 1-2 0.000.0001* 1-3 0.000.0001* 2-3 32.0 1.000		Mann-Whitney U p 1-2 0.00 0.0001* 1-3 0.00 0.0001* 2-3 31.0 0.959			

Kategoriler: "0. Gün=1"; "STZ Verildikten 72 Saat Sonra=2";40. Gün=3".

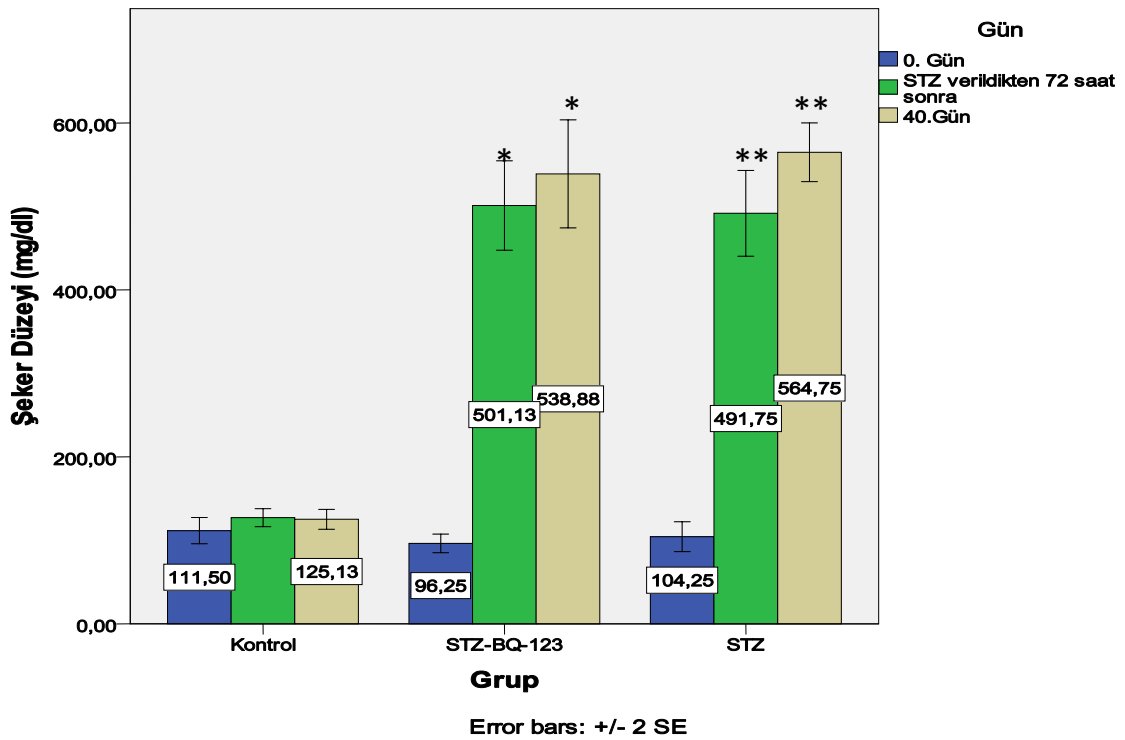
Gruplar= "Kontrol=1"; "STZ=3"; "STZ+BQ-123=2"

*İstatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

Sıçanların deney başındaki kan glikoz değerleri, Kontrol grubunda 111.50 ± 22.34 mg/dl, STZ grubunda 104.25 ± 25.33 mg/dl ve STZ+BQ-123 grubunda 96.25 ± 5.89 mg/dl olarak ölçülmüştür (Grafik 4.1.2). STZ uygulanmasından sonra, STZ grubunda AKŞ; 491.75 ± 72.65 mg/dl, STZ+BQ-123 grubunda ise 501.13 ± 75.75 mg/dl, şeklindedir. AKŞ düzeyleri istatistik olarak önemli bir artış göstermiştir (her ikisi için, $p=0.0001$). STZ ve STZ+BQ-123 grubundaki sıçanların kan-glikoz düzeyleri

artmaya devam etmiş ve deney sonunda (40. gün) sırasıyla 564.75 ± 4.974 mg/dl ve 538.88 ± 91.47 mg/dl olarak ölçülmüştür. STZ grubu sıçanların AKŞ'leri deney sonunda deney başındakine göre anlamlı derecede azalma göstermiştir ($p= 0.0001$). Aynı şekilde STZ+BQ-123 grubu sıçanların AKŞ'de deney başındakine göre anlamlı derecede artma göstermiştir ($p=0.001$). Kontrol grubunda ise deney boyunca AKŞ düzeylerinde istatistiksel önemde bir fark gözlenmemiştir ($p= 0.209$).

Sıçanların AKŞ düzeyleri gruplar bazında karşılaştırıldığında, deney başında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0.384$). Deney sonunda ise STZ ve STZ+BQ-123 grubu AKŞ değerleri Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p= 0.0001$).



Grafik 4.1.2. Deney boyunca sıçanların açlık kan-glikoz düzeyleri (mg/dl).

* $p= 0.0001$, 0. güne göre anlamlı fark vardır.

** $p= 0.0001$, 0. güne göre anlamlı fark vardır.

4.2. Plazmada Leptin, Serumda PC, TBARS, NO Düzeyleri

Deney sonundaki, Leptin, NO, PC, TBARS düzeyleri tablo 4.2.1’de verilmiştir.

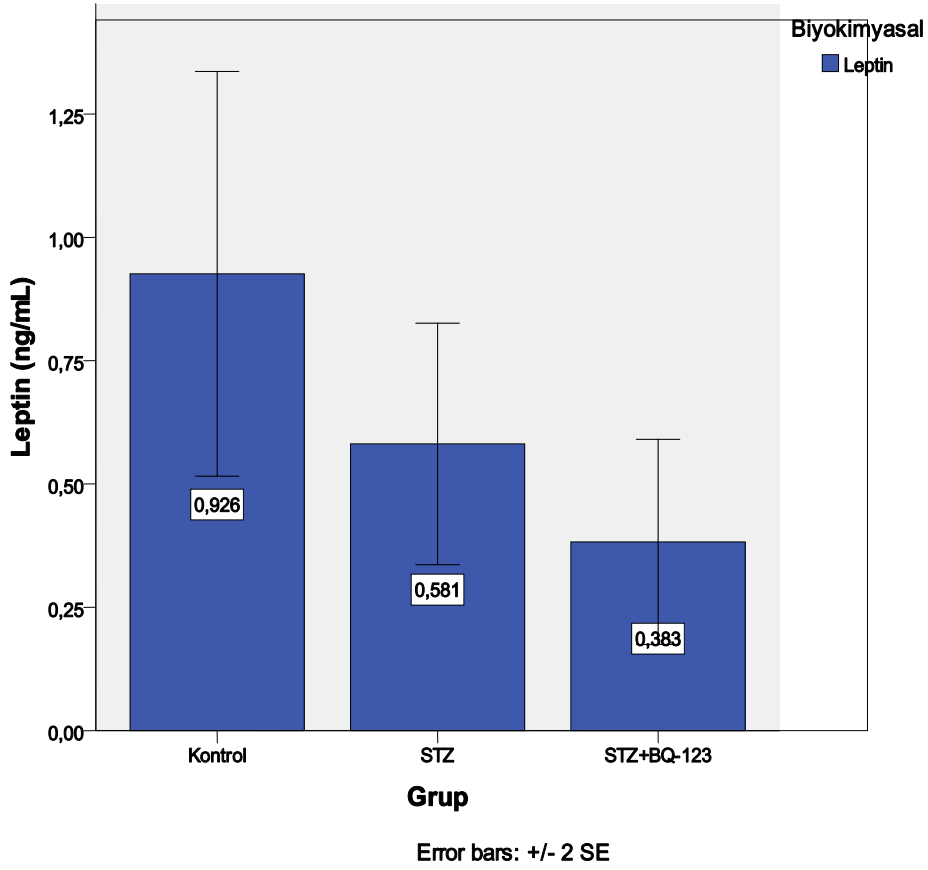
Tablo 4.2.1. Deney sonundaki leptin, Protein Karbonil (PC), Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBARS), Nitrik oksit (NO) düzeyleri.

Gruplar	LEPTİN (ng/mL)		TBARS (nmol/mL)		PC (nmol/mL)		NO (nmol/mL)	
	n	X±SD	n	X±SD	n	X±SD	n	X±SD
Kontrol Grubu	8	0.92±0.58	8	1.55±0.16	8	903.88±280.45	8	46.32±3.85
STZ Grubu	8	0.58±0.34	8	1.97±0.24	8	930.50±252.09	8	38.52±2.26
STZ+BQ-123	8	0.38±0,29	8	1.65±0,10	8	1040.50±400.41	8	37.48±4.88
p değeri	F= 3.343 p= 0.055		F= 12.590 p= 0.0001*		F= 0.416 p= 0.665		F= 12.816 p= 0.0001*	
Gruplara göre anlamlı fark (ANOVA, Tukey HSD)	ANOVA p=0.055 (Gruplar arası fark önemsizdir.)		Tukey- HSD 1-2 p= 0.0001* 1-3 p= 0.481 2-3 p= 0.0004*		ANOVA p= 0.665 (Gruplar arası fark önemsizdir)		Tukey-HSD 1-2 p= 0.0001* 1-3 p= 0.0001* 2-3 p= 0.849	

*istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark vardır.
Gruplar= “Kontrol=1”; “STZ=2”; “STZ+BQ-123=3”

Deney gruplarındaki sıçanların plazma leptin düzeylerine bakıldığında Kontrol grubunda ortalama 0.92 ± 0.58 ng/mL, STZ grubunda ortalama 0.58 ± 0.34 ng/mL, STZ+BQ-123 grubunda ortalama 0.38 ± 0.29 ng/mL olarak bulunmuştur (Grafik 4.2.1).

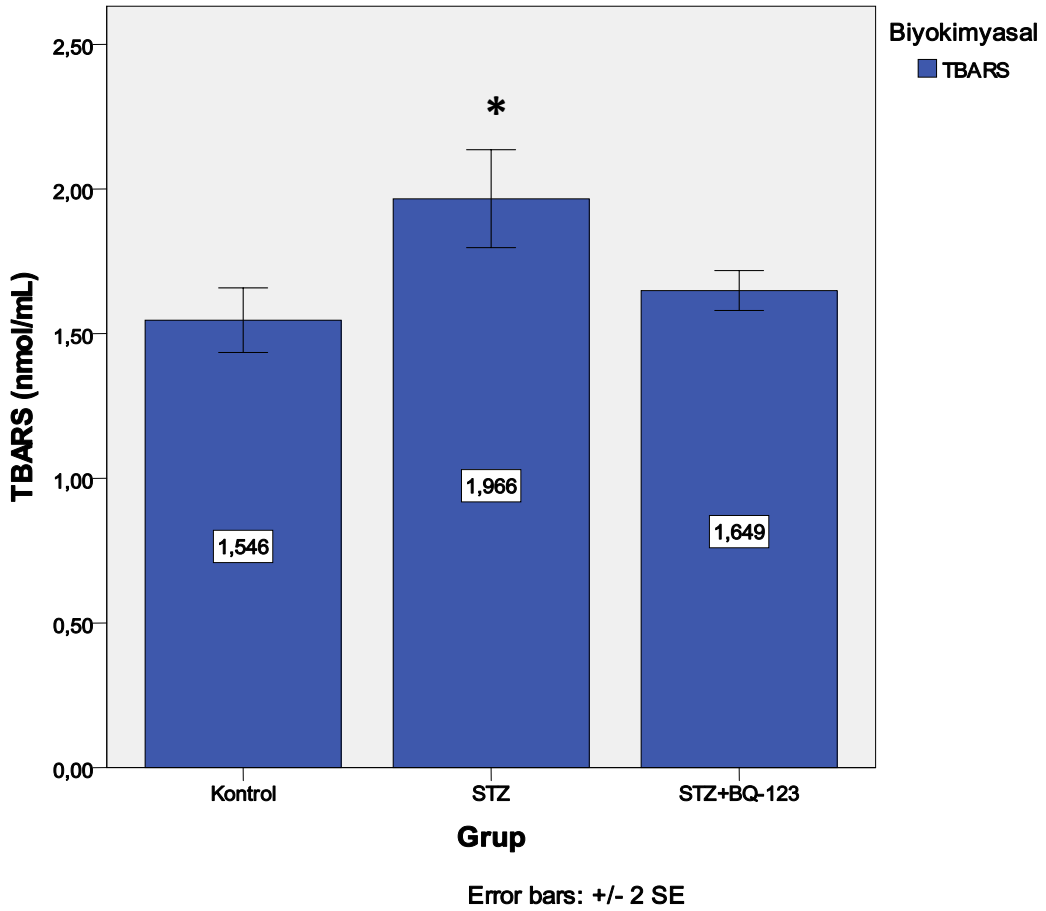
Leptin değerleri gruplara göre incelendiğinde STZ grubunda ve özellikle STZ+BQ123 grubunda, Kontrol grubuna göre azalış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir. STZ ve STZ+BQ-123 grubu arasında da anlamlı fark yoktur ($p=0.055$).



Grafik 4.2.1. Deney gruplarının Leptin düzeyleri (ng/mL).

Deney gruplarındaki sıçanların TBARS düzeyleri Kontrol grubunda ortalama 1.55 ± 0.16 nmol/mL, STZ grubunda ortalama 1.97 ± 0.24 nmol/mL, STZ+BQ-123 grubunda ortalama 1.65 ± 0.10 olarak bulunmuştur (grafik 4.2.2).

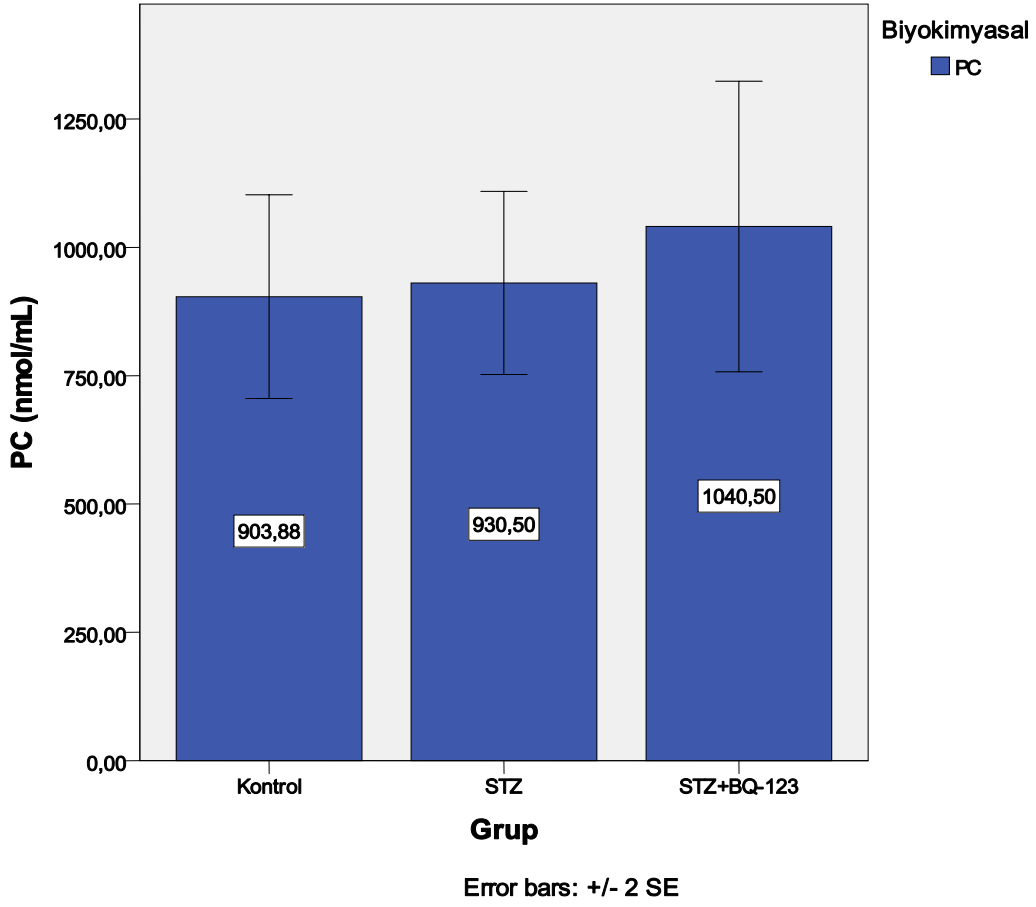
TBARS değerleri gruplara göre incelendiğinde STZ grubunun ortalaması, Kontrol grubunun ($p=0.0001$) ve STZ+BQ-123 grubunun ortalamasından anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.0004$).



Grafik 4.2.2. Deney gruplarının TBARS düzeyleri (nmol/mL). STZ grubu TBARS düzeyleri Kontrol (* $p=0.0001$) ve STZ+BQ-123 (* $p=0.0004$) grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Deney gruplarındaki sıçanların PC düzeylerine bakıldığında, Kontrol grubunda ortalama 903.88 ± 280.45 nmol/mL, STZ grubunda ortalama 930.50 ± 252.09 nmol/mL, STZ+BQ-123 grubunda ortalama 1040.50 ± 400.41 nmol/mL olarak ölçülmüştür (grafik 4.2.3).

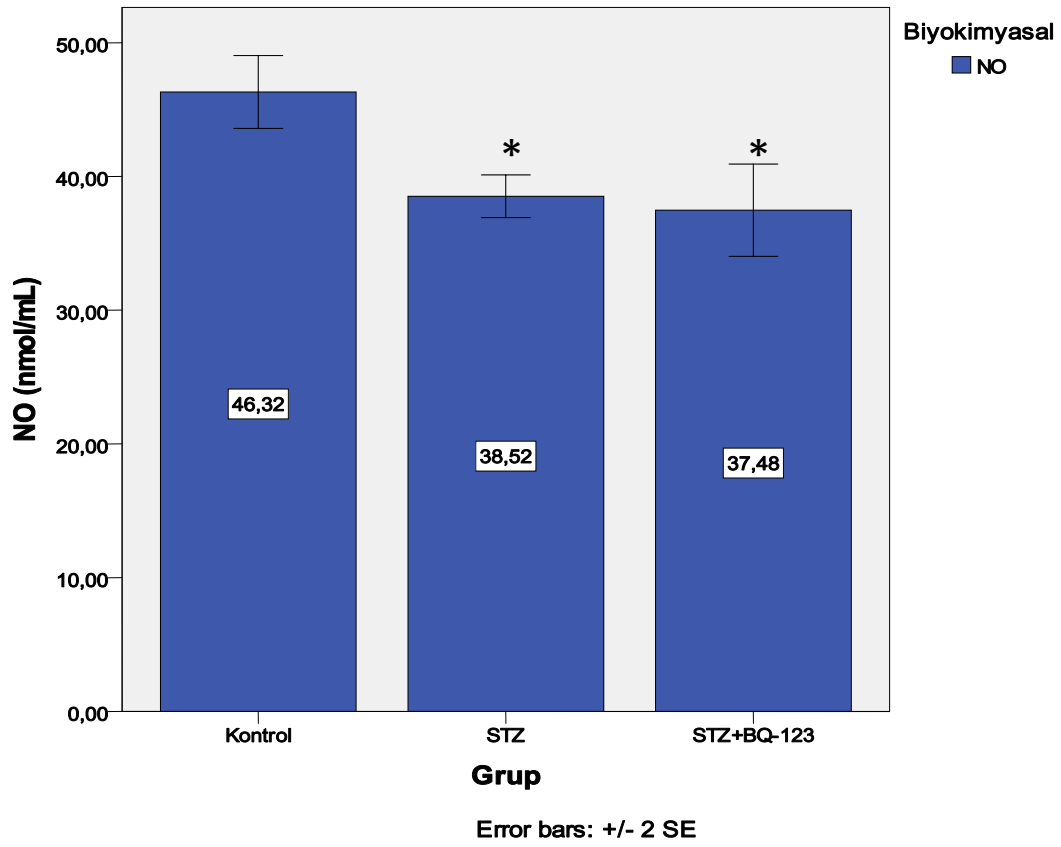
PC düzeyleri gruplara göre incelendiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.665$).



Grafik 4.2.3. Deney gruplarının PC düzeyleri.

Deney gruplarındaki sıçanların NO düzeylerine bakıldığında, Kontrol grubunda ortalama 46.32 ± 3.85 nmol/mL, STZ grubunda 38.52 ± 2.26 nmol/mL, STZ+BQ-123 grubunda ortalama 37.48 ± 4.88 nmol/mL olarak ölçülmüştür (grafik 4.2.4).

STZ grubu ($p= 0.0001$) ve STZ+BQ-123 grubu ($p=0.0001$) NO değerleri Kontrol grubu değerlerine göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur.



Grafik 4.2.4. Deney gruplarının NO düzeyleri.

* $p= 0.0001$, kontrol grubuna göre anlamlı fark vardır.

4.3. Diğer Biyokimyasal Parametreler

Deney gruplarının serum Na⁺, K⁺ ve Cl⁻ konsantrasyon düzeyleri tablo 4.3.1’de verilmiştir.

Tablo 4.3.1. Deney gruplarının serum Na⁺, K⁺ ve Cl⁻ konsantrasyon düzeyleri

Gruplar	Na ⁺ (mmol/L)		K ⁺ (mmol/L)		Cl ⁻ (mmol/L)	
	n	X±SD	n	X±SD	n	X±SD
Kontrol Grubu	8	137.75±3.01	8	5.45±0.64	8	97.69±0.93
STZ Grubu	8	126.75±7.57	8	6.03±1.99	8	84.61±5.38
STZ+BQ-123	8	128.50±12.34	8	5.08±0.97	8	88.12±9.89
p değeri	$\chi^2=8.257$ $p=0.016^*$		F= 1.029 $p=0.375$		$\chi^2=15.986$ $p=0.0001^*$	
Gruplar arası önemli fark (Mann-Whitney-U,)	Mann-Whitney U p 1-2, 2.00 0.001* 1-3, 20.50 0.234 2-3, 23.00 0.382		p= 0.375 (Gruplar arası fark anlamsız)		Mann-Whitney U p 1-2, 0.00 0.0001* 1-3, 0.00 0.0001* 2-3, 21.00 0.279	

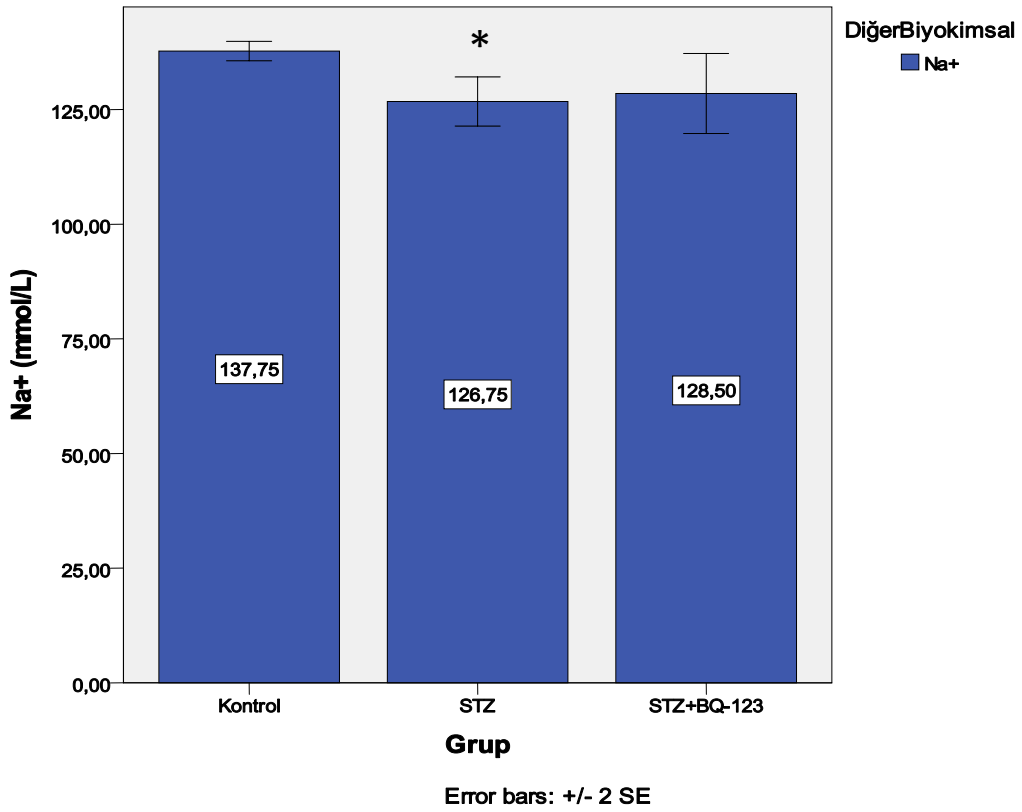
*İstatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

Gruplar= “Kontrol=1”; “STZ=2”; “STZ+BQ-123=3”

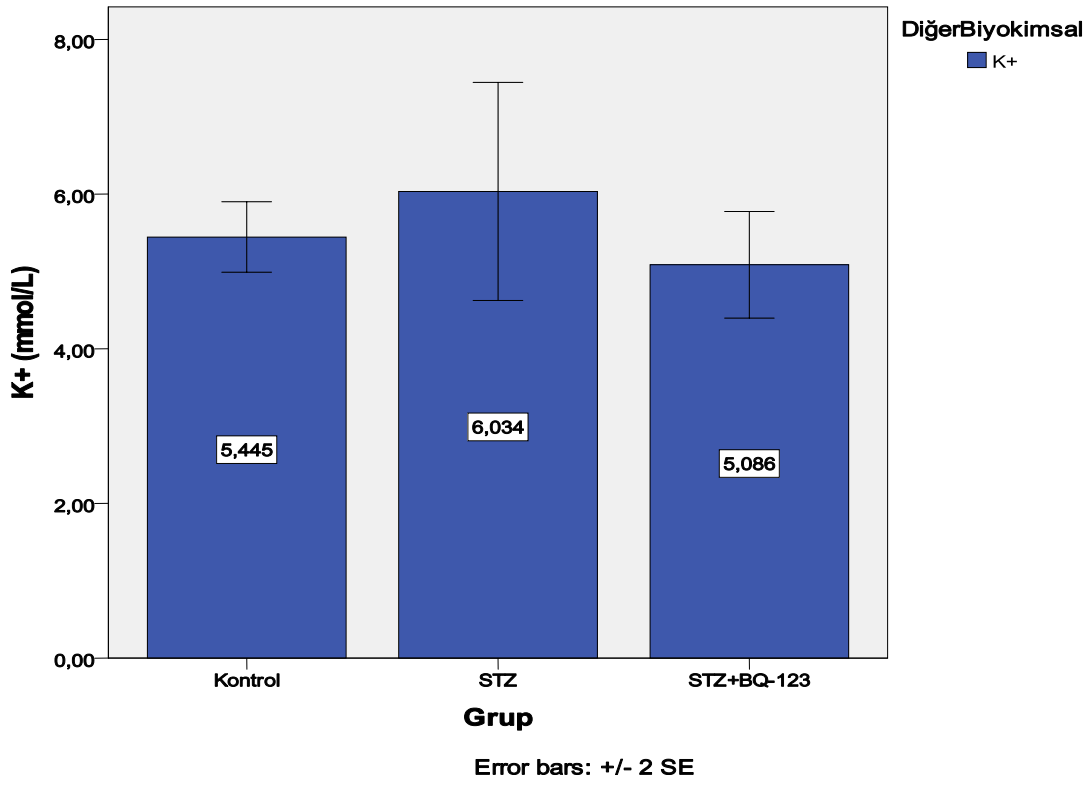
Serum Na⁺ konsantrasyon değerleri Kontrol grubunda 137.75 ± 3.01 mmol/L, STZ grubunda 126.75 ± 7.57 mmol/L, STZ+BQ-123 grubunda 128.50 ± 12.34 mmol/L olarak ölçülmüştür (grafik 4.3.1). STZ grubu Serum Na⁺ konsantrasyon değerleri, Kontrol grubu değerlerine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0.001$). Diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Serum K⁺ konsantrasyon değerleri Kontrol grubunda 5.45±,64 mmol/L, STZ grubunda 6.03 ± 1.99 mmol/L, STZ+BQ-123 grubunda 5.08±0.97 mmol/L olarak ölçülmüştür (Grafik 4.3.2). Serum K⁺ konsantrasyon değerleri gruplar arasında incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.375$).

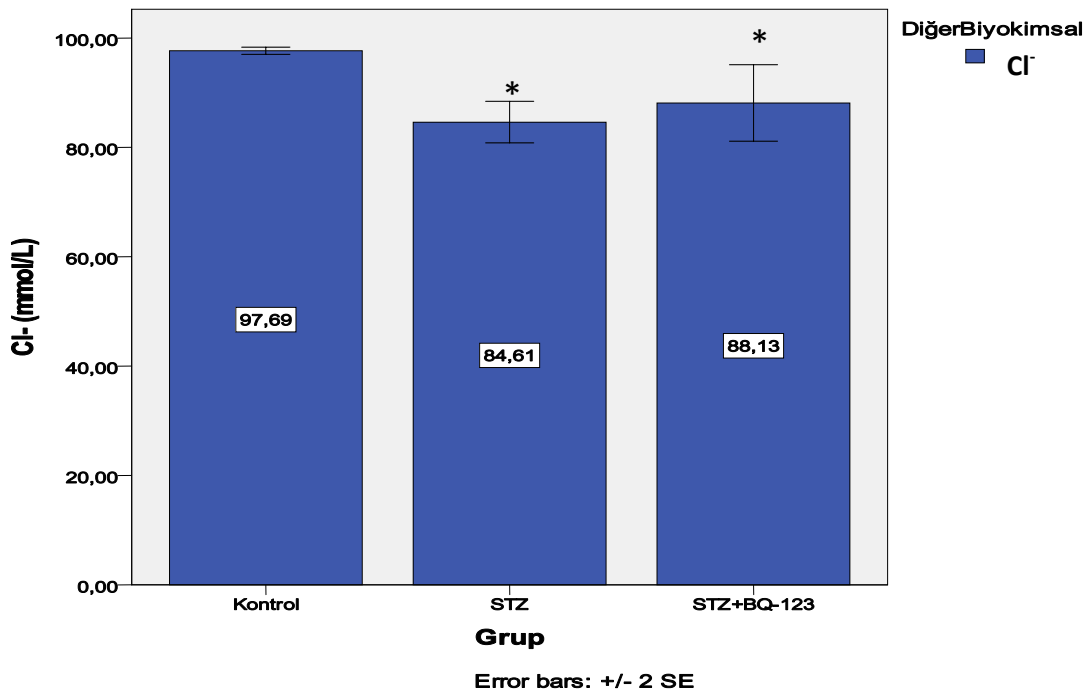
Serum Cl⁻ konsantrasyon düzeyleri Kontrol grubunda 97.69 ± 0.93 mmol/L, STZ grubunda 84.61 ± 5.38 mmol/L, STZ+BQ-123 grubunda 88.12 ± 9.89 mmol/L olarak ölçülmüştür (grafik 4.3.3). Serum Cl⁻ konsantrasyon düzeyleri gruplar arasında incelendiğinde STZ grubu ($p= 0.0001$) ve STZ+BQ-123 grubu ($p= 0.0001$) değerleri Kontrol grubu değerlerine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.



Grafik 4.3.1. Deney gruplarının Na⁺ konsantrasyon düzeyleri
* $p= 0.001$, kontrol grubuna göre anlamlı fark vardır.



Grafik 4.3.2. Deney gruplarının K⁺ konsantrasyon düzeyleri



Grafik 4.3.3. Deney gruplarının Cl⁻ konsantrasyon d
* $p= 0.0001$, kontrol grubuna göre anlamlı fark vardır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, ET_A reseptör antagonisti BQ-123'ün plazma leptin düzeylerine etkileri farklı parametreler ışığında değerlendirilmiştir.

STZ ile oluşturulmuş diyabet, insandaki gibi insüline bağımlı diyabet modeli oluşturmada sık kullanılan bir modeldir. Çalışmamızda STZ ve STZ+BQ-123 grubunun STZ uygulanmasının ardından 72. saatte ölçülen kan glikoz düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede (her ikisi için $p=0.0001$) yüksek olduğu görüldü. Bu bulgumuz diyabet modelinin başarı ile gerçekleştiğini ve 60 mg/kg STZ dozunun yeterli olduğunu desteklemektedir. STZ uygulanmasından sonra diyabet oluşan sıçanlarda deney boyunca 40 gün süreyle polifaji, polidipsi, poliüri ve hiperglisemi gözlemlenmiştir. Diyabetik sıçanlarda gözlemlenen bu bulgular diyabetin klinik bulguları ile uyum göstermiştir.

Bu modelde STZ etkisi ile pankreasta oluşan tahribattan dolayı insülin salınımının azalması nedeniyle görülen hiperglisemiye hipoleptinemi eşlik eder (Havel ve ark., 1998; Sivitz ve ark., 1998). Bilindiği üzere leptin, adipoz dokudaki yağ hücreleri tarafından sentezlenip kana salınır ve kandaki düzeyleri yağ dokusunun miktarı ile doğru orantılıdır (Friedman, 2011).

Leptinin keşfedilmesinden bu yana, diyabette serum leptin seviyesi ile ilgili yapılan araştırmalar, diyabette bu seviyenin düştüğü yönündedir (Zhang ve ark., 1994; Havel ve ark., 1998). 2009 yılında Akkaya ve Çelik'in yapmış olduğu bir çalışmada STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, serum leptin düzeyi kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulunmuştur (Akkaya ve Çelik, 2009). Yine 1998 yılında Sivitz ve ark. ları, STZ ile diyabet oluşturdukları sıçanlarda leptin düzeylerinin belirgin bir

şekilde azaldığını gözlemlemişlerdir (Sivitz ve ark., 1998). Bizim çalışmamızda leptin düzeyleri STZ grubunda kontrol grubuna göre düşmüş olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.055$). Diyabet oluşturulmuş gruplarda leptin düzeylerinde azalmaya rağmen istatistiksel anlamlılık bulmamamızın nedeni, STZ doz ve süresine bağlı olabilir. STZ ile oluşturulmuş diyabette plazma leptin düzeylerinin düşük bulunması, insülin eksikliği, dokulara glikozun yetersiz alımı ve metabolizmasının azalması sonucu yağ dokusunun azalmasından kaynaklandığı ifade edilmektedir (Havel ve ark., 1998). Nitekim STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda belirgin bir ağırlık kaybı gerçekleşmiştir. Deney sonunda STZ grubunda ortalama 17 g, STZ+BQ-123 grubunda ortalama 28 g ağırlık kaybı gerçekleşirken, kontrol grubunda ortalama 55 g ağırlık artışı gerçekleşmiştir. Deney sonunda, STZ ($p=0.0001$) ve STZ+BQ-123 ($p=0.015$) grubundaki sıçanların ağırlıkları, Kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktür.

Endotelin-1, endotel hücrelerinde sentez edilen yegane endotelindir (Inoue ve ark., 1989). Diyabette ET-1'in biyosentezi artmaktadır ve bu nedenle bu peptid vasküler komplikasyonlara neden olmaktadır. Diyabette ET-1 düzeylerinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Örneğin, Makino ve Kamata 1998 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, hiperglisemi oluşumunun yanısıra ET-1 düzeylerinin de anlamlı bir şekilde arttığını bulmuşlardır. (Makino ve Kamata, 1998).

Leptin ve ET-1 arasındaki ilişkiyi, farklı hastalıklar ve sistemler üzerinde değerlendiren bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Xiong ve ark.larının yaptıkları bir çalışmada ET-1'in adiposit kültürlerinde ET_A reseptörü ile leptin üretimini uyardığını bulmuşlardır (Xiong ve ark., 2001). Yine başka bir çalışmada, Quehenberger ve ark.ları endotelial hücrelerde leptinin endotelin-1'i indüklediğini bulmuşlardır

(Quehenberger ve ark., 2002). Bu veriler leptin ile endotelin-1 düzeyleri arasındaki ilişkiye bağlı olarak diyabette artan ET-1 düzeylerinin, plazma leptin düzeylerini de etkileyebileceğini düşündürmektedir. Bu veriler ışığında değerlendirdiğimizde çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı olmasada STZ grubunda azalan leptin düzeylerine göre BQ-123 verdiğimiz sıçanlardaki leptin düzeyleri daha da düşük bulunmuştur. Öyle ise ET-A reseptör antagonisti BQ-123'ün diyabette artan endotelin düzeylerini azaltarak, diyabette azalan leptin düzeylerini daha da azalttığı söylenebilir. Fakat diyabet süresinin daha uzun tutulması, BQ-123 veriliş zamanı leptin düzeylerindeki azalmanın anlamlı bir şekilde saptanmasını sağlayabilir. Farklı doz ve sürelerde yapılacak yeni çalışmalar ile konu daha iyi değerlendirilebilecektir.

Diyabet, kronik metabolik bir bozukluk olduğu gibi aynı zamanda da artmış bir oksidatif stres durumudur. Diyabette artmış serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek, membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır (Memişoğulları ve ark., 2005). Oksidatif stres oksidan oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengenin oksidanlar yönünde bozulması durumudur (Atalay ve ark., 2002).

Yapılan çeşitli çalışmalar, diyabetik hastaların plazma ve dokularında serbest radikallerin arttığını veya antioksidan kapasitenin azaldığını göstermektedir. Diyabette serbest radikallerin oluşturduğu olaylar zincirini hiperglisemi ve glikozun oksidasyonu başlatır ve bunları proteinlerin glikolizasyonu ve oksidatif dejenerasyon takip eder. Normal koşullarda serbest radikaller vücutta bulunan doğal antioksidan enzimler (SOD, GSH-x gibi) tarafından uzaklaştırılmaktadır (Noyan ve ark., 2004).

Serbest oksijen radikallerine bağlı lipid peroksidasyonu hücre hasarının en önemli nedenlerinden biridir. Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından

başlatılan ve zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır (Türk ve ark., 2002).

Serbest oksijen radikalleri (öncelikle süper oksit (O_2^-), hidroksil radikal (OH), nitrik oksit (NO) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi) reaktif oksijen alanlarında aerobik metabolizma sırasında fizyolojik şartlar altında oluşur. Oksijen radikallerinde üretim artmışsa veya hücrel antioksidan savunma sisteminde kusur varsa proteinler, lipidler ve nükleik asitler ile tepkiye girerek hücrede işlem bozukluğuna neden olurlar (Uçgun ve ark., 2005).

Vücutta endojen olarak üretilen TBARS, lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir (Gülen ve ark., 2007) ve yapılan çalışmalar diyabette doku ve plazma TBARS düzeylerinin arttığı yönündedir. Çalışmamızda STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların serumlarında, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan TBARS düzeylerinin, kontrol grubuna göre belirgin düzeyde arttığı bulunmuştur ($p=0.0001$). Diyabetik sıçanlardaki lipid peroksidasyonundaki bu artış, diyabetik sıçanlar ve insanlar üzerinde yapılan diğer çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Türk ve ark.,'larının 2002 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, Tip 2 DM'li hastalarda TBARS düzeylerinin belirgin bir şekilde arttığı bildirilmiştir (Türk ve ark., 2002). Yine Francisko ve ark., larının yaptıkları başka bir çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda plazma TBARS düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Ruperez ve ark., 2008). Jeyashanthi ve ark.,'larının yaptığı diğer bir çalışmada STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanların serum, karaciğer ve böbrek dokularında TBARS düzeylerinde artış belirlenmiştir (Jeyashanthi ve ark., 2010). Bizim çalışmamızda bu verilerle paralellik göstermektedir.

BQ-123 selektif ET_A reseptör antagonistidir ve ET-1 düzeylerini azaltmaktadır (Feger ve ark., 1994). Değişik çalışmalarda BQ-123'ün TBARS düzeylerine etkileri araştırılmış olmasına rağmen, BQ-123'ün diyabette artan TBARS düzeylerine nasıl bir etkisi olduğuna yönelik bir çalışmaya rastlamadık. Erdoğan ve ark.'larının yapmış olduğu bir çalışmada böbrek iskemi ve reperfüzyon hasarında BQ-123'ün, artan TBARS düzeylerini azalttığı bulunmuştur. (Erdoğan ve ark., 2006). Yine Lund ve ark., larının yaptığı başka bir çalışmada BQ-123'ün kardiyak TBARS düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır. 1996 yılında Büyükgebiz ve ark., ları tarafından endotelin reseptör antagonisti BQ-123 ile yapılan çalışmada, BQ-123'ün lipid ve protein oksidasyon ürünlerinin oluşumunu engellediği bildirilmiştir (Büyükgebiz ve ark., 1996). Bizim sonuçlarımız ise bu çalışmalar ile paralellik göstermektedir. BQ-123 ile tedavi ettiğimiz grupta TBARS düzeyleri STZ grubuna göre anlamlı derecede azalma göstermiştir ($p=0.004$).

Günümüzde, diyabette görülen oksidatif stres artışının altında yatan etkileri açıklamaya çalışan birçok araştırma yapılmıştır. Bu çalışmalardan biri Gülen ve ark.'larının, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda artmış oksidatif stresin azalan leptin düzeyleri ile arasındaki ilişkiyi araştırmaya yönelik yapmış oldukları çalışmadır. Yaptıkları çalışmada hipoleptinemi görülen diyabetik sıçanlara dışarıdan leptin uygulanmasının oksidatif stresin bir göstergesi olan TBARS düzeylerini azalttığı bulunmuştur (Gülen ve ark., 2007). Öyle ise diyabette azalan leptin düzeyleri de TBARS artışına neden olabilmektedir. Çalışmamızda STZ grubunda leptin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede olmasa da kısmen düşük bulunmuştur. Bununla birlikte STZ grubunda TBARS düzeyleri kontrole göre anlamlı derecede yüksektir. BQ-123 verdiğimiz gruptaki sıçanlarda ise TBARS düzeylerinde belirgin bir şekilde azalma

görülmüştür ($p= 0.004$). Oysaki BQ-123 grubunda leptin seviyeleri STZ grubuna göre daha düşüktü ve TBARS düzeylerinin daha da artması gerekirdi. Bu sonuçtan yola çıkarak diyabette artan TBARS düzeylerinin leptin düzeylerindeki azalma ile alakalı değil farklı mekanizmalar ile alakalı olduğu söylenebilir, fakat bunun farklı çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir. Çalışmamızda BQ-123 verilen grupta TBARS düzeyleri kontrole yakın şekilde düşmüştür. Diyabette artan serbest radikaller oksidatif strese neden olabilir ve artmış plazma lipid peroksidasyonu diyabette ateroskleroz ve vasküler komplikasyonların gelişmesinde önemli faktörlerden biri olabilir. Bu nedenle diyabette artan TBARS düzeylerini kontrol altında tutmak önem kazanmaktadır. Çalışmamızda BQ-123'ün diyabette artan TBARS düzeylerini azaltarak olumlu etki gösterdiği söylenebilir.

Proteinler oksidasyonlara maruz kaldıklarında birçok kovalent değişikliğe uğrar. Bu değişikliklerden bazıları serbest radikallerin protein molekülleri üzerine direkt etkileri sonucu oluşabildiği gibi, bazıları da oksidasyon yan ürünlerinin proteinlere kovalent olarak bağlanması sonucu meydana gelir (Çakatay ve ark., 2004).

Diyabetli hastalarda oksidatif hasardan kaynaklanan belirgin bir protein oksidasyonunun bulunduğu bildirilmektedir (Özgün ve ark., 2010). Diyabette oksidan/antioksidan oranındaki dengesizliğe bağlı olarak görülen sistemik oksidatif stres, protein karbonil düzeylerinde artışa yol açmaktadır ve karbonil stresin artışında; hiperglisemi, hiperlipidemi, oksidatif stres veya reaktif karbonil türevlerinin detoksifikasyonundaki azalmanın etkili olabileceği bildirilmektedir (Dalle-Donne ve ark., 2003.).

Son yıllarda diyabetteki mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ile oksidatif stres arasındaki ilişki çeşitli araştırmacıların makalelerinde yer almaya başlamıştır. STZ ile

oluşturulmuş diyabette mitokondriyal protein oksidasyonunun arttığı bildirilmiştir (Kayalı ve ark., 2004). Cumaoğlu ve ark. larının yaptığı bir çalışmada, STZ ile diyabet geliştirilmiş sıçanlarda, 6 ay sonunda doku PC düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır (Cumaoğlu ve ark., 2011). Sefi ve ark.'larının STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada diyabetik sıçanlardan 30. günün sonunda aldıkları doku örneklerinde PC düzeylerinin arttığı saptanmıştır (Sefi ve ark., 2011). Çalışmamızda gruplar arasında serum PC değerleri yönünden anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.665$). Diyabet süresinin daha uzun tutulması ve doku örnekleri üzerinde çalışılması PC düzeylerindeki değişimi göstermesi açısından yardımcı olabilir. Çalışmamızda sadece serum PC düzeylerine baktığımız için 40 günlük süreçte protein hasarı serum düzeylerine yansımamış olabilir.

NO, nitrik oksit sentetaz tarafından L-argininden enzimatik yolla üretilir. NO, kan kaynaklı maddelerde ve stres durumunda endotelial hücrelerde yapısal olarak üretilir. Ayrıca sinir hücrelerinde üretilmekte olup sinir uçlarında nörotransmitter ve nöromodülör görevi görür. NO, sitokinler tarafından da birçok dokuda enzim indüksiyonu yolu ile üretilir. Vazodilatör etkiye sahip bir serbest radikal formu bulunan NO, çeşitli biyolojik sistemlerde dokular ve hücreler üzerinde ikili etki oluşturur (Amin ve ark.,2011).

DM'de NO biyoaktivitesinin azaldığı, bazal NO üretiminin düştüğü NOS'un substratı olan L-arginin azaldığı belirlenmiştir ve bazı araştırmacılar, diyabetle L-arginin' in plazmadaki seviyesinin düşmesiyle NO üretiminin zarar gördüğüne işaret etmişlerdir (Kino ve ark., 2004).

Çalışmamızda serum NO düzeylerine bakıldığında kontrol grubu değerleri ile STZ grubu değerleri arasında anlamlı fark vardır ($p=0.0001$). Diyabetik sıçanların NO

düzelelerinde belirgin bir azalma meydana gelmiştir. Yapılan çalışmalar diyabette NO düzeylerinin azaldığı yönündedir. Örneğin Yu ve ark.'larının yaptıkları çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanların serebellumlarında nNOS aktivitesinin kontrollerden daha az olduğu bulunmuştur (Yu ve ark., 1994). Zho ve ark.'larının yaptıkları diğer bir çalışmada STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların aortalarında eNOS'un ekspresyonunda azalma olduğu saptanmıştır (Zho ve ark., 2011). Tessari ve ark. larının diyabetik hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada, diyabetik hastaların kanlarında NO konsantrasyonlarının belirgin şekilde azaldığı rapor edilmiştir (Tessari ve ark., 2010). Bizim çalışmamız ise bu verilerle paralellik göstermektedir. DM' da meydana gelen kronik hiperglisemi sırasında oluşumu hızlanan ileri glikozilasyon ürünleri tarafından NO'in hem vazodilatasyon oluşturucu hem de antiproliferatif etkilerinin önlenmesi diyabet komplikasyonlarının gelişmesinde önemli rol almaktadır. Ayrıca yağ asidi bozuklukları ile artan serbest radikaller, polyol yolunda kullanım ile azalmış NADPH, kalınlaşmış bazal membranlar, artmış PKC aktivitesi dolaşımda artmış ACE konsantrasyonları diyabetin seyri sırasında NO oluşumunu yada fonksiyonunu baskılayarak gelişen komplikasyonlarda rol oynarlar (Kocatürk, 1996). NO'in azalmış seviyeleri, vasküler harabiyetlere, platelet-vasküler duvar interaksyonunu kolaylaştırarak ve dolaşımdaki monositlerin endotel yüzeyine adezyonuna sebep olarak da katkıda bulunmaktadır (Kocatürk ve ark., 1996). Bu yüzden NO düzeylerinin fizyolojik sınırlarda tutulması önemlidir. Çalışmamızda STZ ve STZ+BQ-123 grubundaki sıçanların NO düzeyleri kontrole göre belirgin şekilde azalmış ve BQ-123'ün NO düzeyini artırıcı bir etkisi saptanmamıştır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda diyabetin sıçanlarda bir çok dokuda, eritrosit membranında ve hastaların sinir hücrelerinde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde azalmaya

neden olduğu gösterilmiştir (Jhonston ve ark., 1989). Gürbilek ve ark.'larının diyabetik hastalar üzerinde yapmış oldukları çalışmada diyabetli hastalarda eritrosit membranı Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi düşük bulunmuştur (Gürbilek ve ark., 2004).

Na^+/K^+ -ATPaz hücre içinde düşük Na^+ ve yüksek K^+ konsantrasyonunun sağlanmasında ve hücre hemostazının sürdürülmesinde önemli rol oynamaktadır (Djemli ve ark., 2000). Na^+/K^+ -ATPaz pompası, Na^+ ve K^+ iyonlarının konsantrasyonlarını kontrol ederek ekstrasellüler sıvı hacminin korunmasını, hücre membranının her iki tarafındaki iyon dengesinin düzenlenmesini ve kan basıncının ayarlanmasını sağlarken kendisinde birçok molekülün kontrolü altındadır. Bu maddeler dopamin, aldesteron, angiotensin II ve NO'dir (Beltowski ve ark., 2003).

Diyabette Na^+/K^+ ATPaz enzim aktivitesindeki bozulma hücre içi ve hücre dışı iyon dengesini bozmakta ve hücre içinde K^+ düzeylerinin düşmesine yol açmaktadır. Diyabette K^+ iyonları hücre içinden ekstrasellüler sıvıya doğru kayacağından dolayı ekstrasellüler sıvıdaki K^+ iyonlarının artması beklenir. K^+ iyonlarının ekstrasellüler sıvıya doğru kaymasının nedeni diyabette görülen insülin yetersizliği veya rezistansıdır (Ramesh ve ark., 2007). İnsülin K^+ iyonlarının hücre içine geçmesini kontrol eden bir hormondur. Çünkü insülin, Na^+/K^+ ATPaz enzim aktivitesini ve miktarını düzenleyici hormanlardan biridir. Diyabetik hayvanlarda Na^+/K^+ ATPaz enzim aktivitesinin düştüğü ve insülin uygulanması ile bu aktivitenin normale döndüğü bildirilmiştir (Ramesh ve ark., 2007). Dolayısı ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda pankreasın hasara uğraması ile birlikte insülin düzeyleri düşeceğinden dolayı Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinde bundan olumsuz etkilenecektir. Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı olmasada diyabetik sıçanların serum K^+ konsantrasyon düzeyleri kontrole göre yüksek bulunmuştur ($p=0.375$) Serum Na^+ konsantrasyon düzeyleri ise diyabetik sıçanlarda

kontrole göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,001$). Diyabette kandaki glikoz düzeyinin artması sonucunda hücrenin enerji üretim metabolizmasının bir basamağı olan polyol yolağında meydana gelen bozukluğun Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinde azalmaya yol açtığı bilinmektedir (Greene ve ark., 1992). Bu ise hücre içi Na^+ konsantrasyonunu artıracağından dolayı hücre dışında Na^+ iyonları azalacaktır. Nitekim çalışmamızda diyabetik sıçanların serum Na^+ konsantrasyon düzeylerinde belirgin bir azalma meydana gelmiştir. Hiperglisemi nedeniyle serum osmolaritesi artarak hücre içinden intrasellüler alana serbest suyun hareketi serumda dilüsyona yol açarak ölçülen Na^+ konsantrasyon düzeylerinin düşük çıkmasına neden olmaktadır. Cl^- intersiyel sıvı-kan plazmadaki başlıca anyonları oluşturur. Plazmada 100 mEq/lit, intersitisyel sıvıda ise 110 mEq/lit civarındadır. Açlık halinde, kusmalarda, üremide, ileri derecede diyarelerde ve ağır diyabette Cl^- düzeyleri düşmektedir (Music, 2004). Bizim çalışmamızda da serum Cl^- konsantrasyon düzeyleri diyabetik sıçanlarda kontrollere göre daha düşük bulunmuştur. Cl^- özellikle plazmada ve hücrelerarası sıvıda ozmatik basıncın sağlanmasında görev alır bu nedenle diyabette düşen Cl^- seviyelerinin dengede tutulması önemlidir.

Diyabette oksidatif stresin eritrosit membranında lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve zar lipid içeriğinde değişimlere sebep olduğu, eritrosit membranında ortaya çıkan bu değişiklikler sonucunda da eritrositlerde Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinde ve membran akışkanlığında azalma olduğu ileri sürülmüştür (Gürbilek ve ark., 2004). Bizimde çalışmamızda diyabetik ratlarda lipid peroksidasyonunu göstergesi olan TBARS düzeylerinde bir artış meydana gelmiştir. Bununla birlikte diyabetik sıçanların serumlarında Na^+ konsantrasyon düzeyleri azalırken K^+ konsantrasyon düzeyleri artmıştır. Buradan diyabetik sıçanların Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinin bozulduğu ve lipid peroksidasyonunda bunda katkısı olabileceği söylenebilir.

Yapılan çalışmalar deneysel diyabette çeşitli hücrelerin Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinde bir defekt gözlenmesi, aktif katyon transportunun diyabetin kronik komplikasyonları olan nöropati, nefropati ve retinopatide önemli rolü olduğu görüşünü desteklemektedir (Muriel ve ark., 2000). Azalmış eritrosit membran Na^+/K^+ ATPaz aktivitesi özellikle diyabetik nöropatinin güçlü bir belirteci olarak düşünülmektedir (Kızıltunç ve ark., 1997). Raccach ve ark.larının Tip 1 diyabet vakası üzerinde yaptıkları çalışmada, eritrosit membranı Na^+/K^+ ATPaz aktivitesindeki düşüşü periferik nöropatinin oluşması ile ilişkilendirmişlerdir (Raccach ve ark., 1996). Dolayısıyla diyabette Na^+ ve K^+ iyonlarının kontrolü ve dengelenmesi önem arz etmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamız göstermektedir ki, STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların leptin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da düşmektedir. BQ-123 tedavisi diyabette azalan leptin düzeylerini istatistiksel anlamlı olmasa da, daha da düşürmüştür. Bu sonuç BQ-123'ün verilme zamanı ve verildiği doza bağlı olabilir. STZ ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde PC, K^+ düzeylerinde anlamlı bir fark oluşmazken Na^+ ve Cl^- düzeylerinde belirgin bir azalma meydana gelmiştir. BQ-123 tedavisinin ise bu azalmaya herhangi bir etkisi bulunmamıştır. Diyabette oksidatif hasarın arttığı bilinmektedir ve oksidatif hasarın önemli bir göstergesi olan TBARS düzeylerinde belirgin bir artış meydana gelmiştir. BQ-123 ile tedavi ettiğimiz gruptaki sıçanların TBARS düzeyleri belirgin bir şekilde azalmaya neden olarak olumlu etkisi olmuştur. Deneysel diyabette, bir ET_A reseptör antagonisti olan BQ-123'ün etkileri ve Leptin ile olan olası ilişkisi, farklı doz ve uygulama zamanları ile yapılacak çalışmalar ile daha kesin bir şekilde ortaya konmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Farklı ET reseptör antagonistleri de bu bağlamda uygulanabilir. Hiç şüphesiz otokrin ve parakrin faktörler arasındaki çok kompleks ilişkiler ve bunların fizyopatolojik koşullardaki değişen şartlar

içerisindeki etkileşimleri daha çok araştırmaya ihtiyaç duyulacak bir konudur. Bu değişimlerin fizyopatolojik koşullarda homeostazise olan katkıları da incelenmeye ve araştırılmaya değecek, ancak oldukça komplikedir.

KAYNAKLAR

- Ahima RS, Osei SY.** Leptin signaling. *Physiol Behav.* 2004; 81(2): 223-41.
- Akkaya H, Çelik S.** Ratlarda diyabet öncesi ve sonrası oksidan-antioksidan durum. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi. 2010; 24(1): 05-10.
- Alarcan- Aquilar FJ, Jimenz-Estrada M, Reyes-Chilpa R, Gonzales-Paredes B, Contreas Weber CC, Roman-Ramos R.** Hypoglycemic activity of root water decoction, sesquiterpnoids, an one polysaccharide fraction from psacalium decompositum in mice. *J Ethnopharmacol.* 2000; 69: 207-15.
- Altuntaş Y.** Diabetes mellitusun tanımı, tanısı ve sınıflaması. Ed. M. Yenigün, M. Altuntaş. Her yönü ile diabetes mellitus. Nobel Tıp Kitapevi. İstanbul. 2001 s:51-62.
- American Diabetes Association (ADA).** Clinical Practice Recommendations. *Diabetes Care.* 2005; 28(1): 51-79.
- Amin KA, Awad EM, Nagy MA.** Effects of panax quinquefolium on Streptozotocin-induced diabetic rats: role of C-peptide, nitric oxide and oxidative stress. *Int J Clin Exp Med.* 2011; 4(2): 136-147.
- Arslan M.** Diabetes mellitusta tanı ve sınıflandırma. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S (editörler). *Temel İç Hastalıkları.* 2. Baskı, Ankara, Öncü Basımevi. 2005: 2279-2295.
- Atalay M, Laaksonen DE.** Diabetes oxidative stres and physical exercise. *Journal of Sports Science and Medicine.* 2002; 1: 1-14.
- Aughsteen AA.** An ultrastructural study on the effect of streptozotocin on the islets of langerhans in mice. *J Electron Microse.* 2000; 49(5): 681-90.
- Auwerx J, Staels B.** Leptin. *Lancet.* 1998; 351: 737-42.

- Barton M, Yanagisawa M.** Endothelin: 20 years from discovery to therapy. *Can J Physiol Pharmacol.* 2008; 86(8): 485-97.
- Başaran A.** Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı, Güneş & Nobel Tıp Kitapevleri, genişletilmiş 7. Baskı.
- Başkal N.** Diabetes Mellitus'un sınıflandırılması. Erdoğan G. (editör) Koloğlu. *Endokrinoloji Temel ve Klinik.* 2. Baskı, Ankara: MN Medical & Nobel. 2005: 342-348.
- Baykal Y, Pay S, Özet G, Ünal T, Özdemir Ç, Özet A, Kocabalkan F.** Endotelin. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 1996; 16: 8-12.
- Beckman JA, Creager MA, Libby P.** Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA.* 2002; 287 (19): 2593.
- Beltowski J, Marciniak G, Gorny D.** Regulation of renal Na⁺/K⁺ ATPase and oubain-sensitive H, K ATPase. *By the Acta Bio Polonica.* 2003; 50: 103-114.
- Bell RH, Hye RJ.** Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology. *Journal of Surgical Research.* 1983; 35: 433-460.
- Bennett PH, Knowler WC.** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and glucose homeostasis. Khan CR, Weir GC, King GI, Jacobson AM, Moses AC, Smith RC (editors). *Joslin' s Diabetes Mellitus.* 14th ed. Boston: Lippincott William and Wilkins. 2005: 333-339.
- Benwahhoud M, Jouad H, Eddouks M, Lyoussi B.** Hypoglycemic effect of suaeda fruticosa in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Rethnopharmacol.* 2001; 76: 35-8.

- Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA.** Fizyoloji. 5. Baskı. Çeviri: Türk Fizyolojik Bilimler Derneği. Güneş Tıp Kitapevleri. 2008. ISBN: 978-9755-277-165-9.
- Bhogavan NV.** Medical Biochemistry, Harcourt Academic Press, 4. Edition, 2001, 197-202 p.
- Bloch KD, Eddy RL, Shows TB, Quertermous T.** cDNA cloning and chromosomal assignment of the gene encoding endothelin 3. J Biol Chem. 1989;264:(8)156-61.
- Boden G, Chen X, Mozolli M, Ryan I.** Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. J Clin Endocrinol Metab. 1996; 81: 3419-23.
- Bolkent S, Yanardağ R, Tabakoğlu OA, Özsoy SO.** Effects of chard (*Beta vulgaris* L. Var. Cicla) extract on pancreatic β cells in streptozotocin-diabetes rats: a morphological and biochemical study. J Ethnopharmacol 2000; 73(1-2): 251-9.
- Bonggwan S, Oemar BS, Siebenmann R, Segesser L, Lüscher TF.** Both ET_A and ET_B receptors mediate contraction to endothelin-1 in human blood vessels. Circulation. 1994; 89: 1203-1208.
- Boquist L.** Alloxan diabetogenicity: determinants of potentiation, protection and β -cell selectivity. Diabet Metab. 1989; 15(1): 23-9.
- Brabant G, Horn R, Mühlen A, Mayr B, Wurster U, Heindenreich F, Schnabel D, Gruters-Kieslich A, Zimmermann-Belsing T, Feldt-Rasmussen U.** Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation. Diabetologia. 2000; 438-442.
- Bucala R, Makita Z, Koschinsky T.** Lipid advanced glycosylation: pathway for lipid oxidation in vivo. Proc Natl Acad Sci USA. 1993; 90: 6434-8.

- Buchanan TA, Xiang AH.** Gestasyonel diabetes mellitus. *J Klin Invest.* 2005; 115(3): 485-91.
- Büyükgebiz O, Aktan AO, Haklar G, Yalçın AS, Yeğen C, Yalın R, Ercan ZS.** BQ-123, a specific endothelin (ETA) receptor antagonist, prevents ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation. *Trnaspl Int.* 1996; 9(3): 201-7.
- Cardinal JW, Margison GP, Mynatt KJ, Yates AP, Cameron DP, Elder RH.** Increased susceptibility to streptozotocin-induced beta cells apoptosis and delayed- deficient mice. *Mall Cell Biol* 2001; 21(16): 5605-13.
- Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV.** Leptin: The role of an obesity gene. *Diabetes.* 1996; 45: 1455-62.
- Chan JC, Cockram CS, Critchley JA.** Drug-induced disorders of glucose metabolism. Mechanisms and management. *Drug Saf.* 1996; 15(12): 135-57.
- Chang AY, Perry CS.** Acid glycohydrolase in chinese hamster with spontaneous diabetes. IV. Diabetes-and line- dependent variation in plasma enzyme activity. *Diabetologia.* 1978; 15: 423-9.
- Chinookoswong N, Wang JL.** Leptin restores euglycemia and normalizes glucose turnover in insulin-deficient diabetes in the rat. *Diabetes.* 1999; 48(7): 1487-92.
- Claus CR.** Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharmacological Review.* 1970; 22(4): 485-519.
- Craighead JE, Mc Lane MF.** Diabetes Mellitus induction in mice by encephalomyocarditis virus. *Science.* 1986; 162: 913-914.
- Considine RV, Sinha MK, Heinman ML.** Serum immunoreactive leptin concentrations in normal weight and obese hummans. *New England J Med.* 1996; 334:292.

- Cortas, NK, Wakid NW.** Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem.* 1990; 36(8 Pt 1):1440-3.
- Cumaoğlu A, Ozansoy G, Irat AM, Arıcıoğlu A, Karasu Ç, Arı N.** Effect of long term, non cholesterol lowering dose of fluvastatin treatment on oxidative stres in brain and peripheral tissues of streptozotocin-diabetic rats. *European Journal of Pharmacology.* 2011; 654: 80-85.
- Çakatay U, Kayalı R.** Protein oksidasyonunun klinik önemi. *Cerrahpaşa Dergisi.* 2004; 35: 140-149.
- Dalle- Done I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A.** Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stres. *Clin Chim Acta.* 2003; 329: 23-28.
- Daniel P, Denis G, Baskın D, Michael WS.** Leptin and insulin action in the central nervous system. *Nutr Rev.* 2002; 60: 20-29
- Deniz G, Saygı Ş.** İnsülin, leptin ve diabet. *T Klin Tıp Bilimleri.* 2003; 23: 170-5.
- Derubertis FR, Craven PA.** Activatin of protein kinase C in glomerular cells in diabetes. *Diabetes.* 1994; 43: 1.
- Djemli SA, Gallice P, Coste T, Jannoot MF, Tsimaratos M, Raccah D, Vague P.** The effects en-vivo and in vitro of insulin and C-peptide on Na⁺/K⁺ Adenosine trihosphatase activity in red blood cell membranes of Type-1 diabetic patients. *Metabolism.* 2000; 49(7): 868-872.
- Dinçer S.** Leptin ve Oksidatif Stres. Çocuk ve Ergen Obezite Derneği II. Leptin Kongresi. 2004. Ankara. 56-58.
- Dunger DB, Sperling MA, Acerini CL, Bohn DJ, Danemon D, Danne TPA, Glase NS, Hanas R, Hintz RL, Levitsky LL, Savaga MO, Tasker RJ, Wolfsdorf JI.**

ESPE/WPES consensus statement on diabetic ketoacidosis in children and adolescents. Arch Dis Child. 2004; 89: 188-194.

Ejrnaes M, Von Errath MG, Christen U. Cure of chronic viral infection and virus-induced type 1 diabetes by neutralizing antibodies. Clin Dev Immunol. 2006; 13: 67-77.

Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal, Baybaş S. Migrenli hastalarda oksidatif stresin göstergesi olarak lipid peroksidasyonunun incelenmesi. Düşünen Adam; 2005, 18(3):129-135.

Erdoğan H, Fadılhoğlu E, Emre MH. Protection from renal ischemia reperfusion injury by an endothelin-A receptor antagonist BQ-123 in relation to nitric oxide production. Toxicology. 2006: 219-228.

Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2003; 26(1): 5-20.

Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. J Leukoc Biol. 2000; 68(4): 437-46.

Feger GI, Schilling L, Ehrenreich H, Wahl M. Endothelin-Induced Contraction and Relaxation of Rat Isolated Basilar Artery: Effect of BQ-123. Journal of Serebral Blood Flow & Metabolism. 1994; 14: 845-852.

Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Löllmann B, Lowell BB, Flier JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. 1995; 1: 1311-4.

Friedman JM. Leptin and regulation of body weigh. Keio J Med. 2011; 60: 1-9.

- Frühbeck G.** Pivotal of nitric oxide in the control of blood pressure after leptin administration. *Diabetes*. 1999; 48: 903-908.
- Gandhi CR, Berkowitz DE, Watkins WD.** Endothelins. *Anesthesiology*. 1994; 80: 892-905.
- Gong DW, Bi S, Pratley RE, Weintraub BD.** Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene. *J Biol Chem*. 1996; 271(8): 3971-4.
- Gottlieb PA, Rossini AA, Mordes JP.** Approaches to prevention and treatment of IDDM in animal models. *Diabetes Care*. 1988; 29: 29-36.
- Greene DA, Sima AA, Stevens MJ, Feldman EL, Lattimen SA.** Complications: neuropathy, pathogenetic considerations. *Diabetes Care*. 1992; 15: 1902-1925.
- Guyton AC, Hall JC.** *Tıbbi Fizyoloji Kitabı*. 11. Basım. Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Hayrünisa Çavuşoğlu, Prof. Dr. Berrak Çağlayan Yener. Nobel Tıp Kitapevleri. 2007. p: 972-973.
- Gülen Ş, Dinçer S.** Effects of leptin on oxidative stress in healthy and Streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem*. 2007; 302: 59-65.
- Gültekin N, Yıldırım A, Özbayrakçı S, Küçüköğlü S, Mutlu H.** Endotelin Sistemi. *T Klin Kardiyoloji*. 1994; 7: 234-238.
- Gültürk S, Demirkazık A.** Leptin ve diyabet. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2007; 29(1): 35-40.
- Güray A, Samancı N, Ovalı F, Dağoğlu T.** Nitrik oksit: Fizyolojisi ve Klinik Önemi. *T Klin J Med Sci*. 1997; 17: 115-19.
- Gürbilek M, Dağlar C, Aköz M, Topçu C.** Diabetes Mellituslu hastalarda hastalık süresinin eritrosit membranı Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi, lipid

peroksidasyonu ve DHEA(S), glikoz, lipid düzeyleri üzerine etkisi. Türk Biyokimya Dergisi. 2004; 29(3): 237-247.

Hass LB. Pathophysiology of diabetes mellitus. Nurse Pract Forum. 1998; 9(2): 42-45.

Hatemi H. Diabetes Mellitus. Yüce Gazetecilik ve Matbaacılık A.Ş. Tıp Kitapları Dizisi. 1988:84.

Havel PJ, Uriu-Hare JY, Liu T, Stanhope KL, Stern JS, Keen JL, Ahren B. Marked and rapid decrease of circulating leptin in streptozotocin diabetic rats: reversal by insulin. Am J Physiol. 1998; 274: 1482-1491.

Hekimoğlu A. Leptin ve fizyopatolojik olaylardaki rolü. Dicle Tıp Dergisi. 2006; 33(4): 259-267.

Herr RR, Eble TE, Bergy ME, Jahnke HK. Isolation and characterization of streptozotocin. Antibiotics Annual. 1960; 7: 236-240.

Hinz M, Pfeiffer EF. The mechanism of streptozotocin action on Mouse islets of langerhans. Diabetes. 1974; 23(1): 373.

Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME. The biology of leptin: A review. J Anim Sci. 1998; 76: 1405-1420.

Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Bynrs RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proc Natl Acad Sci. USA. 1987; 84: 9265-9.

Imaeda A, Kaneko T, Aoki T, Kondo Y, Nagase H. DNA damage and the effect of antioxidants in streptozotocin-treated mice. Ood Chem Toxicol. 2002; 40(7): 979-987.

Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K, Masaki T. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct

isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1998; 86: 2863-7.

Ishii S, Kamegai J, Vtamura H, Shimizu T, Sugihara H, Okawa S. Role of ghrelin in streptozotocin-induced diabetic hyperphagia. *Endocrinology.* 2002; 143(12): 4934-7.

ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2006-2007. *Pediatric Diabetes,* 2006; 7: 343-351.

İrer SV, Alper G. Deneysel diyabet modelleri. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi.* 2004; 2(3):127-36.

Jeyashanthi N, Ashok V. Anti-Oksidative effects of *Cassia auriculata* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Ind J Clin Biochem.* 2010; 25(4): 429-434.

Jhonston CA, Yamada H, Mendelson FA. Comparative studies of tissue inhibition by angiotensin converting enzyme. *J Hypertens.* 1989; 7(5): 11-16.

Juan JJ, Chuang TY, Lien CC, Lin YJ, Huang SW, Kwok CF, Ho LT. Leptin increases endothelin type A receptor levels in vascular smooth muscle cells. *AM J Physiol Endocrinol Metab.* 2008; 294(3): 481-7.

Jun HS, Yoon JW. The role of viruses in type 1 diabetes: two distinct cellular and molecular pathogenic mechanisms of virus induced diabetes in animals. *Diabetologia.* 2001; 44(3): 271-85.

Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL, Friedman JM, Charron MJ. Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. *Nature.* 1997; 389: 374-7.

- Kanie N, Kamata K.** Effects of chronic administration of the novel endothelin antagonist J-104132 on endothelial dysfunction in Streptozotocin-induced diabetic rat. *British Journal of Pharmacology*. 2002; 135: 1935-1942.
- Kapucu A.** Normal ve diyabetik sıçanlarda leptin uygulamasının testis üzerine etkisi ve nitrik oksit (NO) ile olan ilişkisi. Yüksek Lisans Tezi. 2006.
- Kayali R, Cakatay U, Telci A, Akçay T, Sivas A, Altuğ T.** Decrease in mitochondrial oxidative protein damage parameters in the Streptozotocin-diabetic rat. *Diabetes Metab Res Rev*. 2004; 20(4): 315-21.
- Keynan S, Khamaisi M, Dahan R, Barnes K, Jackson CD, Turner AJ, Raz I.** Increased expression of endothelin-converting enzyme-1c isoform in response to high glucose levels in endothelia cells. *J Vasc Res*. 2004; 41 (2): 131-40.
- Kızıltunç A, Akçay F, Polat F, Kuşçay S, Şahin YN.** Reduced lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) and Na/K ATPaz activity in diabetic patients. *Clin Biochem*. 1997; 30(2): 177-182.
- Kino M, Yamato T, Aomine M.** Simultaneous measurement of nitric oxide, blood glucose, and monoamines in the hippocampus of diabetic rat: an in vivo microdialysis study. *Neurochem Int*. 2004; 44:121: 65-73.
- Kocatürk PA.** Nitrik oksitin diyabet patogenezi ve komplikasyonlarındaki rolü. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 1996. Cilt:49 sayı:4.
- Kohnert KD, Axcrone UM, Hehmke B, Kloting I, Sundler F, Ahnen B.** Islet neuronal abnormalities associated with impaired insulin secretion in type 2 diabetes in the chinese hamster. *Regul Rept* 1999; 82: 71-9.
- Kokta TA, Dodson MV, Gertler A, Hill RA.** Intercellular signaling between adipose tissue and muscle tissue. *Domestic Animal Endocrinology*. 2004; 27: 303-331.

- Kolaczynski JW, Nyce MR, Considine RV, Boden G, Nolan JJ, Henry R.** Acute and chronic effect on leptin production in humans. *Diabetes*. 1996; 45: 699-701.
- Kolb H, Kolb-Bachofen V.** Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus and nitric oxide.
- Leroy P, Dessolin S, Villageois P, Moon BC, Friedman JM, Ailhaud G, Dani C.** Expression of ob gene in adipose cells. *J Biol Chemistry*. 1996; 271: 2365-2368.
- Levine RL, Gorland D, Oliver CN.** Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Method Enzymol* 1990; 186: 464-78.
- Lüscher TF.** Do we need endothelin antagonist? *Cardiovasc Res*. 1993; 27: 2089-93.
- Lüscher TF, Barton M.** Endothelins and Endothelin Receptor Antagonists: Therapeutic Considerations for a Novel Class of Cardiovascular Drugs. *Circulation*. 2000; 102; 2434-2440.
- Lutz TA, Rand JS.** A review of new developments in type 2 diabetes in human beings and cats. *Br Vet J*. 1993; 149(6): 527-36.
- Ma Z, Gingerich RL, Santiago JV, Klein S, Smith CH, Landt M.** Radioimmunoassay of leptin in human plasma. *Clin Chem* 1996; 42: 942-6.
- Makino A, Kamato K.** Elevated plasma endothelin-1 level in streptozotocin-induced diabetes rats and responsiveness of the mesenteric arterial bed to endothelin-1. *British Journal of Pharmacology*. 1998; 123(6): 1065-72.
- Mandrup-Poulsen T, Reimers JT, Anderson HU, Pociot F, Karlsen AE, Nerup J.** Nicotinamide treatment in the prevention of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev*. 1993; 9(4): 295-309.
- Mantzoros CS.** The role of leptin in human obesity and disease: A review of current evidence. *Ann Intern Med*. 1999; 130: 671-680.

- Masaki T.** Reduced sensitivity of vascular response to endothelin [Endothelium as a regulator of vascular tone and growth]. *Circulation*. 1993; vol 87(5): 33-5.
- Mazzanti L, Rabini RA, Yesta I, Bertoli E.** Modificaions induced by diabetes on the physicochemical and functional properties of erythrocyte plasma membrane. *Eur. J. Clin. Invest.* 1989; 19: 84-89.
- Meier U, Gressner AM.** Endocrine regulation of energy metabolism: Review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem.* 2004; 50(9): 1511-25.
- Memişoğulları R.** Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi.* 2005; 3: 30-39.
- Mihara M, Uchiyama M.** Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978; 86:271-8.
- Moran O, Phillip M.** Leptin: Obesity, diabetes and other peripheral effects-areview. *Pediatric Diabetes.* 2003; 4(2): 101-9.
- Motte S, Entee K, Naeije R.** Endothelin receptor antagonists. *Pharmacology & Therapeutics.* 2006; 110: 386-414.
- Music M.** Testing of potassium, sodium and chlorine at the patients with diabetes mellitus. *Health Center with Policlinics.* 2004;58(6):345-6
- Noyan T, Balahoroğlu R, Kömüroğlu U.** Diyabetik sıçanlarda insülinle kombine edilmiş A, E, ve C vitamini tedavisinin antioksidan enzimler üzerine etkileri. *Türk Klinik Biyokimya Derg.* 2004; 2(3): 113-119.
- Nemecz M, Preininger K, Englisch R, Furnsinn C, Schneider B, Waldhausl W.** Acute effect of leptin on hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis in perfused rat liver. *Hepatology.* 1999; 29: 166-72.

- Ostlund RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R.** Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *J Klin Endocrinol Metab.* 1996; 81; 3909-13.
- Öntürk H, Özbek H.** Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şekeri seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Dergisi.* 2007; 17(4): 231-236.
- Özgün GS, Eskiocak S, Süt N.** Streptozotosin ile Diyabet Geliştirilmiş Sıçanlarda L-Karnitin Protein oksidasyonuna etkisi. *Türkiye Biyokimya Dergisi.* 2010; 35 (3); 183-189.
- Öztürk Y, Altan VM, Yıldızoğlu-Ari N.** Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol Rev.* 1996; 48(1): 69-112.
- Papaccio G, Frascatone S, Pisant FA.** An increase in superoxide dismutase counteracts islet vascular alterations in low-dose streptozotocin-treated mice. *H. Stochemistry.* 1994; 101(3): 215-21.
- Pari L, Umamaheswari J.** Antihyperglycaemic activity of musa sapientum flowers: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *Phytother Res.* 2000; 14: 136-8.
- Park JY, Takahara N, Gabriele A, Chou E, Naruse K, Suzuma K, Yamauchi T, Ha TW, Meier M, Rhodes CJ, King GL.** Induction of endothelin-1 expression by glucose an effect of protein kinase C activation. *Diabetes.* 2000; 49(7): 1239-48.
- Patel BK, Koneig JI, Kaplan LM, Hool SC.** Increase in plasma leptin and lep mRNA concentration by food intake is dependent on insulin. *Metabolism.* 1998; 47(5): 603-7.
- Pickup JC, Williams G.** Textbook of Diabetes 2 nd ed. Volume 1. Blackwell Science Inc. 2002.

- Portha B, Levacher C, Picon L, Rosselin G.** Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes*. 1974; 23: 889-95.
- Portha B, Blondel O, Serredas P, Mc Evoy R, Giroix MH, Kergoat M, Bailbe D.** The rat models of non-insulin dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin. *Diabetes Metab*. 1989; 152(2): 61-75.
- Prolo P, Wong ML, Licino J.** Leptin. *Int J Biochem Cell Biol*. 1998; 30(12): 1285-90.
- Racah D, Fabraguettes C, Azulay JP, Phlpe V.** Erythrocyte Na/K ATPase activity metabolic control and neuropathy in IDDM patients. *Diabetes Care*. 1996; 19(6): 564-568.
- Ramesh B, Pugalendi KV.** Influence of umbelliferone on membrane-bound ATPases in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacological reports*. 2007; 59: 339-348.
- Ray A, Laxminarayan G, Hegde AC, Gupta JB.** Endothelin receptor antagonists: current and future perspectives. *Drugs Discov Today*. 2000; 5: 455-464.
- Reagan LP, Mc Ewen BS.** Diabetes but not stress, reduces neuronal nitric oxide synthase expression in rat hippocampus: implications for hippocampal synaptic plasticity. *Neuroreport*. 2002. 7; 13(14): 1801-1804.
- Rosenbaum M, Leibel RL.** Leptin: A molecule integrating somatic energy stores. *Energy Expenditure and Fertility*. 1998; 9(3): 117-24.
- Rosenbloom A, Silverstein J.** Diabetes in the child and adolescent. In *Pediatric Endocrinology*. 4th ed. Lifshitz F. Ed. New York, Marcel Dekker. 2004;(25-27) p. 611-651.
- Rubanyi GM, Parker Botelho LH.** Endothelins. *FASEB J*. 1991; 5: 2713-2720.

- Rudolph CD, Rudolph AM, Hostetter MK, Lister G, Siegez MJ.** Rudolph's Pediatrics's Textbook. 21th st ed. University of California. 2002; 24-01.
- Ruperez FJ, Garcia-Martinez D, Baena B, Maeso N, Cifuentes A, Barbas C, Herrera E.** Evolution of oxidative stress parameters and response to oral vitamins E and C in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2008; 871-878.
- Said SA, Ammar ESM, Suddek GM.** Effect of bosentan (ET_A/ET_B receptor antagonist) on metabolic changes during stress and diabetes. *Pharmacological Research*. 2005; 51: 107-115.
- Sakurai T, Yanagisawa M, Takawa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T.** Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature*. 1990; 348(6303): 732-5.
- Sanchez- Margalet V, Martin –Romeo C, Santos-Alvares J, Goberna R, Najib S, Gonzales-Yanes C.** Role of leptin as an immunomodulator of blood mononuclear cells: Mechanisms of action. *Clin Exp Immunol*. 2003; 133(1):11-9
- Sayılan Özgün G, Eskiocak S, Süt C.** Streptozotocin ile diyabet geliştirilmiş sıçanlarda L-Karnitin protein oksidasyonu üzerine etkisi. *Türk Biyokimya Dergisi*. 2010; 35(3): 183-189.
- Schneider E, Wohlrab F, Cossel L.** Morphologic-histochemical characterization of inflammatory cells in insulinitis induced by multiple subdiabetogenic doses of streptozotocin in C57B1/KsJ mice. *Biomed Biochim. Acta*. 1984; 43: 683
- Scrocchi LA, Brawn TJ, Drucker DJ.** Leptin sensitivity in nonobese glucagon-like peptide receptor -/- mice. *Diabetes*. 1997; 46: 2029-34.

- Segal KR, Lansdt M, Klein S.** Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes*. 1996; 45: 988-91.
- Sefi M, Fetoui H, Lachkar N, Tahraoui A, Lyoussi B, Boudawara T, Zeghal N.** Centaurea erythraea (Gentianaceae) leaf extract alleviates Streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011; 135: 243-250.
- Semerci CN.** Obezite ve Genetik. *Gülhane Tıp Dergisi*. 2004; 46(4): 353-359.
- Sivitz WI, Walsh H, Morgan D, Donohue P, Haynes W, Leibel RL.** Plasma leptin in diabetic and insulin-treated diabetic and normal rats. *Metabolism*. 1998; 47(5): 584-91.
- Smutzer G.** Research tools for nitric oxide. A wide variety of reagents are available for nitric oxide research. *The Scientist*. 2001; 15(6): 23-29.
- Sodeman WA, Sodeman TM.** Sodeman pathologic physiology mechanism of disease. Çevirmenler; V. Cesur, N. Kemal 1. Baskı, Hekimler Birliği Vakfı, Türkiye Klinikleri Yayınevi. 1992. Ankara. Cilt:2.
- Sperling MA.** Diabetes mellitus in children. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, Nelson Textbook of Pediatrics. 17th Ed. Philadelphia. WB Saunders company. 2004; 1947-1972.
- Spitzweg C, Heulfelder AE.** More clues from fat mice: Leptin acts as an opponent of the hypothalamic neuropeptide Y system. *Eur J Endocrinol*. 1997; 136: 590-1.
- Stevenson LW, Fonarow GC.** Endothelin and the vascular system in heart failure. *JACC*. 1992; 20: 854-7.
- Surwit RS, Petro AE, Parekh P, Collins S.** Low plasma leptin in response to dietary fat in diabetes and obesity prone mice. *Diabetes*. 1997; 46: 1516-20.

- Suzuki S.** Secondary diabetes and other specific diseases or drug-induced ones: overview. *Nippon Rinsho*. 2002; 6(7): 671-81.
- Swenney G.** Leptin signaling. *Cellular Signaling*. 2002; 14: 655-663.
- Takahashi K, Ghatei MA, Lam HC, O'Halloran DJ, Bloom SR.** Elevated plasma endothelin in patients with diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1990; 33(5): 306-10.
- Tamer L, İspir T, Doran F.** Deneysel diyabetik sıçan modelinde kalsiyum adenozin 5'-trifosfataz enzimi, serum malondialdehit ve alfa tokoferol düzeylerinin araştırılması. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fak. Derg.* 1997; 22:145-51.
- Tamirisa P, Frishman WH, Kumar A.** Endothelin and endothelin antagonism: Roles in cardiovascular health and disease. *Am Heart J*. 1995; 130: 601-10.
- Tartaglia LA.** The leptin receptor. *J Biol Chem*. 1997; 272(10): 6093-6.
- Tessari P, Cecchet D, Cosma A, Vettore M, Coracina A, Millioni R, Iori E, Puricelli L, Avogaro A, Vedovato M.** Nitric Oxide synthesis is reduced in subjects with type 2 diabetes and nephropathy. *Diabetes*. 2010; 59(9): 2152-9.
- Tokaç M, Korkut B, Gök H, Altınbaş A, Aydın M.** Endotelinler ve Kardiyovasküler Sistem. *T Klin Tıp Bilimleri*. 1998. 18.
- Tozzo E, Gnudi L, Kahn B.** Amelioration of insulin resistance in streptozotocin diabetic mice by transgenic overexpression of GLUT4 driven by an adipose specific promoter. *Endocrinology*. 1997; 134(4): 1604-1611.
- Turgan N, Habif S, Mutaf I.** Endotelinler: Biyokimyasal özellikleri ve klinik önemi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 1996, 16.
- Türk HM, Sevinç A, Camel E.** Plasma lipid peroxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2002

- Uçgun Nİ, Yarışan A, Düzgünçınar Ö, Gürsel E.** Diabetik retinopati ve oksidatif stres. *Ret-Vit.* 2005; 13: 299-302.39: 117-122.
- Van de Maele I, Rogier N, Daminet S.** Retrospective study of owners' perception on home monitoring of blood glucose in diabetic dogs and cats. *Can Vet J.* 2005; 46: 718-23.
- Vega P, Gaule C, Mancilla J, Del Villar E.** Comoarison of alloxan and streptozotocin induced diabetes in rats: Differential effects on microsomal drug metabolism. *Gen Pharmacol.* 1993; 24(2): 489-95.
- Villareal D, Reams G, Freeman RH, Taraben A.** Renal effects of leptin in normotensive, hypertensive, and obose. *Am J Physiol.* 1998; 275(6 pt 2): R2056-60.
- Vivian EM.** Type-2 diabetes in and adolescents-the next epidemic? *Curr Med Res Opin.* 2006; 22(2): 297-306.
- Vural P.** Endotelinler ve Bazı Deri Hastalıklarındaki Rolü. *T Klin Dermatoloji.* 1999; 9: 263-268.
- Yang L, Fan J, Mi X, Liu X, Xu G.** [Protective effect of angiotensine II receptor blokage on rats with experimental diabetes nephropaty in early stage]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2003; 34(2): 317-9.
- Yener S.** Normotansif ve normoalbuminürik tip-2 diyabetik hastalarda metformin ve roziglitazon'un serum transforme eden büyüme faktörü beta (TGF- β) ve plazma endotelin düzeylerine etkileri. Uzmanlık tezi 2005.İzmir. Sayfa 5.
- Yenigün M.** Her Yönü ile Diabetes Mellitus, Haseki Hastanesi Vakfı Yayını, II, 8-80 s.

- Yu WJ, Juang SW, Chin WT, Chi TC, Wu TJ, Cheng JT.** Decrease of nitric oxide synthase in the cerebrocortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuro Sci Lett.* 1999; 10; 272(2): 99-102.
- Yu WJ, Juang SW, Chin WT, Chi TC, Wu TJ, Cheng JT.** Insulin restores neuronal nitric oxide synthase expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci.* 2000; 29; 68(6): 625-634.
- Zhang F, Chen Y, Heiman M, Dimarchi R.** Leptin: Structure, function and biology. *Vitamins and hormones.* 2005; 71: 345-372.
- Zhang Y, Proenca Y, Maffei M, Barone M, Leopold L, Freidman JM.** Positional cloning of the Mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994; 372: 425-432.
- Zhao ZW, Cai W, Lin YL, Lin QF, Jiang Q, Lin Z, Chen LL.** Ameliorative effect of astaxanthin on endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetes in male rats. 2011.
- Wallace AM.** Measurement of leptin and leptin binding in the human circulation. *Ann Clin Biochem.* 2000; 37(pt 3): 244-52.
- Wang J, Wernette CM, Judd RL, Huggins KW, White BD.** Guanethidine treatment dose not block the ability of central leptin administration to decrease blood glucose concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Endocrinology.* 2008; 198: 541-548.
- Watts GF, Playford DA.** Dyslipoproteinemia and hyperoxidative stress in the pathogenesis of endothelial dysfunction in non-insulin dependent diabetes mellitus: an hypothesis. *Atherosclerosis.* 1998; 141: 17-30.

- Wauters M, Considine RV, Van Gaal LF.** Human leptin: From an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *European Journal of Endocrinology*. 2000; 143: 293-311.
- Wilding J, Widdowson P, Williams G.** Neurobiology. *British Medical Bulletin*. 1997; 53: 286-306.
- Wolff SP.** Diabetes mellitus and free radicals. *Br Med B* 1993; 49: 3 642.
- Xiong Y, Tanaka H, Richardson JA, Williams SC, Slaughter CA, Nakamura M, Chen JL, Yanagisawa M.** Endothelin-1 stimulates leptin production in adipocytes. *The Journal of biological chemistry*. 2001; 276(30): 28471-28477.
- Quehenberger P, Exner M, Plassmann RS, Ruzicka K, Bieglmayer C, Endler G, Maulner C, Speiser W, Oswald W.** Leptin induces Endothelin-1 in endothelial cells in vitro. *Circ Res*. 2002; 90(6): 711-8.

ÖZGEÇMİŞ

Adı – Soyadı: Ayfer ÖZTÜRK

Doğum Yeri/Tarihi Adapazarı - 1983

Memleketi: Düzce

EĞİTİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans (2009): Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Fizyoloji ABD - TOKAT

Lisans (2005): Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik

Lise (2000): Bolu Atatürk Lisesi – BOLU

İŞ DENEYİMİ

(2010–halen): Kastamonu Üniversitesi, Fazıl Boyner Sağlık Yüksekokulu
Araştırma Görevlisi - KASTAMONU

(2006-2010): Karadeniz Teknik Üniversitesi, Farabi Hastanesi
Nöroloji/Nöroşirurji Yoğun Bakım Hemşiresi -TRABZON

(2006): Kocaeli Üniversitesi Araştırma Hastanesi
Genel Cerrahi Yoğun Bakım Hemşiresi – KOCAELİ

(2005): Özel Akademi Hastanesi
Poliklinik hemşiresi - KOCAELİ