

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BETA 3 ADRENOSEPTÖR BLOKAJININ RATLARDA
DİABETİN YOL AÇTIĞI KARDİYAK KOMPLİKASYONLAR
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Tuğçe YILDIZ

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. V. Melih ALTAN**

2010- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşğıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/01/2010

Jüri Başkanı
Prof. Dr. V. Melih ALTAN
Ankara Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU
Gazi Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. A. Tanju ÖZÇELİKAY
Ankara Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. Serap GÜR
Ankara Üniversitesi

Üye
Doç. Dr. Arzu BEŞİKÇİ
Ankara Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
 1.GİRİŞ	 1
1.1. Diabetes Mellitus	1
1.1.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı ve Sınıflandırılması	1
1.1.2. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları	3
1.1.2.1. Mikrovasküler Komplikasyonlar	6
1.1.2.2. Makrovasküler Komplikasyonlar	8
1.1.2.3. Diyabetik Kardiyomiyopati	10
1.2. Sempatik Sinir Sistemi	15
1.2.1. Kardiyak β - adrenoseptörler	15
1.3. β_3 - Adrenoseptörler	18
1.3.1. β_3 - Adrenoseptörlerin Yapısı ve Özellikleri	18
1.3.2. β_3 - Adrenoseptörlerin Farmakolojisi	19
1.3.2.1. Agonistler	20
1.3.2.2. Antagonistler	20
1.3.2.3. β_3 -Antagonist Tedavisinin Terapötik Önemi	21
1.3.3. Kalpteki β_3 - Adrenoseptörler	23
1.3.3.1. β_3 - Adrenoseptörlerin Kontraktıl Etkileri	23
1.3.3.2. β_3 - Adrenoseptörlerin Elektrofizyolojik Etkileri	26
1.3.3.3. β_3 - Adrenoseptörlerin Sinyal Yolakları	26
1.3.4. Damarlardaki β_3 - Adrenoseptörler	29
1.3.5. β_3 - Adrenoseptörlerin Kardiyovasküler Patolojilerdeki Yeri	30

1.3.5.1. Kalp Yetmezliği	30
1.3.5.2. Hipertansiyon	32
1.3.5.3. Diabetes Mellitus	33
1.3.5.4. Koroner Arter Hastalığı	35
1.4. Amaç	36
2. GEREÇ VE YÖNTEM	38
2.1. Kullanılan Gereçler	38
2.1.1. Malzemeler	38
2.1.2. Kimyasal Maddeler	40
2.1.3. Deney Hayvanları	41
2.2. Kullanılan Yöntemler	41
2.2.1. Deneysel Diabetin Oluşturulması	41
2.2.2. Deney Grupları	42
2.2.3. In-vivo Hemodinamik Ölçümler (Millar Kateterizasyonu)	42
2.2.4. İzole Organ Banyosu Deneyleri (Langendorff Kalp Preparatı)	43
2.2.4.1 BRL 37344 Konsantrasyon-Yanıt Çalışmaları	44
2.2.4.2. BRL 37344 ve SR59230A Konsantrasyon-Yanıt Çalışmaları	44
2.2.5. Total RNA Ekstraksiyonu	44
2.2.5.1. Total RNA Jeli	45
2.2.5.2. RT-PCR	46
2.2.5.3. PCR	47
2.2.5.4. Jel Elektroforezi	48
2.3. İstatistiksel Analiz	48
3. BULGULAR	49
3.1. Ratların Genel Özellikleri	49
3.2. In Vivo Ölçümler	50
3.3. İzole Organ Banyosu Deneyleri	53
3.3.1. BRL 37344 Konsantrasyon-Yanıt Çalışmaları	53
3.3.2. BRL 37344 ve SR 59230A Konsantrasyon-Yanıt Çalışmaları	55
3.4. β_3 -AR Altıpi mRNA Ekspresyonları	56

4. TARTIŞMA	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
ÖZET	69
SUMMARY	70
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ	91

ÖNSÖZ

β_3 -adrenoseptörler, katekolaminlerin β_1 - ve β_2 -adrenoseptörler üzerinden oluşturdıkları etkilerden bağımsız olarak oluşan etkilere aracılık etmektedir. Rat adipositlerinde yağ asidi oksidasyonu, enerji tüketimi ve insulin-aracılı glukoz uptake'indeki artışın β_3 -adrenoseptör-aracılı olarak gerçekleştiği gösterilmiştir. Ne var ki, bu reseptör alttipinin myokard ve vasküler dokuda da bulunduğu ve fonksiyonel etkilere aracılık ettiğinin gösterilmesi, son yıllarda β_3 -adrenoseptörlerin kardiyak kontraktilitenin düzenlenmesindeki rolünün aydınlatılmasına yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Çalışmamız bu reseptör alttipinin diabette gözlenen kardiyak komplikasyonlara olası katkısının aydınlatılması açısından önem taşımaktadır.

Bilgi ve tecrübesi ile çalışmalarım boyunca her zaman yol gösteren, verdiği özveri ve güven duygusuyla hep yanımda olan, her türlü zorluğa karşı desteğini esirgemeyen, yaşam sevinci ve entelektüelliğine hayran olduğum, lisans dönemimden başlayarak danışmanlığımı yapan ve benim için büyük bir şans olarak saydığım danışman hocam Prof. Dr. V. Melih Altan'a,

Deneyisel çalışmaya başlamamda ilk adımı atmama yardımcı olan, bilgi birikimi ve deneyimleri ile her türlü soruna ışık tutan ve çalışmalarımda yardımını hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. A. Tanju Özçelikay'a

Çalışmalarım esnasında bana her türlü desteği sağlayan A.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Nuray Arı, Prof. Dr. Gülgün Ozansoy, Prof. Dr. Serap Gür ve Doç. Dr. Arzu Onay Beşikçi'ye,

Hem bilimsel alanda hem de hayat ile ilgili görüş açımı genişleten, çalışmamda ihtiyacım olduğunda yardımına koşan, bilime karşı olan merakı, sabrı ve sevgisine hayran olduğum Dr. Şahika Güner'e,

Çalışmalarım süresince manevi desteği ile hep yanımda olan, karşılaştığım sorunlara çözüm önerileri getiren ve bulmama yardımcı olan Dr. Ali Murat İrat'a,

Çalışkanlığı ve titiz çalışma stili açısından örnek aldığım, çalışmalarım boyunca her türlü desteğe ihtiyacım olduğunda büyük bir özveri ile ilgilenen Dr. Ebru Arıoğlu'na,

Çalışmalarımda bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, desteklerini her an hissettiğim, Uzm. Ecz. Işıl Özakça ve Uzm. Ecz. Gizem Kaykıcı'ya,

Neşesi, hayata karşı bakış açısı ve düşünce yapısı ile farklılık yaratan, yardımlarını asla unutamayacağım Ecz. Tamila Akhayeva'ya

Tez çalışmamda başından sonuna kadar yanımda olan, yaşadığım tüm zorlukları tedavi sürecinde benimle paylaşarak üzerimdeki yükü hafifleten, bir kez olsun beni yalnız bırakmayan ikiz kardeşim Gözde Yıldız'a

Uzun ve zahmetli bu yolda her türlü fedakarlığı yapan Canım Annem'e

Sonsuz Teşekkürler.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATP	Adenosine TriPhosphate
AGE	Advanced Glycosylation End Product
β -AR	Beta Adrenerjik Reseptör
β -ARK	Beta Adrenergic Receptor Kinase
cAMP	Cyclic Adenosine MonoPhosphate
cDNA	Complementary DNA
cGMP	Cyclic Guanosine MonoPhosphate
DAG	DiAcylGlycerol
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksid Sentaz
G _i	İnhibitör etkinliktteki G proteini
GMP	Guanine Mono Phosphate
GPCR	G-Protein Coupled Receptor
GRK	G protein Reseptör Kinaz
G _s	Stimülatör etkinliktteki G proteini
GTP	Guanosine TriPhosphate
L-NMMA	L-NG-MonoMethyl Arginin Monoasetat
LVDP	Left Ventricular Developed Pressure
LVEDP	Left Ventricular End Diastolic Pressure
LVP	Left Ventricular Pressure
mRNA	Messenger RiboNucleic Acid
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
PI3K	PhosphoInositol-3-Kinase
PKA	Protein Kinaz A

PKC	P rotein K inaz C
PPAR	P eroxisom P rolifere-Aktive R eseptör
SERCa2	S arco(e ndo)plasmic R eticulum C alcium-dependent A TPase
SR	S arkoplasmik R etikulum
TG β 3	T rans G enic-Kardiyomyositlerinde insan β3 -AR bulunan fare
TM	T rans m embrane

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Hipergliseminin neden olduğu vasküler hasarın olası mekanizmaları	6
Şekil 1.2.	Diabetik kardiyomiyopatiye aracılık eden olası mekanizmalar arasındaki etkileşim	14
Şekil 1.3.	Kardiyak miyositlerinde gerçekleşen kontraksiyon-gevşeme mekanizmaları	17
Şekil 1.4.	İnsan β_3 -adrenerjik reseptörün şematik gösterimi	19
Şekil 1.5.	β_3 -AR'lerin kardiyomiyositlerdeki olası hücre içi sinyal yolları	28
Şekil 1.6.	Diabetik rat kalbinde β -AR altiplerinde gözlenen değişiklikler	34
Şekil 3.1.	İn vivo olarak ölçülen A) Sol ventrikül basıncı, B) Sol ventrikül diastol sonu basıncı ve C) Sol ventrikül içi gelişen basınç değerleri	51
Şekil 3.2.	BRL 37344'ün konsantrasyon-yanıt eğrileri. A) Sol ventrikül içi gelişen basınç (LVDP). B) +dP/dT. C) -dP/dT	54
Şekil 3.3.	BRL 37344'ün SR 59230A varlığında elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrileri. A) Sol ventrikül içi gelişen basınç (LVDP). B) +dP/dT. C) -dP/dT	55
Şekil 3.4.	Kontrol, diabetik ve SR 59230A tedavili diabetik ratlarda β_3 -AR mRNA ekspresyonlarına ilişkin band yoğunlukları ve band fotoğrafları	56
Şekil 4.1.	β_3 -AR'lerin sağlıklı kalpte ve kalp yetmezliğindeki hipotetik rolü	59
Şekil 4.2.	Kontrol (A), Diabet (B) ve SR 59230A tedavili diabet (C) grubundan alınan <i>in-vivo</i> kan basıncı ve sol ventrikül basıncı traseleri	62

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1.	RT-PCR reaksiyonu bileşenleri	46
Çizelge 2.2.	RT-PCR programı	46
Çizelge 2.3.	PCR reaksiyonu bileşenleri	47
Çizelge 2.4.	PCR programı	47
Çizelge 2.5.	Reaksiyonda kullanılan primerlerin $MgCl_2$ konsantrasyonları, tutunma dereceleri ve ürün büyüklükleri	48
Çizelge 3.1.	Kontrol (K), diabetik (D) ve SR 59230A tedavili diabetik (D-SR) ratların <i>in vivo</i> kardiyak hemodinamik parametreleri	50
Çizelge 3.2.	İzole kalp preparatlarında BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrisinden hesaplanan pD_2 değerleri	54

1. GİRİŞ

1.1. Diabetes Mellitus

1.1.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı ve Sınıflandırılması

Diabetes mellitus pankreastan insülin salgıverilmesindeki eksikliğe ya da dokuların insüline yanıt verirliliğindeki azalmaya bağlı olarak ortaya çıkan; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozuklukların eşlik ettiği metabolik bir sendromdur. Diabetes mellitus tanısı, insülin eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan hiperglisemi tablosuyla ve diğer bazı biyokimyasal bulgularla konulmaktadır. Polidipsi, poliüri, polifaji ve kilo kaybı diabetes mellitus'un karakteristik semptomlarını oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün verilerine göre, 2000 yılında diabetes mellitus'lu hasta sayısı dünya genelinde 171 milyon, Türkiye'de 2.9 milyon olarak bildirilmiş ve bu rakamın 2030 yılında yaklaşık iki katına çıkarak dünya genelinde 366 milyona, Türkiye'de ise 6.4 milyona ulaşacağı öngörülmüştür (WHO, 2008). Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde 2007 yılında 17.9 milyon teşhis edilmiş, 5.7 milyon teşhis edilmemiş diabetik hasta olduğu düşünülmektedir. Dünya nüfusunun %7.8'ini oluşturan Amerika Birleşik Devletleri'nde bu hastalığın tedavi giderleri için harcanan para 2007 senesi için 174 milyar dolardır (National Diabetes Fact Sheet, 2007).

WHO, Diabetes mellitus'u Tip 1 (insülin-bağımlı diabet ya da IDDM) ve Tip 2 diabet (insülin-bağımlı olmayan diabet ya da NIDDM) olarak gruplandırmaktadır. Bu iki grubun yanısıra, hamilelikte görülen gestasyonel diabet (GDM) ve ayrıca pankreasın β hücrelerinde veya insülin etkinliğinde meydana gelen genetik defektlere, enfeksiyonlara, ilaçlara ya da kimyasal kaynaklı nedenlere, endokrinopatilere, ekzokrin pankreas hastalıklarına ve diğer hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan diabet çeşitleri de bulunmaktadır (Diabetes Care, 2009).

Tip 1 diabet, pankreastaki Langerhans adacıklarında bulunan β hücrelerinin harabiyetine bağlı insülin eksikliği ile karakterize bir hastalıktır. Teşhis edilen diabet vakalarının %5-10'unu oluşturan tip 1 diabet çoğunlukla çocuklarda ve adolösanlarda görüldüğünden Juvenil diabet olarak da adlandırılmaktadır (Diabetes Care, 2008). WHO ve Amerikan Diabet Derneği (American Diabetes Association, ADA) tip 1 diabetin iki farklı türü olduğunu bildirmiştir. Tip 1A diabet, pankreas β hücrelerine karşı otoantikor gelişimi sonucu ortaya çıkarken, idiopatik diabet olarak adlandırılan tip 1B diabetin ise nedeni bilinmemektedir. Çoğunlukla Afrika ve Asya ırklarında gözlenen tip 1B diabet, kronik insülin eksikliği ve ketoasidoz nöbetleri şeklinde kendini gösterir. Tip 1 diabette insülin eksikliğine bağlı olarak dokularda glukoz kullanımı azalırken karaciğerde glukoz yapımı artar. Glomerüler filtratta böbrek tübüllerine gelen glukoz miktarı geri emilebilen düzeyi aştığından glukozun fazlası idrarla atılır. Sonuçta ileri düzeydeki hiperglisemi glukozun idrarla kaybına neden olmaktadır. İdrarla glukoz kaybı böbreklerden ozmotik diürece neden olur ki bu da vücuttan sıvı ve elektrolit kaybına yol açar. Diabetin klasik semptomları olan poliüri ve polidipsinin nedeni de budur. Glukoz efektif olarak kullanılamadığından enerji üretimi için yağlar ve proteinler kullanılır. Yağ metabolizmasının sonucu olarak plazmada serbest ketoasitlerin miktarı artar; hem bu artış hem de poliüriye bağlı dehidratasyon şiddetli metabolik asidoz tablosu gelişmesine yol açar. Yeterli dozda insülin ile tedavi edilmediği takdirde, bu durum diabetik koma ve hatta ölümle sonuçlanabilmektedir. Tedavi edilmeyen diabetik hasta, proteinlerin kullanımı arttığı ve depolanması da azaldığı için, fazla miktarda besin tükettiği halde hızla kilo kaybeder ki bu da ciddi doku kaybına ve ölüme neden olabilir. Kronik hiperglisemi kardiyovasküler sistem başta olmak üzere birçok dokuda hasara yol açar. Hipertansiyon, ateroskleroz ve nöropati diabetin sık görülen komplikasyonlarından (Guyton and Hall, 2007).

Tip 2 diabetes mellitus (insülin-bağımlı olmayan diabet ya da NIDDM) ise teşhis edilen diabet vakalarının %90-95'ini oluşturup, genellikle yetişkinlerde görülmektedir. Hastalık rölatif insülin eksikliği ve insülin rezistansına bağlı olarak ortaya çıkar, ayrıca hastaların çoğu obezdir. Tip 2 diabette plazma insülin düzeyleri

arttığı halde, hedef dokuların insuline yanıtverirliği azaldığı için kan şekeri yükselmektedir (Diabetes Care, 2008).

1.1.2. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

Diabetes mellitus'a bağlı olarak gelişen komplikasyonlar akut ve kronik komplikasyonlar olarak ikiye ayrılır. Akut komplikasyonlar, hiperglisemi nedeniyle görülen ketoasidoz ve nonketotik hiperozmolar koma şeklinde gözlenir. Kronik komplikasyonlar ise mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar olarak iki sınıf halinde gruplandırılabilir (Retnakaran ve Zinman, 2008). Hiperglisemi kaynaklı vasküler komplikasyonların oluşumunda çeşitli hücresel yolak ve mekanizmaların rol oynadığı bilinmektedir (Şekil 1.1) (Reusch, 2003). Poliol, protein kinaz C (PKC), non-enzimatik glikasyon ve heksosamin yolakları diabetik komplikasyonların açıklanmasında en çok üstünde durulan yolaklardır.

Poliol yolağı: Bu yolakla çeşitli hücrelerdeki glukoz, aldoz redüktaz ile sorbitole, sorbitol dehidrogenaz ile de fruktoza dönüşür. Normal koşullarda aldoz redüktazın glukozu afinitesi düşük olduğundan, hücresel glukoz çoğunlukla heksokinaz tarafından glukoz-6-fosfata dönüştürülür (Altan, 2003). Diabetes mellitus gibi plazma glukoz düzeyinin arttığı durumlarda ise poliol yolağı indüklenir. Buna bağlı olarak, hücre içi sorbitol düzeyleri belirgin ölçüde artar. Sorbitol, hücre zarından kolay difüze olamadığı için, hücrede ozmotik hasara yol açar (Brownlee, 2001). Bununla beraber, sorbitol birikimin artması nöral miyoinozitol miktarının ve Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinin azalmasına neden olur (Ward, 1989; Grene, 1991). Aldoz redüktaz ile glukozun redüksiyonu hiperglisemi durumunda özel olarak önem taşıdığı için, poliol yolağının hiperaktivitesi diabetik komplikasyonların oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (Altan, 2003).

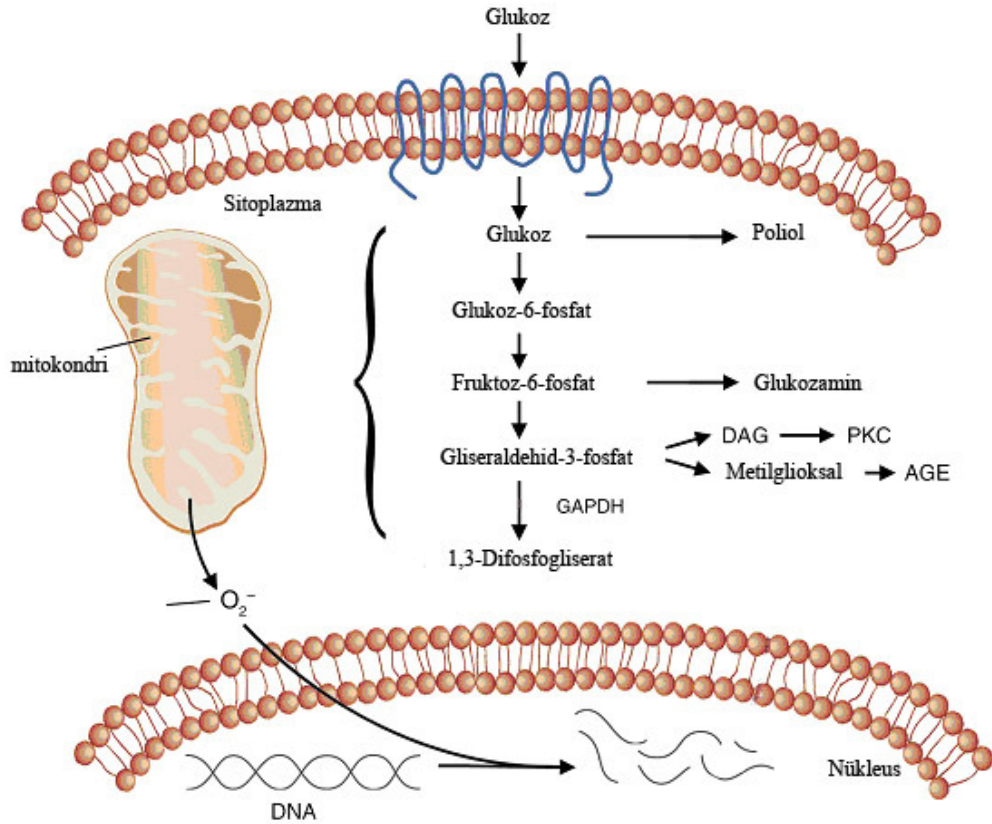
PKC aktivasyonu: Hücre içi hipergliseminin diabetik hayvanların retina, renal glomerül ve mikrovasküler hücrelerinde diaçilgliserol (DAG) seviyelerini artırdığı gözlenmiştir. Bu durumun esas olarak glikolitik ara ürün olan dihidroksiaseton

fosfattan *de novo* sentezi ile DAG sentezinin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. DAG'ın *de novo* sentezinin artması diabetik hayvanların retina, renal glomerül ve mikrovasküler hücrelerinde PKC'nin aktivasyonuna yol açmaktadır (Koya ve King, 1998; Xia ve ark., 1994). Ayrıca hiperglisemi PKC izoformlarını indirekt olarak, AGE reseptörlerinin ligasyonu (Portilla ve ark., 2000), poliol yolağı aktivitesini (Keogh ve ark., 1997) artırarak ve reaktif oksijen türevleri oluşumunu indükleyerek de aktive etmektedir. Deneysel diabetin erken dönemlerinde PKC- β izoformu aktivasyonu, büyük olasılıkla nitrik oksit (NO) yapımını deprese ederek ve/veya endotelin-1 aktivitesini arttırarak, retinal ve renal kan akımı anomalilerine neden olmaktadır (Ishii ve ark., 1996). Diabette hem glomerüllerde (Craven ve ark., 1994), hem de düz kas hücrelerinde nitrik oksit yapımındaki azalmalarda anormal PKC aktivasyonunun rolü olduğu gösterilmiştir (Ganz ve Seftel, 2000). PKC aktivasyonu aynı zamanda endotelial hücre kültürlerinde insulin ile stimüle olan eNOS mRNA ekspresyonunu da inhibe etmektedir (Kuboki ve ark., 2000).

Non-enzimatik glikasyon yolağı: Ekstraselüler proteinlerle glukoz arasındaki nonenzimatik reaksiyonlar sonucu oluştuğu düşünülen ileri glikozilasyon son ürünleri (Advanced Glycosylation End Products, AGE) diabette retina hücrelerinde ve renal glomerüllerde yüksek düzeyde saptanmıştır (Horie ve ark., 1997). Hücre içi hipergliseminin hem intraselüler hem de ekstraselüler AGE oluşumunda primer uyaran olduğu gösterilmiştir (Degenhardt ve ark., 1998). AGE'ler glukozun glioksala hücre içi otooksidasyonu sonucu (Degenhardt ve ark., 1998), Amadori ürünlerinin (glukoz derive 1-amino-1-deoksifruktoz lizin türevleri) 3-deoksiglukozona dekompozisyonuna bağlı olarak ya da gliseraldehit-3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfatın metilglioksala fragmentasyonu (Thornalley, 1990) ile meydana gelebilirler. Hayvan modellerinde AGE inhibitörü tedavisi uygulandıktan sonra retina, böbrek ve sinirlerde diabetik mikrovasküler hastalığın yapısal ve fonksiyonel olarak kısmen iyileştirilmesi AGE'lerin diabetik komplikasyonların patogenezindeki potansiyel önemini ortaya koymaktadır (Soulis-Liparato ve ark., 1991; Nakamura ve ark., 1997; Hammes ve ark., 1991). Yüksek glukozla maruz kalan endotel hücrelerinde 1 hafta içinde AGE ürünleri oluşmaktadır. Fibroblast büyüme faktörü, endotel

hücrelerindeki temel AGE modifiye proteinlerden biridir (Giardino ve ark., 1994). AGE ürünlerinin en bilinenlerinden biri Hemoglobin A1C (HbA1C)'dir ki, bu ürünün düzeyleri diabette hastalığının seyrini takip etmek açısından önem taşımaktadır. AGE'ler endotelin-1 aracılı olarak vazokonstriksiyonu artırıp endotel hasarına yol açabilir, ya da komplike biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal oluşumuna neden olabilir (Altan, 2006). Diabette makrofajlarda, glomerüllerde ve endotel hücrelerinde AGE'lerin neden olduğu etkiler, bu ürünlerin spesifik reseptörleri ile birleşmesi sonucu ortaya çıkar. Bu etkiler arasında interlökin-1 (IL-1), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ekspresyonu sayılabilir ki bu endojen maddelerin ekspresyonu endotel ve düz kas hücrelerinde vasküler fonksiyonu bozmaktadır (Vlassara ve ark., 1988; Kirstein ve ark., 1992).

Heksozamin yolağı: Bu yolakta fruktoz-6-fosfat, glikoliz yolağından kayarak, UDP N-asetil glukozamin gibi substratların kullanıldığı proteoglikan sentezine ve O-bağılı glikoproteinlerin oluştuğu reaksiyonlara yönelir. Glukozun glukozamine dönüşümünde hız kısıtlayıcı basamak olan glutamin-fruktoz-6-fosfat amidotransferaz (GFAT) enziminin inhibe edilmesi TGF- α , TGF- β_1 ve plazminojen aktivatör inhibitörü-1'in (PAI1) transkripsiyonunda hiperglisemiye bağılı olarak ortaya çıkan artışı bloke eder (Brownlee, 2005). Heksozamin yolağı stimülasyonunun gen transkripsiyonlarındaki hiperglisemi kaynaklı artışı nasıl regüle ettiği tam olarak bilinmemektedir. Aortik endotelyal hücrelerde heksozamin yolağı aktivitesinin hiperglisemiye bağılı olarak 2.4 kat arttığı gösterilmiştir (Du ve ark., 2000). Sonuç olarak, hiperglisemi durumunda heksozamin yolağının aktivasyonu hem gen ekspresyonunda hem de protein fonksiyonunda çeşitli değişimlere yol açabilir ve bu değişimler de diabetik komplikasyonların patogenezeine katkıda bulunabilir.



Şekil 1.1. Hipergliseminin neden olduğu vasküler hasarın olası mekanizmaları (Reusch, 2003)

1.1.2.1. Mikrovasküler Komplikasyonlar

Son yıllarda diabetle ilgili mortalitenin azalması ile birlikte diabetik hastaların yaşam süresi uzamakta ve bu hastalarda diabetik mikrovasküler komplikasyonların gelişim insidensi artmaktadır (Fong ve ark., 2004; UKPDS, 1998). Diabetik mikrovasküler komplikasyonlar olarak tanımlanan bozukluklar nefropati, retinopati ve nöropatidir (Sheetz ve ark., 2002). Klinikte, tip 1 diabetik hastalarda mikrovasküler komplikasyon görülme olasılığı tip 2 diabetiklere göre daha fazladır (Krolewski ve ark., 1987; Libby ve ark., 2005).

Diabetik retinopati, diabetik mikrovasküler komplikasyonların en sık görülenidir. Sadece Amerika Bileşik Devletlerinde, her yıl retinopati kaynaklı 10000 körlük vakası bildirilmektedir (Fong ve ark., 2004). Diabetik retinopati nonproliferatif ya da proliferatif retinopati olarak gruplandırılmaktadır. Nonproliferatif retinopatide retinanın orta katmanlarında küçük hemorajiler görülmektedir. Retinada görülen bu mikroanevrizmalar genellikle retinopatinin ilk belirtisi olarak kabul edilir. Proliferatif retinopati ise retina yüzeyinde yeni kan damarları oluşumu ile karakterizedir ve vitröz hemorajiye neden olabilir. Retinada gözlenen beyaz alanlar bu tip retinopatinin işareti olabilmektedir. Tedavi edilmediği durumlarda, proliferatif retinopatiler hastada sürekli görme kaybına yol açabilir (King ve ark., 2005).

Diabetik hastalarda gözlenen mikrovasküler komplikasyonlardan biri de diabetik periferik nöropatidir. ADA, diabetik nöropatiyi, diabetik bireylerde diğer etkenler dışlandıktan sonra gözlenen periferik sinir disfonksiyonu semptomları olarak tanımlamaktadır (ADA, 2007). Diabetik hastalarda bu komplikasyonun görülme sıklığı hipergliseminin şiddetine ve süresine bağlı olarak değişmekle birlikte, bazı bireylerde genetik yatkınlığın da rolü olduğu saptanmıştır. Hipergliseminin periferik sinirlerde hasara yol açmasının nedeni poliol birikimi, AGE ürünleri oluşumu ve oksidatif stres gibi etkenlere bağlanmıştır. Diabetik periferik nöropatinin duyuşal, fokal/multifokal ve otonomik gibi çeşitli tipleri bulunmaktadır. Diabetik nöropati %80'ni amputasyonla sonuçlanan ayak ülserasyonlarına yol açabilmektedir (Boulton ve ark., 2005). Daha önemlisi, diabetik nöropati belirgin ölçüde mortaliteye ve morbiditeye yol açabilmektedir. Nörolojik disfonksiyon birçok organ sisteminde ortaya çıkabilir ve gastroparezi, konstipasyon, diare, anhidroz, mesane disfonksiyonu, erektil disfonksiyon, egzersiz intoleransı, taşikardi, sessiz iskemi gibi durumlara ve hatta ani kardiyak ölümlere neden olabilir (Boulton ve ark., 2005). Kardiyovasküler otonomik disfonksiyon sessiz myokard iskemisi ve mortalitesi ile ilişkili bulunmuştur (Beckman ve ark., 2002). Diabetik nöropatinin spesifik bir tedavisi olmamakla birlikte hiperglisemi kontrol altına alınarak hastanın durumu iyileştirilebilir. Ayrıca bazı ilaçların kullanımı ile semptomları tedavi etmek mümkün olmaktadır. Bu amaçla kullanılan ilaçlara amitriptilin, imiprimin, paroksetin,

citalopram, gabapentin, pregablin, karbamazepin, topiramet, duloksetin ve tramadol örnek verilebilir (Boulton ve ark., 2005).

Diabetik nefropati Amerika Bileşik Devletleri'nde renal yetmezliğin primer etkeni olarak gösterilmektedir. Mikroalbuminüri görülen diabetik hastalarda genellikle nefropati bulgusuna rastlanmaktadır. Mikroalbuminüri ise 24 saat içinde 30-299mg albumin atılımı ile karakterize edilmektedir. Nefropatili hastalarda böbreklerde görülen patolojik değişimler arasında glomerüler membranda kalınlaşma, mikroanevrizma ve mezenşimal nodül oluşumu (Kimmelsteil-Wilson) sayılabilir (Gross ve ark., 2005). Diabetik nefropatinin gelişimine zemin hazırlayan mekanizmalar diabetik retinopatidekilerle kısmen ya da tamamen aynı olabilir. Diabetin diğer mikrovasküler komplikasyonlarında olduğu gibi, burada da yapılması gereken şey iyi bir kan şekeri kontrolüdür. Bu amaçla HbA_{1C} düzeylerinin izlenmesi doğru bir yaklaşımdır. Diabetik nefropatili hastalarda ACE inhibitörlerinin kullanımı yararlı olmaktadır. Renin anjiyotensin sisteminin bloke edilmesi, basit kan basıncını düşürücü etkilerinin ötesinde yarar sağlamaktadır. Sözü edilen yararın bu grup ilaçların glomerüler basıncı düşürmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca bu ilaçlar, hastanın mikroalbuminüri bulgusunun makroalbuminüriye dönüşmesini de engelleyebilmektedir (Gross ve ark., 2005).

1.1.2.2. Makrovasküler Komplikasyonlar

Makrovasküler komplikasyonların merkezinde genellikle ateroskleroz gelişimi yer alır. Bu patoloji vücuttaki arter duvarlarının aterosklerotik plaklar nedeniyle daralması olarak tanımlanır. Aterosklerozun periferik ya da koroner vasküler sistemdeki arter duvarlarının kronik inflamasyonu ya da hasarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Endotelyal hasar ya da inflamasyon sonucu LDL partiküllerinden gelen okside lipidler arterlerin endotel duvarında birikirler. Daha sonra monositler arter duvarına infiltre olurlar ve makrofajlara dönüşürler ki bunlar okside lipidler ile birleşerek köpük hücrelerini oluştururlar. Köpük hücreleri bir kez oluştuktan sonra makrofaj proliferasyonunu stimüle ederler ve T lenfositlerinin bu bölgeye

çekilmesine yol açarlar. T lenfositler, böylece, arter duvarında düz kas stimülasyonunu ve kolajen birikimini stimüle ederler. Bu prosesin net sonucu olarak da, lipidce zengin aterosklerotik plaklar oluşur ve bu lezyonun kopması (rupture) akut vasküler infarktüse neden olur (Boyle, 2007).

Tip 2 diabette, aterosklerotik plak oluşumuna ek olarak, hiperkoagülabilité ve platelet adhezyonu artışına ilişkin sağlam veriler bulunmaktadır. Plateletlerde nitrik oksit sentezinin bozulması ve serbest radikal oluşumunun artması, aynı zamanda da kalsiyum regülasyonunun değişmesi platelet agregasyonunu indükleyebilir. PAI-1 düzeylerinin yükselmesi de diabetik hastalarda fibrinolizisin bozulmasına yol açabilir. Koagülabilitenin artması ve fibrinolizisin bozulması biraraya gelerek tip 2 diabetiklerde vasküler oklüzyon ve kardiyovasküler olay riskini artırmaktadır (Beckman ve ark., 2002).

Kardiyovasküler hastalıklar hem tip 1 hem de tip 2 diabetiklerde temel ölüm nedenidir (Laing ve ark., 2003; Paterson ve ark., 2007). İlk kez Framingham çalışmasıyla başlayarak birçok çalışmada makrovasküler diabetik komplikasyonlar arasında sayılan koroner arter hastalığı ile diabetin ilişkisi ortaya konmuştur (Kannel ve McGee., 1979). Tip 2 diabette tipik olarak gözlenen metabolik sendrom bulguları olan abdominal obezite, hipertansiyon, hiperlipidemi ve koagülabilité artışı kardiyovasküler hastalık gelişimini indüklemektedir (Almdal ve ark., 2004).

Koroner arter hastalığında olduğu gibi inme ve serebrovasküler hastalıkta da diabet bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Lehto ve ark., 1996). Serebrovasküler hastalık tip 1 diabetik hastalarda her yaşta görülen bir olgudur (Laing ve ark., 2003). Tip 2 diabetik hastalarda ise inme riski yaklaşık %150-400 oranında artmaktadır. Benzer şekilde, inme kaynaklı demans ve mortalite de diabette artmaktadır (Beckman ve ark., 2002).

1.1.2.3. Diabetik Kardiyomiyopati

Diabetik kardiyomiyopati kavramı ilk kez 1972 yılında Rubler ve arkadaşları tarafından ortaya atılmıştır. Üzerinde çok fazla çalışma yapılmış olmasına karşın diabetik kardiyomiyopati halen tümüyle aydınlatılamamıştır. Bu durum kısmen kavramın ve hastalığa eşlik eden kardiyak anomalilerin ortaya konmasında ortak bir kaniya varılamamasından kaynaklanmaktadır. Diabetik kardiyomiyopati hipertansiyon ya da koroner arter hastalığından bağımsız olarak ortaya çıkan ventriküler disfonksiyon olarak tanımlanabilir. Buna ek olarak, bu patolojide görülen diastolik disfonksiyon, hipertansiyon ya da myokard iskemisinin de eşlik ettiği durumlarda daha da belirgin hale gelmektedir (Boudina ve ark., 2007). Diastolik disfonksiyon, hastalığın ilerleme sürecine bağlı olarak sistolik disfonksiyonu da beraberinde getirmektedir. Diabetik kardiyomiyopatinin kendisi kalp yetmezliğine yol açabileceği gibi, hipertansiyon ve iskemik kalp hastalığı gibi diğer kardiyak komplikasyonlar eşliğinde de kalp yetmezliği gelişiminin hızlanmasına katkıda bulunabilmektedir (Bell, 2003).

Diabetik kardiyomiyopatinin görülme sıklığı günden güne artmaktadır; Doppler ultrasonografisi ile yapılan çalışmalarda diabetik hastaların yaklaşık %40-60'ında diabetik kardiyomiyopati geliştiği gösterilmiştir (Bell, 2003). Diabetik kardiyomiyopati oluşumuna zemin hazırlayan iki temel etken bulunmaktadır; bunlardan ilki tüm diabetik komplikasyonların esas kaynağı olan hiperglisemidir. İkincisi ise diabetin kardiyak metabolizma üzerindeki etkisidir. Sağlıklı bir kalp enerji gereksiniminin %20-40'nı karbohidratlardan, %60-80'ni ise yağ asiti metabolizmasından sağlarken, diabetik bir kalp enerji kaynağı olarak neredeyse tümüyle yağ asitlerini kullanmaktadır (Chatham ve ark., 1996). Diabetik kardiyomiyopatide gözlenen kardiyak disfonksiyonun kalp duvarı uyuncunun ve kontraktilitenin azalması şeklinde iki mekanizması vardır.

Myoselüler hipertrofi ve myokardiyal fibrozis diabette kalp duvarının uyuncunu azaltmaktadır. Subendokardiyumda hücre aralarında glikojenin çökmesi de bu duruma katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, hipergliseminin bir sonucu olarak kolajen

çapraz bağlantısının artması da uyuncu azaltmaktadır. Kronik hiperglisemiye bağlı olarak çeşitli nonenzimatik reaksiyonlarla oluşan AGE ürünleri, normalde N ve C terminalleri ile çapraz bağlantı içeren kolajen moleküllerinin protein-protein çapraz bağları yapmasına neden olmaktadır (Bell, 2003).

Yukarıda da kısaca söz edildiği gibi, kalp normal koşullar altında ATP gereksinimini karbohidrat ve yağ asiti metabolizmasından karşılamaktadır. Yağ asiti metabolizması ile kazanılan ATP düzeyi daha yüksek olmasına karşın oksijen tüketimi göz önüne alındığında glukoz oksidasyonu çok daha efektifir (Bell, 2003).

Diabetik kalpte glukoz taşıyıcısı 4 (GLUT4) translokasyonu, GLUT4 protein ve mRNA düzeyleri azaldığı için myokardiyal glukoz transportu da azalmaktadır (Bell, 2003). Tersine, kalbe koroner lümeninden lipoprotein lipaz ve yağ asiti taşıyıcılarıyla yağ asiti transferi artmaktadır (Severson, 2004). Kalbin enerji gereksinimini yağ asitlerinden karşılaması uzun dönemde büyük hasara yol açmaktadır. Diabetik durumda yağ asiti oksidasyonu artmasına karşın kardiyomiyositlerin yağ asiti metabolize etme ve depolama kapasitesi aşıldığı için bu durum myokardın efikasitesini azaltmaktadır. Lipidler özellikle uzun zincirli açıl koenzim A formunda sitoplazmada birikmektedir. Uzun zincirli açıl koenzim A ise reaktif oksijen türevlerinin oluşumuna ve kardiyomiyositlerde apoptozise yol açan toksik bir madde olan seramide dönüşmektedir (Bielawska ve ark., 1997). Yağ asitleri peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptörlere (PPARs) bağlanabilirler. Bu reseptörler kardiyak enerji metabolizmasının regülatörlerinden biridir. Hayvanlarda PPAR α 'nın overeksprese edilmesi diabetik kardiyomiyopatiye benzer bir tablo oluşturmaktadır. Bu genin çıkarılması ise diabetik kardiyomiyopati gelişimine karşı koruyucu etki göstermektedir (Severson, 2004).

Diabetik kalpte daha az sıklıkla üzerinde durulan bir nokta ise amino asit metabolizmasıdır. Diabette RNA düzeyleri azaldığı için protein sentezi de azalmaktadır. Bu durum kalpte bulunan kontraktil protein düzeylerinde de kantitatif ve kalitatif bir düşüşe neden olmaktadır (Bell, 2003). Ayrıca sirküle olan

homosisteinin uptake'i de önem taşımaktadır, çünkü bu protein oksidatif stresi indüklemekte ve perivasküler matriks metalloproteinazları da aktive etmektedir (Tyagi ve ark., 2005).

Hiperglisemi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu artırarak glukotoksisiteye yol açmaktadır. (Wold ve ark., 2005). Hiperglisemi ile birlikte glukoz oksidasyonunun da belirgin ölçüde azalması glukozun alternatif yollar üzerinden kullanımını artırmaktadır. Yağ asiti oksidasyonun artması gibi, poliol yolağının aktive olması da NADH/NAD⁺ oranını artırır. Bu durumda glikolizis inhibe edilir. Glikolitik ara ürünler DAG'ın *de novo* sentezine ve protein kinaz C (PKC) aktivasyonuna katkıda bulunabilir. Bu yolak aynı zamanda kardiyomiyositlerin başlıca antioksidan savunma komponenti olan redükte glutatyonun sentezi için kullanılan NADPH'nin tükenmesine yol açar (Wold ve ark., 2005).

Nitrik oksit kardiyak fonksiyonun önemli bir düzenleyicisidir ve bu maddenin yapımı diabetik kalpte ciddi sonuçlara yol açacak düzeyde artmaktadır. Nitrik oksit hızlı ve spontan şekilde süperoksit anyonuyla reaksiyona girerek, çok güçlü bir oksidan ve sitotoksik ajan olan peroksinitrit oluşturur. Buna ek olarak, nitrik oksitin aşırı üretimi kardiyovasküler fonksiyonu baskılamaktadır (Wold ve ark., 2005).

Hücre içi kalsiyum düzeyi kardiyak kontraktilitenin önemli bir düzenleyicisidir. Kardiyomiyositlerde voltaj-bağımlı Ca⁺⁺ kanalları aracılığıyla hücreye Ca⁺⁺ girişi hücre içi Ca⁺⁺ kanalları (Ryanodin kanalları) ile sarkoplazmik retikulumdan Ca⁺⁺ salınımına yol açar. Daha sonra Ca⁺⁺ kontraktıl proteinlere ulaşmak üzere sitozol boşluğundan difüze olur ve troponin C'ye bağlanır. Bu süreç sonunda kardiyak kontraksiyon gerçekleşir. Kontraksiyon sonrasında sarkoplazmik retikulum Ca⁺⁺ pompası (SERCA2a), sarkolemmal Na⁺-Ca⁺⁺-exchanger ve sarkolemmal Ca⁺⁺ ATPaz'ın aktive olmasıyla kalsiyum değerleri diastolik düzeylerine iner (Endoh, 2006). Kalsiyum ve diğer iyonların dengesinin diabetik kardiyomiyopatide değiştiği çok sayıda çalışmada gösterilmiştir (Cesario ve ark., 2006). Değişen kalsiyum homeostazının kardiyak fonksiyonu bozmasının mekanizmaları arasında ATPazların

aktivitesinin (Zhao ve ark., 2006), sarkoplazmik retikuluma kalsiyum alınma kapasitesinin ve Na^+ - Ca^{++} gibi exchanger'ların aktivitesinin azalması sayılabilir (Lopaschuk ve ark., 1983; Pierce ve Dhalla, 1981). Sarkoplazmik retikulum kalsiyum depolarının, ayrıca kalsiyum salınma ve geri alınma hızlarının tip 1 diabetik rat miyositlerinde deprese olduğu gösterilmiştir. Na^+ - Ca^{++} -exchanger'ı da aynı şekilde baskılanmış, buna karşın, voltaj bağımlı L tipi kalsiyum kanallarında bir değişim saptanmamıştır. Sarkoplazmik retikulum fonksiyonunun bozulması SERCA2a ve ryanodin reseptör proteinlerinin azalması, ayrıca total ve nonfosforile fosfolamban proteinlerinin artması ile ilişkili bulunmuştur (Choi ve ark., 2002).

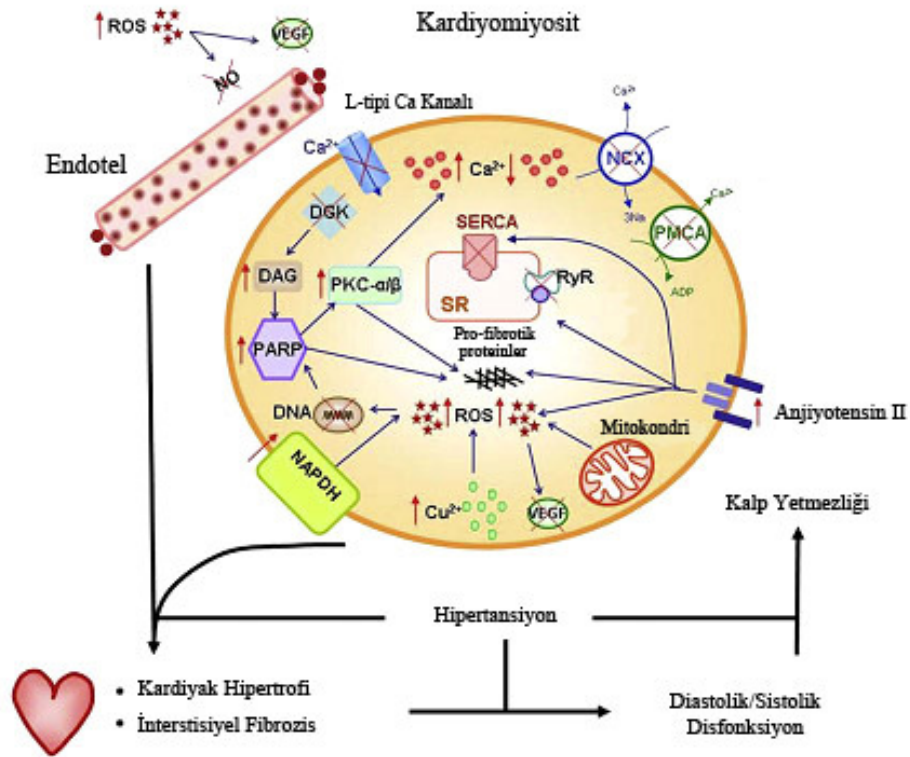
Diabetik kardiyomiyopatinin gelişimine aracılık eden diğer bir mekanizma da renin-angiotensin sisteminin aktivitesindeki artıştır (Fang ve ark., 2004; Dhalla ve ark., 1998). Diabetik kalplerde angiotensin II reseptör ekspresyonu ve mRNA ekspresyonları artmaktadır. Diabette renin anjiyotensin sisteminin aktive olması oksidatif stres artışıyla, ayrıca kardiyomiyositlerde ve endotel hücrelerinde apoptozis ve nekrozis ile bağlantılı bulunmuştur (Fiordaliso ve ark., 2000; Khatter ve ark., 1996; Christlieb ve ark., 1979; Frustaci ve ark., 2000).

Diabetiklerde anjiyogenezi düzenleyen yollar bozulduğu için bu hastalarda myokard infarktüsü sonrası kalp yetmezliği gelişme sıklığı ve mortalite oranı sağlıklı bireylere oranla daha yüksektir. Vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) kolateral damar oluşumunda etkili olduğu (Abaci ve ark., 1999) ve non diabetiklerde kardiyomiyositlerde ve arteriol düz kas hücrelerinde myokard infarktüsü sonrasında artan düzeyde eksprese olduğu gösterilmiştir (Shinohara ve ark., 1996). Bu açıdan bakıldığında, diabetiklerde gözlenen infarktüs sonrası mortaliteye değişen VEGF ekspresyonları da katkıda bulunabilir.

Kallikrein-kinin sisteminin de kardiyovasküler fonksiyonlarda rolü olduğu artık bilinmektedir. Kallikrein (KLK) kardiyovasküler sistemde hem protektif hem de hasarlayıcı etkileri bildirilmiştir (Tschope ve ark., 2002; Tschope ve Westermann, 2008). Bu etkiler G proteini ile kenetli reseptörler, Bradikinin 1 (B1R) ve Bradikinin

2 (B2R) reseptörleri aracılığıyla meydana gelmektedir. STZ diabetik ratlarda B1R ve B2R'nin upregüle olduğu bulunmuştur (Cloutier ve Couture, 2000). Paradoksal olarak, diabetik insan ve hayvanlarda KLK düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir ki bu durum kinin reseptör upregülasyonunun kompensatuvar olduğunu akla getirmektedir (Tschope ve Westermann, 2008).

Yukarıda söz edilen ve diabetik kardiyomiyopatiye eşlik eden tüm mekanizmalar şekil 1.2'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Diabetik kardiyomiyopatiye aracılık eden olası mekanizmalar arasındaki etkileşim (Khavandi ve ark., 2009)

1.2. Sempatik Sinir Sistemi

Dünya üzerindeki milyonlarca insanı etkileyen çeşitli kardiyovasküler hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilen sempatik sinir sistemi, kardiyovasküler sistemin nörohümorale düzenlenmesinde büyük önem taşır. Adrenerjik reseptörler ilk kez 1948 yılında Alquist tarafından α ve β olarak sınıflandırılmıştır. β -adrenoseptörler (β -AR) ise 1960'lı yıllarda β_1 - ve β_2 -AR olmak üzere iki alt tipe ayrılmıştır (Lands ve ark., 1967). 1989 yılında yeni bir alt tip olarak β_3 -AR'lerin tanımlanmasının (Emorine ve ark., 1989) ardından kalpte putatif β_4 -AR'ler denilen bir alt tipin daha olduğu gösterilmiş ve bunların aslında β_1 -AR'lerin propranolole rezistan tipi olduğu belirtilmiştir (Kaumann ve Molenaar, 1997). Kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynayan β -AR'lerin uyarılması bu sistem üzerinde değişik etkiler oluşturmaktadır.

1.2.1. Kardiyak β - adrenoseptörler

β -AR sinyal yolağı myokardiyal fonksiyonun düzenlenmesinde anahtar bir role sahiptir ve akut ya da kronik stres durumlarında kalbin performansını artırmaktadır. β -AR'ler G proteini ile kenetli reseptör ailesinin önemli bir üyesidir. Bütün β -AR'lerin yapısında ekstraselüler glikozillenmiş N- terminal bölgesi, sitozolik karboksil C-terminal kuyruğu, 3'er tane ekstraselüler ve intraselüler kıvrımla birbirine bağlanmış 7 transmembran segment bulunmaktadır. Bu yapı sözü edilen reseptörlere yüksek afinite ve stabilite sağlamaktadır. β -AR'lerin aktif bölgesine ligand bağlandığında, membrana gömülü olan 6. segment ile sitoplazmik 3. kıvrım arasındaki iyonik etkileşme bozularak, G proteini ile kenetlenmeye neden olur. Reseptör fosforilasyonu, desensitizasyonu ve "cycling"nden sorumlu olan kısım da bu intraselüler kıvrımdır.

İnsan ventrikülündeki total β -AR'lerin %70-80'ni β_1 -AR'ler, %30-20'ni ise β_2 -AR'ler oluşturur. Rat kardiyomiyositlerinde ise β_2 -AR oranı insandakinden daha fazladır (%30-40) (Xiao ve ark., 1998).

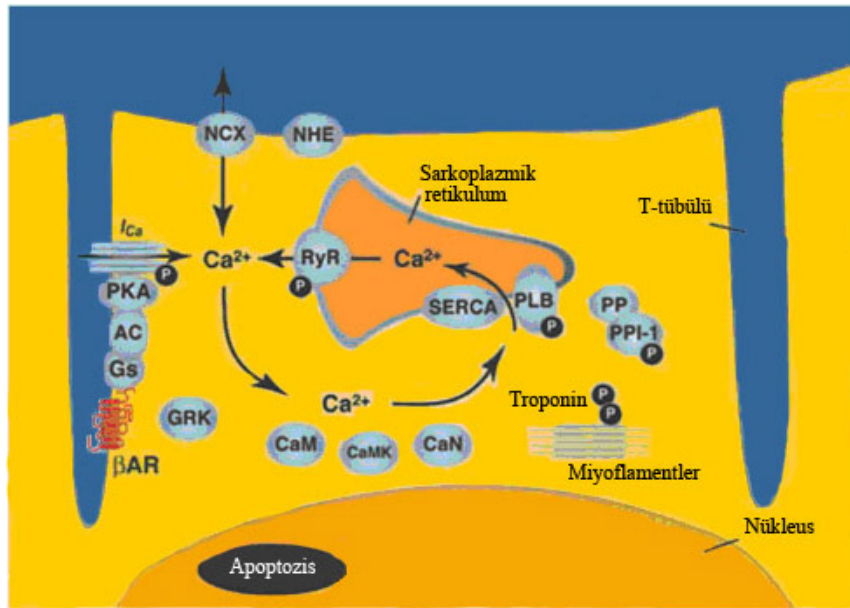
Hem β_1 hem de β_2 -AR'lerin uyarılmasının G_s proteinini (stimülatör etkinlikteki G proteini) ve buna bağlı olarak adenilat siklaz enzimini aktive ettiği ve böylece intraselüler cAMP (siklik adenozin mono fosfat) düzeyinin arttığı gösterilmiştir. cAMP de PKA'yı (Protein kinaz A, cAMP- bağımlı protein kinaz) aktive edip, hücre içi Ca^{++} düzeylerini regüle eden protein ve kontraktıl anahtar elementleri fosforile eder. Bu anahtar elementlerden biri olan sarkolemma membranındaki voltaj bağımlı L tipi Ca^{++} kanalları (Cav1.2) fosforile olduğunda açılarak hücreye Ca^{++} girişini sağlar. Hücre içine giren kalsiyum ryanodin reseptörlerini (RyR) uyararak sarkoplazmik retikulumda (SR) depolanan Ca^{++} 'un sitozole salınımına yol açar. Bu olayda Ca^{++} -kalmodulin bağımlı kinaz II (CaMKII) ve RyR'nin PKA aracılı fosforilasyonu rol oynar. Hücre içi Ca^{++} düzeyinin yükselmesi ve myozin hafif zincirin PKA aracılı fosforilasyonu, sırasıyla kontraktıl filamentlerin Ca^{++} 'ya yanıtverirliğini ve myozinin aktine afinitesini artırmaktadır. Bütün bu olaylar zincirinin sonunda kontraksiyon meydana gelmektedir (George ve Pitt, 2006).

Sitozoldeki serbest Ca^{++} SR'deki SR Ca^{++} -ATPaz (SERCa2) enzimi aracılığıyla SR'ye geri alınır. SERCa2 enziminin aktivitesi fosfolamban adlı bir protein ile sağlanmaktadır. PKA ve CaMKII tarafından fosfolambanın fosforilasyonu SR'ye Ca^{++} geri alımını artırır ve kalp kasında gevşeme oluşur. Bu mekanizmaya ek olarak, CaMKII de SERCa2'yı direkt olarak fosforile edebilmektedir. Hücre içi Ca^{++} düzeylerinin regüle edilmesi kalbin sağlıklı bir şekilde kasılıp gevşemesi için şarttır (Machackova ve ark., 2005).

Birçok memeli kardiyomiyositinde β_2 -AR stimülasyonu ile oluşan cAMP sinyalinin belirli bir bölge ile sınırlandığı ve bu durumun da daha düşük düzeyde pozitif inotropi oluşturduğu gösterilmiştir (Xiao ve ark., 2004, 1994; Kuschel ve ark., 1999a, 1999b; Chen-Izu ve ark., 2000; Kaumann ve ark., 1996, 1999; Altschuld ve ark., 1995; Kuznetsov ve ark., 1995; Zhou ve ark., 1997; Rybin ve ark., 2000). Bu durum β_1 -AR stimülasyonu aracılığıyla kardiyomiyositteki bütün L tipi Ca^{++} kanallarının açılması, β_2 -AR stimülasyonu aracılığıyla ise yalnızca reseptöre yakın L tipi Ca^{++} kanallarının aktivasyonu ile açıklanabilir (Zhang ve ark., 2003). Buna ek olarak, yetişkin rat kardiyomiyositlerinde β_1 -AR'ler yalnızca G_s ile, β_2 -AR'ler ise hem G_s

hem de pertusis toksinine duyarlı G_i ile kenetlenebilmektedir (Xiao ve ark., 1995). Kardiyomiyositlerin pertusis toksin ile inkübasyonunun L tipi Ca^{++} kanallarının β_2 -AR-aracılı olarak daha yaygın açılmasına ve β_1 -AR stimülasyonu ile gözlenen kontraktıl yanıtı benzer kontraktıl yanıtlara neden olması da bu gözlemi güçlendirmektedir (Zhang ve ark., 2003).

β_1 -AR'lerin sürekli uyarılması miyositlerde apoptozise yol açmasına karşın, β_2 -AR'lerin stimülasyonu antiapoptotik etki göstermektedir (Communal ve ark., 1999; Zaugg ve ark., 2000; Chesley ve ark., 2000). β_2 -AR'lerin bu antiapoptotik özelliğinin G_i kaynaklı olduğunu düşünmek mantıklıdır, gerçekten de pertusis toksin uygulandığında koruyucu etki ortadan kalkmaktadır (Communal ve ark., 1999).



Şekil 1.3. Kardiyak miyositlerinde gerçekleşen kasılma-gevşeme mekanizmaları (Lohse ve ark., 2003)

1.3. β_3 - Adrenoseptörler

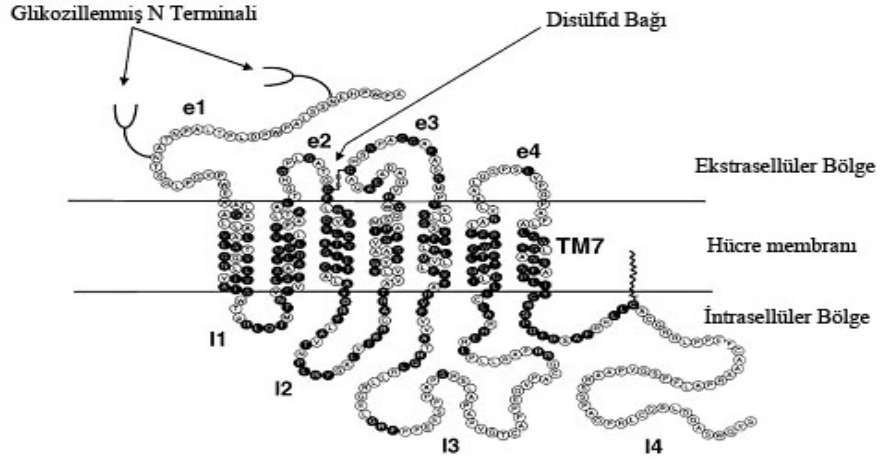
Moleküler yapısı ve farmakolojik profili ile β_1 - ve β_2 -AR'lerden ayrılan β_3 -AR'ler esas olarak adipoz dokuda bulunurlar (Lowell ve Spiegelman, 2000) ve stimülasyonları ile beyaz adipoz dokuda lipolizise, kahverengi adipoz dokuda ise termogeneze aracılık ederler. Buna ek olarak, β_3 -AR mRNA ekspresyonu mide, beyin, ince ve kalın barsak, safra kesesi ve mesanede de saptanmıştır (Berkowitz ve ark., 1994; Evans ve ark., 1996). Yakın zamanda yapılan çalışmalarda β_3 -AR'lerin kalpte de eksprese olduğunun ve uyarılması sonucu ilginç olarak negatif inotropik etki oluştuğunun gösterilmesi (Gauthier ve ark., 1996), β_3 -AR'lerin kardiyovasküler fonksiyonlarda önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir.

1.3.1. β_3 - Adrenoseptörlerin Yapısı ve Özellikleri

İnsan β_3 -AR'leri kodlayan gen ilk kez 1989'da klonlanmıştır (Emorine ve ark., 1989). Sonrasında rat, fare, sığır, maymun, köpek (Strosberg, 1997), koyun ve keçi gibi diğer türlerde de β_3 -AR geni klonlanmıştır (Forrest ve Hickford, 2000). Diğer iki alttipten farklı olarak β_3 -AR'leri kodlayan gen "intron"lar içerir. Yapısındaki çeşitli ekzonların varlığı ise alternatif bağlanma olasılığını ve böylece farklı farmakolojik özellik gösteren putatif reseptör izoformlarının varolma olasılığını yükseltir. Şekil 1.4'te gösterildiği gibi, β_3 -AR'ler de diğer β -AR'ler gibi G proteini ile kenetli süperailenin bir üyesidir (Rozec ve Gauthier, 2006). İnsan ve rat β_3 -AR'leri %79 oranında benzerdir, en büyük benzerlik transmembran bölgelerinde (%94), en az benzerlik ise C terminal kuyruğunda ve 3.intraselüler kıvrımdadır.

β_1 - ve β_2 -AR'lerin agonist-bağımlı desensitizasyonu reseptör fosforilasyonu, kenetsizlenme ve internalizasyonla ilgilidir. β_3 -AR'ler ise PKA fosforilasyon bölgesi olmadığı ve C terminal kuyruğunda daha az serin ve treonin rezidüleri yer aldığı için kısa süreli agonist-aracılı desensitizasyona rezistandır (Rozec ve Gauthier, 2006). Benzer şekilde, β_3 -AR'lerin sürekli stimülasyonu fonksiyonel etkiyi veya bağlanma bölgesi sayısını değiştirmez (Rouget ve ark., 2004). Sempatik sinir sisteminin sürekli

aktivasyonu sonrasında β_1 - ve β_2 -AR-aracılı yanıt azalışına karşın, β_3 -AR-aracılı yanıtın korunması bu bulgular ışığında daha net açıklanabilir (Rozec ve Gauthier, 2006).



Şekil 1.4. İnsan β_3 -adrenerjik reseptörün şematik gösterimi. Siyah renkli daireler her üç reseptör alt tipinde benzer olan aminoasitleri gösterir. e:Ekstrasellüler bölge, I:İntrasellüler bölge, TM: Transmembran bölge (Rozec ve Gauthier, 2006)

1.3.2. β_3 - Adrenoseptörlerin Farmakolojisi

β_3 -AR'ler farmakolojik olarak şu özelliklerle tanımlanırlar; 1) BRL37344, CL316243, SR58611 gibi selektif agonistlerin yüksek afinite ve potens göstermesi (Arch ve Kaumann, 1993; Emorine ve ark., 1994; Strosberg ve Pietri-Rouxel, 1996); 2) CGP12177A (Liggett, 1992; Kaumann ve Molenaar, 1996), busindolol (Liggett ve ark., 1993) ve pindolol (Blin ve ark., 1993) gibi çeşitli β_1 -AR ve/veya β_2 -AR antagonistlerinin parsiyel agonistik etki sergilemesi; 3) propranolol ve nadolol gibi konvensiyonel β -AR antagonistlerinin atipik olarak düşük afinite göstermesi (Rozec ve Gauthier, 2006). 4) selektif β_3 -AR antagonistleri (SR59230A) ile yanıtın blokajı (Gauthier ve ark., 2000).

1.3.2.1. Agonistler

β_3 -AR'ler katekolaminlerle uyarılırlar ve bu etki β_1 - ve β_2 -AR'ler için gerekenden daha yüksek konsantrasyonlarda ($1\mu\text{M}$ 'lık K_i değeri ile) gerçekleşir (Strosberg, 1997). β_3 -AR'ler 2 farklı sınıf selektif agonistlerle uyarılırlar. Birinci grup feniletanolaminlerdir; BRL37344 (Arch ve ark., 1984), SR58611A (Bianchetti ve Manara, 1990), CL316243 (Dolan ve ark., 1994) bu grupta yer alır. Ne var ki, BRL37344 ve SR58611A gibi bazı bileşiklerin β_1 - ve β_2 -AR'lere de düşük afinite ile bağlandığı gösterilmiştir (Dolan ve ark., 1994). İkinci grup ariloksipropanolaminlerdir. Bu grupta ise CGP12177A (Pietri-Rouxel ve Strosberg, 1995; Lenzen ve ark., 1998) ve siyanopindolol bulunur. CGP12177A β_1 - ve β_2 -AR antagonisti aynı zamanda da β_3 -AR'lerin zayıf agonistidir. CGP12177A'nın β_3 -AR agonisti olarak efikasite ve potensi β_3 -AR ekspresyon düzeyine bağlı olarak dramatik olarak değişmektedir (Wilson ve ark., 1996).

1.3.2.2. Antagonistler

β_3 -AR'ler klasik antagonistlerle düşük afiniteyle bloke olmaktadır (Baker, 2005). Prototip antagonist propranololun β_1 -, β_2 - ve β_3 -AR'lere sırasıyla 1.8, 0.8 ve 186 Nm K_i değerleri ile bağlandığı bildirilmiştir. Ayrıca birçok çalışmada, sotalol, alprenolol, karvedilol, metoprolol, atenolol ve bisoprolol gibi klinik kullanımı olan ilaçların β_1 - ve β_2 -AR'lere göre β_3 -AR'lere daha düşük afinite gösterdiği bulunmuştur (Baker, 2005). Yalnızca bir çalışmada ise karvedilolun β_3 -AR'lere yüksek afinitesi olduğu saptanmıştır (Candelore ve ark., 1999).

β_3 -AR'ler bupranolol gibi nonselektif β -AR antagonistleri ile bloke edilmektedir (Langin ve ark., 1991; Galitzky ve ark., 1993). Bununla birlikte, insan β -AR alttipleri ile yapılan çalışmalarda bupranolol'un β_3 -AR'lere β_1 - ve β_2 -AR'lerden daha düşük afinite gösterdiği bildirilmiştir (Baker, 2005; Candelore ve ark., 1999). β_3 -AR agonistlerinin gibi β_3 -AR antagonistlerin potensleri de değişmektedir. β_3 -AR'ler SR 59230A gibi selektif β_3 -AR antagonistleri ile de bloke edilebilmektedir. Ne var

ki, bu bileşik rodent β_3 -AR'leri için selektif bir antagonist olarak düşünülse de (Kaumann ve Molenaar, 1996; Manara, 1996; Kubo ve ark., 1997)., insan β_3 -AR'leri için selektif antagonist olarak yararı belirsizdir (Arch, 2002). Ayrıca SR 59230A antagonistten çok agonist özellikler sergileyebilir, hatta bazı sistemlerde tam agonist gibi davranabilir (Horinouchi ve Koike, 2001; Hutchinson ve ark., 2005). SR 59230A ile ilgili en yeni veri Sato ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (2005). cAMP akümülyasyonunu ölçen araştırmacılar, SR 59230A'nın fare β_3 -AR'lerini yüksek düzeyde eksprese eden hücrelerde parsiyel agonist gibi, düşük düzeyde eksprese eden hücrelerde ise kompetitif antagonist gibi davrandığını göstermişlerdir. Sato ve arkadaşları, ligandların aynı reseptörler üzerinde farklı yanıt profili göstermesi fenomeninden yola çıkarak gözlemledikleri etkiyi bu duruma bağlamıştır (2005).

Klonlanmış insan β_3 -AR'lerine selektif iki antagonist sentezlenmiştir; L-748,328 ve L-748,337. (Candelore ve ark., 1999). L-748,337'nin β_3 -AR için selektif özellik gösteren birkaç antagonistten biri olduğu düşünülmektedir. Ancak L-748,337 yaygın olarak kullanılmamaktadır (Vrydag ve Michel, 2007). Her iki bileşik de rodent β_3 -AR'lerine düşük afinite göstermektedir (Candelore ve ark., 1999).

1.3.2.3. β_3 -Antagonist Tedavisinin Terapötik Önemi

β_3 -AR aktivasyonunun negatif inotropik etkiye aracılık ettiği düşünüldüğünde, bazı araştırmacılar β_3 -AR blokajını kalp yetmezliği tedavisi için yeni bir tedavi yaklaşımı olarak görmektedir (Gauthier ve ark., 2000; Pott ve ark., 2006). Ne var ki, kronik β_3 -AR blokajının kalp yetmezliği üzerindeki etkisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Gan ve arkadaşları (2007), ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalmanın yetmezlikli rat kalbinde SR 59230A tedavisinin ikinci gününde belirgin olarak arttığını ekokardiyografi ile belirlemiştir. Bu bulgu β_3 -AR antagonistinin ratlarda kardiyak fonksiyonu iyileştirebileceğini göstermektedir. Araştırmacılar, kardiyak fonksiyondaki bu düzelmeyi şu şekilde açıklamıştır. Bilindiği gibi, β_3 -AR sinyali Gi-eNOS-NO-GC-cGMP keneti ile negatif inotropik etkiye yol açmaktadır (Gauthier ve ark., 1998; Varghese ve ark., 2000). Gan ve arkadaşlarının çalışmasında

(2007), β_3 -AR ve eNOS ekspresyonları ile cGMP düzeylerinin SR 59230A tedavili grupta, izoprenalin tedavili gruba göre azaldığı bulunmuştur. Bu bulgular, SR59230A'nın kardiyomiyositlerde β_3 -AR-aracılı katekolamin stimülasyonunu efektif olarak bloke ettiğini, buradan yola çıkarak, β_3 -AR ve eNOS ekspresyonu ile cGMP düzeylerini azaltarak β_3 -AR yolağını neredeyse normal hale getirdiğini düşündürmektedir. Germack ve Dickenson (2006), neonatal rat kardiyomiyositlerinde benzer bir bulgu yakalamış ve SR 59230A'nın noradrenalin stimülasyonu ile indüklenen β_3 -AR upregülasyonunu bloke ettiğini göstermiştir. Bu nedenle, β_3 -AR antagonistleri ile kardiyak fonksiyonun iyileştirilmesi büyük oranda β_3 -AR yolağının blokajı ve downregülasyonu ile ilişkilendirilebilir. Gan ve arkadaşlarının çalışmasındaki bütün bulgular, SR 59230A'nın sol ventrikül remodeling'ini kısmen geri döndürdüğünü göstermektedir. Bunun nedenleri çeşitli olabilir. Birincisi, β_3 -AR blokajı kardiyak fonksiyonu düzelterek sol ventrikül diastol sonu basıncını düşürür ve ventrikül duvarındaki gerilimi azaltır. İkincisi, kardiyak fonksiyonun iyileşmesiyle aşırı aktive olan nöroendokrin sistem kademeli olarak düzelebilir. Bunun yanısıra, β_3 -A'ler fibroblast proliferasyonu ile yakından ilişkilidir (Anesini ve Borda, 2002). SR 59230A rat embriyonik fibroblastlarında β_3 -AR agonisti olan ZD 7114'ün yol açtığı proliferasyonu engellemiştir. Bu nedenle, β_3 -AR antagonistleri ile interstisyel fibrozisin inhibe edilmesi kardiyak remodeling'in düzeltilmesinde kısmen etkili olabilir.

Sonuç olarak, kronik β_3 -AR blokajı yetmezlikli ratlarda kardiyak fonksiyonu düzeltebilir ve bu etki negatif inotropik etkinin azaltılması ve kardiyak remodeling'in düzeltilmesi gibi mekanizmalar üzerinden gerçekleşebilir.

1.3.3. Kalpteki β_3 - Adrenoseptörler

Kardiyak fonksiyonun düzenlenmesinde önemli rolü olan β -AR'lerin β_1 - ve β_2 - alttipi kalpte pozitif kronotropik ve inotropik etkilere aracılık ederken, kardiyak etkileri ilk defa 1996 yılında tanımlanan β_3 -AR'ler (Gauthier ve ark., 1996) negatif inotropik etki oluşturarak kalp kontraktilitesinde belirgin bir azalmaya yol açarlar (Gauthier ve ark., 2000).

1.3.3.1. β_3 - Adrenoseptörlerin Kontraktil Etkileri

In vivo insan deneyleri β_3 -AR agonistlerinin pozitif kronotropik etkiye yol açtığını göstermiştir. β_1 - ya da β_2 -AR antagonistleri ile ortadan kalkan bu etkinin barorefleks mekanizmaların uyarılması sonucu oluşan vazodilatasyona bağlı olduğu saptanmıştır (Wheeldon ve ark., 1993, 1994). Transplantasyon hastalarından alınan endomiyokardiyal biyopsilerde, nonselektif β_1 - ve β_2 -AR antagonisti olan nadolol varlığında, izoprenalinin pozitif inotropik etkisi negatif inotropik etkiye dönüşmektedir (Gauthier ve ark., 1996). Bu çalışmada bazı β_3 -AR agonistlerinin (BRL37344, SR58611A ve CL316243) negatif inotropik etki güçleri de karşılaştırılmış ve 0.1nM-1 μ M konsantrasyon aralığında uygulanan bu agonistlerin etki gücü sıralaması şu şekilde gerçekleşmiştir; BRL37344>SR58611A $\approx$ CL316243>>CGP12177A (Gauthier ve ark.,1996). Bir başka çalışmada ise β_3 -AR agonistlerinin kardiyodepresan etkilerinin metoprolol (β_1 -AR antagonisti) ya da nadolol varlığında (β_1 - ve β_2 -AR antagonisti) değişmediği, bupranolol (β_1 -, β_2 - ve β_3 -AR antagonisti) (Langin ve ark., 1991; Galitzky ve ark.,1993) ile ortadan kalktığı bulunmuştur (Gauthier ve ark., 1996). β_3 -AR'lerin sağlıklı insan ventrikülünde mRNA ekspresyonları ve resptör proteinleri PCR (Gauthier ve ark., 1996), Western Blot ve immunohistokimya deneyleri ile saptanmıştır (Moniette ve ark., 2001).

Ne var ki, bazı araştırmacılar insan atrium ve ventrikülünde BRL37344 de dahil olmak üzere β_3 -AR agonistlerinin kardiyodepresan etkisini saptayamamıştır (Kaumann ve

Molenaar, 1997; Molenaar ve ark., 1997). β_3 -AR parsiyel agonisti ve düşük afiniteli β_1 -AR agonisti olan pindolol insan atriumunda yalnızca pozitif inotropi oluşturmuş ve oluşan bu etki β_3 -AR selektif antagonisti L-748,337 ile ortadan kalkmamıştır (Joseph ve ark., 2003). Bu durum, etkinin β_3 -AR'ler üzerinden olmadığını akla getirirse de, insan atrial dokusunda insan β_3 -AR selektif monoklonal antikoru ile β_3 -AR'lerin belirlenmesi bu yaklaşımın doğru olmadığını düşündürmektedir (Chamberlain ve ark., 1999). İnsan sağ atrial trabekulasında BRL37344'ün pozitif inotropik etki yapması ve bu etkinin nadolol varlığında kaybolması (Pott ve ark., 2003), BRL37344'ün bu dokudaki etkisini β_3 -AR'ler üzerinden değil de β_1 -AR ve β_2 -AR'ler üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir. Bu araştırmada insan ventrikül preparatında izlenen direkt negatif inotropik etki saptanamamıştır (Rozec ve Gauthier, 2006).

β_3 -AR agonistlerinin etkisi çalışılan türe göre de farklılık göstermektedir. İnsan ve rodentlerde β_3 -AR agonistlerinin potens ve efikasesi farklı bulunmuştur (Rozec ve Gauthier, 2006). Bu agonistlerin insan kardiyak dokusundaki etkisi daha belirgindir. Seçilen yöntem de agonistlerin etkisini değiştirebilir (Rozec ve Gauthier, 2006). Örneğin, kobay atriumunda SR58611A (Bianchetti ve Manara, 1990) ve CL316243 (Dolan ve ark., 1994) ile inotropi ve kronotropide farklılık yakalanmamasına karşın Langendorff-perfüze kobay kalplerinde β_3 -AR-aracılı negatif inotropi gözlenmiştir (Kitamura ve ark., 2000). Köpeklerde i.v. β_3 -AR agonisti uygulaması vazodilatasyona neden olarak baroreseptör mekanizmaları aktive eder ve pozitif kronotropik etki görülmesine yol açar (Tavernier ve ark., 1992). Denervasyon yapıldığında etkinin yok olması varsayılan hipotezi desteklemektedir (Berlan ve ark., 1994; Shen ve ark., 1994, 1996). Diğer bir araştırmanın bulguları ise otonomik blokaj sonrasında CL 316243'ün köpeklerde kronotropi üzerindeki etkisinin ortadan kalktığını ve pozitif inotropik etki oluştuğunu göstermektedir. Köpek papiller kasında gözlenen β_3 -AR-aracılı negatif inotropi insan myokardındakinden düşük düzeydedir (köpekte %30, insanda %50). Köpeklerde β_3 -AR agonistlerinin etki gücü sıralaması şöyledir (CGP12177A>BRL37344≈ SR58611A >> CL316243) (Gauthier ve ark., 1999). Köpek kardiyomiyositlerinde saptanan etkinin β_3 -AR-aracılı olduğu, bu reseptör agonistlerinin kontraksiyon ve relaksasyonu doz-bağımlı olarak azaltması ve

etkinin β_1 -AR ya da β_1/β_2 -AR antagonistleri varlığında devam etmesi ile doğrulanmıştır. β_3 -AR antagonistleri bupranolol ve L748,337 ile ise etki tümüyle kaybolmaktadır (Rozec ve Gauthier, 2006). Bu verilere ek olarak, köpeklerde β_3 -AR transkript ve proteinleri de gösterilmiştir (Cheng ve ark., 2001).

Rat atriasında β_3 -AR agonistleri (CL 316243, ZD2079 ve SR 58611A), kolon düz kasını gevşettikleri dozdan çok daha yüksek dozlarda kullanıldıklarında bile kronotropi ve inotropide bir değişime yol açmamaktadır (Kauman and Molenaar 1996, Cohen ve ark., 1999). Rat ventrikül dokusunda ise BRL37344 çok küçük bir etki oluşturmuştur (Gauthier ve ark., 1999). Gauthier ve arkadaşları (1999) bu bulguyu rat myokardındaki β_3 -AR ekspresyonunun çok düşük olması ile açıklamıştır (Gauthier ve ark., 1999). Dinçer ve arkadaşları (2001) ise rat kalbinde β_3 -AR transkripti ve proteinini belirgin olarak saptamıştır.

Tavernier ve arkadaşları (2003), kontrol farelerde (wild-type) β_3 -AR proteinin bulunmadığını ve β_3 -AR agonistlerinin kontraktilite üzerinde herhangi bir anlamlı etki yapmadığını bildirmiştir. Ne var ki, insan β_3 -AR'lerinin overeksprese edildiği farelerde β_3 -AR'lerin uyarılmasının insan ventriküler dokularından alınana benzer şekilde negatif inotropik etki meydana getirdiğini belirlemişlerdir (Tavernier ve ark., 2003). Bir *in vivo* çalışmada ise β_3 -AR overekspresyonu yapılan farelerde β_3 -AR agonisti L755,507 pozitif inotropi oluşturmuştur (Kohout ve ark., 2001). Seçilen yöntem (*ex vivo* ya da *in vivo*) ve farelerin genetik zemini (B6D2/F1 ya da B6S/F1 hibridi) bu durumu açıklamakta faydalı olabilir (Rozec ve Gauthier, 2006). Gözden kaçırılmaması gereken bir başka nokta ise birinci çalışmada farenin tek bir dizisi (a single line of mice) araştırılırken, ikincide birçok farklı transjenik diziden toplanan verinin kullanılmış olmasıdır (Rozec ve Gauthier, 2006). Kullanılan β_3 -AR agonisti ve seçilen doz da sonuçlara yansımış olabilir (Rozec ve Gauthier, 2006).

1.3.3.2. β_3 - Adrenoseptörlerin Elektrofizyolojik Etkileri

Kalpde β_3 -AR'lerin aracılık ettiği negatif inotropik etki mekanizmaları hala tam olarak aydınlatılamamış olmasına karşın veriler etkinin eksitasyon-kontraksiyon kenetindeki ve transmembran iyon kanalları aktivitesindeki farklılıklar ile bağlantılı olduğunu göstermektedir (Rozec ve Gauthier, 2006). β_3 -AR'lerin kalpteki elektrofizyolojik etkileri tam olarak belirlenememiştir. Köpek ve rat kardiyomiyositlerinde ve spontan atan kobay kalbinde, BRL37344'ün etkisinde L tipi Ca^{++} kanalları inhibisyonunun ve hücre içi Ca^{++} transienti amplitüdü azalmasının rolü vardır (Kitamura ve ark., 2000; Cheng ve ark., 2001; Zhang ve ark., 2005b). β_3 -AR agonistleri insan endomiyokardiyal biyopsilerinde ventriküler aksiyon potansiyelinin repolarizasyon fazında hızlanmaya ve amplitüdde azalmaya yol açmıştır (Gauthier ve ark., 1996). Bu yanıt kistik fibrozisli hastalardan alınan ventrikül dokularında saptanamamıştır (Leblais ve ark., 1999). Kistik fibrozisli olan ve olmayan hastalardan alınan sonuç farklılığının nedeni, kistik fibrozisli kalp kasında nonfonksiyonel olan CFTR kanallarından akan klorür repolarize edici akımın (chloride repolarizing current flowing through CFTR channels) aktivasyonu olabilir (Rozec ve Gauthier, 2006). β_3 -AR'lerinin aksiyon potansiyeli repolarizasyonu üzerindeki etkisi aynı zamanda potasyum kanalları ile ilgili olabilir. Potasyum akımının olaydaki rolü çelişkilidir (Rozec ve Gauthier, 2006). Rekombinant bir sistemde β_3 -AR'lerin potasyum kanalı KvLQT1/MinK'yı uyardığı gösterilmiştir (Kathofer ve ark., 2000). Ne var ki, bu çalışmada, tercihli β_3 -AR agonistleri seçilmemiştir. BRL37344 kobay kardiyomiyositlerinde potasyum kanalı K_{iks} 'yi inhibe ederek aksiyon potansiyel süresinin uzamasına yol açmıştır (Bosch ve ark., 2002). Sonuç olarak, β_3 -AR'lerin repolarizasyondaki rolünün aydınlatılabilmesi için yeni bulgular gerekmektedir (Rozec ve Gauthier, 2006).

1.3.3.3. β_3 - Adrenoseptörlerin Sinyal Yolakları

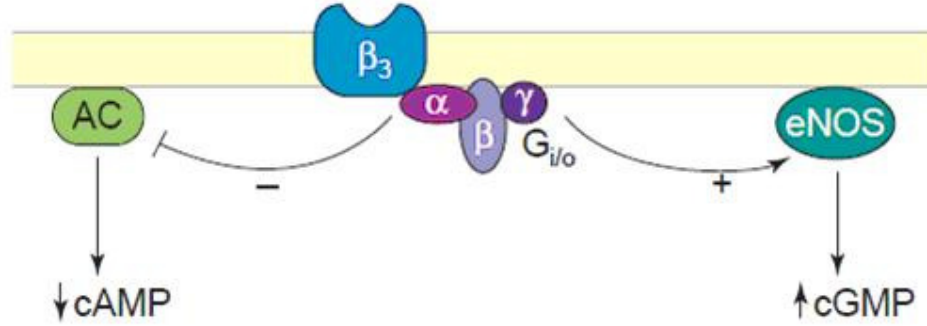
β_3 -AR'ler kalpte G_i proteinleri ile kenetlidirler. İnsan ventrikül dokusu, köpek ve rat kardiyomiyositlerinde gözlenen negatif inotropik etki pertussis toksin

inkübasyonundan sonra ortadan kalkmıştır (Gauthier ve ark., 1999; Cheng ve ark., 2001; Zhang ve ark., 2005b). Rodent adipositlerinde β_3 -AR'ler hem G_s ve hem de G_i proteini ile kenetli olabilir (Chaundry ve ark., 1994; Begin-Heick, 1995). Yakın zamanlı bir çalışmada, rekombinant bir sistemde, fare β_{3b} -AR izoformunun hem G_s hem G_i 'ya; β_{3a} izoformunun ise yalnızca G_s 'e bağlandığı bulunmuştur (Hutchinson ve ark., 2002). Buna karşın kalpte β_3 -AR'lerin iki farklı izoformuna ya da bunların sinyalizasyon yollarına ilişkin yeterli veri elde edilememiştir (Rozec ve Gauthier, 2006).

İnsan ventrikülünde G_i proteini aktivasyonu adenilat siklazı inhibe etmez, ne var ki, hem endotel hücrelerinde hem de ventriküler miyositlerde eNOS ekspresyonu aracılığıyla (Gauthier ve ark., 1998) nitrik oksit yolağını uyarır (Schulz ve ark., 2006) (Şekil 1.5). β_3 -AR geni çıkarılmış farelerde izoprenalin yanıtı kontrollere (wild type) oranla yüksek bulunmuştur. Bu yanıt β_3 -AR geni çıkarılmış farelerde NOS inhibisyonundan sonra da değişmez ancak kontrol (wild type) farelerde artar (Varghese ve ark., 2000). Kontrol hayvanların kalbinde β_3 -AR transkripti ya da proteini bulunamaması etkinin damarlardaki β_3 -AR'lerden kaynaklandığını akla getirmektedir. Ayrıca, bu çalışma β_3 -AR/NO yolağının kalpte katekolaminlerin pozitif inotropik etkilerine karşı bir negatif “feedback” mekanizma olabileceğini öne sürmektedir (Rozec ve Gauthier, 2006).

NO yapımı guanilat siklazı (soluble guanilat siklaz) uyararak hücre içi cGMP (siklik guanozin monofosfat) düzeyini yükseltmektedir (Gauthier ve ark., 1998). Rat ve köpek miyositlerinde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar alınmıştır (Cheng ve ark., 2001; Zhang ve ark., 2005b). cGMP düzeyinin yükselmesi farklı hedefleri stimüle edebilir: 1) cGMP bağımlı protein kinaz G aktivasyonu L tipi Ca^{++} kanalları regülasyonu ile Ca^{++} akımını azaltabilir (Mery ve ark., 1991; Wahler ve Dollinger, 1995) ya da Ca^{++} transientindeki değişimden bağımsız olarak miyofilament proteinlerinin kontraktıl yanıtını azaltabilir (Shah ve ark., 1994; Goldhaber ve ark., 1996; Yasuda ve Lew, 1997), 2) cGMP ile uyarılan fosfodiesterazlar (Beavo, 1995) cAMP düzeylerini azaltabilir (Mery ve ark., 1991).

Bu mekanizmalardan farklı olarak, NO, cGMP'den bağımsız bir şekilde, sitokrom C oksidaz (Torres ve ark., 1995), kreatin fosfokinaz ya da L tipi Ca^{++} kanalları (Gross ve ark., 1996) gibi anahtar proteinlerin (Campbell ve ark., 1996) kovalent modifikasyonları ile kardiyak fonksiyonu düzenleyebilir (Rozec ve Gauthier, 2006).



Şekil 1.5. β_3 -AR'lerin kardiyomiyositlerdeki olası hücre içi sinyal yolları (Gauthier ve ark., 2000)

İnsan atrial trabekulasında, BRL37344 kontraktıl yanıtı β_3 -AR'ler üzerinden değiştirmez ancak doğrudan eNOS aktivitesini uyarak NO yapımını artırır (Pott ve ark., 2003). Bu bulgu insanda atria ve ventrikül myokardındaki β_3 -AR stimülasyonunun farklı olaylara aracılık ettiğini öne sürmektedir. Bu durum; (i) insan atria ve ventrikülündeki kenetlenme farklılığından, (ii) sağ atrium β_3 -AR ekspresyonunun sol ventriküldekine göre az olmasından, (iii) atriumda eNOS overekspresyonundan (Bloch ve ark., 1999) kaynaklanabilir (Rozec ve Gauthier, 2006).

β_3 -AR'lerin atriada bulunma nedeni β_1 - ve β_2 -AR'lerin aşırı stimülasyonu sonucu oluşabilecek aritmi ya da sinüs taşikardisine karşı koruyucu bir negatif “feedback” mekanizma olabilir (Rozec ve Gauthier, 2006), ne var ki, bu hipotez Tavernier ve arkadaşlarının (2003), β_3 -AR overekspresyonu yapılmış transjenik farelerde β_3 -AR stimülasyonu sonucu pozitif kronotropi gözlemlenmesi ile örtüşmemektedir (Rozec ve Gauthier, 2006). Bu çelişkinin nedeni, kullanılan sağ atrium dokularının valvular ya

da koroner hastalığı olan bireylerden alınmasına bağlı olarak gözlenen β_3 -AR yanıtının hastalık durumundan ya da kullanılan ilaçlardan etkilenmiş olması şeklinde yorumlanabilir (Rozec ve Gauthier, 2006).

1.3.4. Damarlardaki β_3 - Adrenoseptörler

β -AR'lerin uyarılması vasküler düz kasta gevşemeye yol açarak, farklı organlara kan akışını kontrol etmektedir. Hem β_1 hem de β_2 -AR'lerin vazodilatasyonda rolü vardır. Klasik olarak β_2 -AR'ler rezistans arterlerde baskın bulunan β -AR alttipidir (Lands ve ark., 1967), bununla birlikte, her bir β -AR alttipinin olaya katılım derecesi türe ve kullanılan vasküler yatağa bağlı olarak değişmektedir (Osswald ve Guimaraes, 1983). Örneğin koroner ve serebral arterlerde β_1 -AR'ler dominanttır (O'Donnell ve Wanstall, 1985). Ratlarda yaptıkları *in vivo* çalışmalarda, Shen ve arkadaşları (1994, 1996) CL 316 243 ve BRL 37344 hipotansiyon ve periferik vazodilatasyon oluşturmuş ve bu etki β_1 ve β_2 -AR blokajından sonra da ortadan kalkmamıştır. Bu bulgu BRL 37344'ün, CL 316 243'den daha az olmak koşuluyla potent bir β_3 -AR agonisti olduğunu düşündürmektedir. Benzer şekilde, köpeklerde yapılan bir *in vivo* çalışmada ise BRL 37344 hipotansiyon yapmıştır (Tavernier ve ark., 2003). Aynı etki BRL 37344 ve CL 316 243 ile normal ve sinoaortik denerve köpeklerde de gözlenmiştir (Berlan ve ark., 1994). β_3 -AR stimülasyonunun vasküler etkileri köpeklerde diğer türlere göre daha belirgindir (Shen ve ark., 1996). Rat torakik aortasında pindolol'ün vazodilatasyon yaptığı ve bu etkinin propranolole rezistan olduğu bulunmuştur (Clark ve Bertholet, 1983). Başka çalışmalarda da rat karotis ve torakik aortasındaki izoprenalin- aracılı vazodilatasyonun β_1 - ve β_2 -AR blokajına dayanıklı olduğu gösterilmiştir (Trochu ve ark., 1999). Fenilefrin ile kastırılan torakik aortada BRL 37344 doz-bağımlı gevşemeye yol açmıştır (Trochu ve ark., 1999). Benzer etkiler SR 58611A ile de gözlenmiş ve etki, nadolol ile değil ama β_3 -AR blokörü SR 59230A ile ortadan kalkmıştır (Trochu ve ark., 1999). Endotelin çıkarılmasına bağlı olarak β_3 -AR-aracılı gevşeme yanıtının kaybolması ise β_3 -AR'lerin rat torakik aortasında esas olarak endotel hücrelerinde bulunduğunu göstermektedir (Trochu ve ark., 1999). Ne var ki, literatürde bu bulgularla çelişen

veriler de yer almaktadır. Fenilefrin ile kastırılmış aortik halkalarda SR 59230A ile BRL 37344 ya da SR 58611A aracılı gevşemeler bloke edilememiştir. Buna ek olarak, CL 316243 de gevşemeye yol açmamıştır. Yakın zamanlı bir çalışmada, endotelin-1 ile kastırılan damarlarda SR 58611A ve nebivolol gevşemeye neden olmuş ve bu etki β_3 -AR antagonisti L-748,337 ile ortadan kalkmıştır (Rozec ve ark. 2006). Bu da nebivololun rat torakik aortasında yol açtığı NO-aracılı gevşemede en azından kısmen β_3 -AR'lerin rolü olduğunu göstermektedir (De Groot ve ark., 2003).

Daha önce de belirtildiği gibi, rat torakik aortasında β_3 -AR'ler esas olarak endotelde bulunur ve β_1 - ve β_2 -AR'ler ile bağlantılı olarak NO sentaz yolağını aktive ederek cGMP düzeylerini artırır (Trochu ve ark., 1999). Bu etki kalptekinden farklı olarak G_i proteini aktivasyonu ile kenetli değildir (Rautureau ve ark., 2002). Ayrıca β_3 -AR'lerin damardaki yanıtına birçok potasyum kanalı da aracılık etmektedir. B_{KCa} , K_{ATP} , K_v rat torakik aortasında β_3 -AR-aracılı gevşemeye katkıda bulunan potasyum kanalları arasında sayılabilir (Dumas ve ark., 1999).

1.3.5. β_3 - Adrenoseptörlerin Kardiyovasküler Patolojilerdeki Yeri

1.3.5.1. Kalp Yetmezliği

Hem insan (Moniette ve ark., 2001) hem de köpek kardiyomiyositlerinde (Morimoto ve ark., 2004) kalp yetmezliği sonucunda β_3 -AR'lerin “upregüle” olduğu bildirilmiştir. Ne var ki, insan deneylerinde reseptör düzeyinde gözlenen bu artış β_3 -AR-aracılı fonksiyonel yanıtlarla bağlantılı görünmemektedir. Yetmezlikli insan kalbinde BRL37344'nin negatif inotropik etkisinin reseptör ekspresyonundaki artışa karşın azaldığı saptanmıştır (Moniette ve ark., 2001).

Hayvan modellerinde ise kalp yetmezliğinde görülen β_3 -AR “upregülasyon”u β_3 -AR-aracılı negatif inotropik etki artışıyla paraleldir (Cheng ve ark., 2001). Veriler

arasındaki tutarsızlık tür farklılığı ve kalp yetmezliğinin derecesi gibi nedenlerle açıklanabilir (Rozec ve Gauthier, 2006).

β_3 -AR'lerin kalp yetmezliği patogeneziindeki yeri şu noktalarla özetlenebilir; (i) β_3 -AR'ler $G_{i/o}$ proteini ile kenetlidir ve bu protein kalp yetmezliğinde “upregüle” olmaktadır (El-Armouche ve ark., 2003), (ii) β_3 -AR'ler agonist desensitizasyonuna relatif olarak rezistandır (Strosberg, 1997), (iii) β_3 -AR'ler PKA ve β ARK için fosforilasyon bölgeleri olmadığından heterolog desensitizasyona da dayanıklıdır (Strosberg, 1997), (iv) β_3 -AR'ler β_1 - ve β_2 -AR'ler için gerekenden çok daha yüksek katekolamin konsantrasyonlarında uyarılırlar (Pietri-rouxel ve Strosberg, 1995), (v) β_3 -AR'ler insanlarda kalp yetmezliğinin son döneminde “upregüle” olurlar (Morimoto ve ark., 2004).

Neonatal rat kardiyomiyositlerinde, kronik noradrenalin maruziyetinin β_3 -AR sayısını artırdığı, β_1 - ve β_2 -AR sayısını ise azalttığı bildirilmiştir (Germack ve Dickenson, 2006). Yetmezlik görülen sol ventrikülde β_1 - ve β_3 -AR (2-3 kat artış) düzeylerinin zıt şekilde modifiye olması insanlarda kalp yetmezliğine bağlı olarak gözlenen disfonksiyon tablosunu yorumlamakta yararlı olabilir. β_3 -AR “upregülasyon”u hastalığın başlangıç döneminde kardiyak bozukluk oluşumunu önleyen kompensatuvar bir mekanizma olarak ortaya çıkmaktadır. β_3 -AR overekspresyonu yapılan farelerde histolojik olarak miyosit hipertrofisi ya da fibrojenez saptanmaması, β_3 -AR stimülasyonunun yetmezlik kaynaklı hasardan bağımsız olduğunu düşündürmektedir (Tavernier ve ark., 2003). β_3 -AR stimülasyonu sonucu izlenen olası protektif etki; (i) L tipi Ca^{++} kanallarında ve kalsiyum “overload”unda azalma, (ii) NO artışı ile diastolik fonksiyonun iyileşmesi, (iii) negatif inotropik etki ile hücre içi ATP ve kreatinin fosfat içeriğinin korunması, (iv) arteriyel ve venöz dilatasyon sonucu “afterload” ve “preload”un azalmasına bağlı vazodilatasyon gelişmesi ve bu şekilde oksijen sunumu ile tüketimi arasındaki dengenin düzeltilmesi (Rozec ve Gauthier, 2006) ile ilişkili olabilir.

Sağlıklı kalpte stres ve fiziksel efor gibi yoğun adrenerjik uyarım durumunda β_3 -AR-aracılı negatif inotropik etki kalpte koruyucu (safety valve) etki gösterirken, kalp yetmezliğinin ilerlemesine bağlı olarak bu uyarı miyokardiyal depresyonu artırarak maladaptif hale gelmektedir. Yetmezlikli ratlarda, β_3 -AR agonistleri kalp fonksiyonunu belirgin ölçüde bozmakta ve kardiyomiyositlerde apoptozise yol açmaktadır. Bir başka anlatımla, β_3 -AR düzeylerinin aşırı yükselmesi yetmezlikli kalpte disfonksiyona zemin hazırlayabilmektedir (Kong ve ark., 2004).

β -AR blokajı kalp yetmezliği olan hastalarda sağkalımı artırmaktadır, bu etkinin mekanizması blokerlerin damarlardaki etkisinden kaynaklanıyor olabilir. Üçüncü kuşak β -AR blokerlerin vazodilatör etkileri bulunmaktadır (Toda, 2003) ve kalp yetmezliği tedavisinde nonvazodilatör olanlara göre daha efektif olabilirler. Bu ilaçların kullanımı özellikle endotelial vazodilatasyon rezervi kısıtlı, sinus nodunda yaşa bağlı fibrotik değişimler gözlenen, yüksek oranda hipotansiyon ve bradikardi riski olan yetmezlikli yaşlı hastalarda önem kazanmaktadır. Ayrıca NO salınımını indükleyen ve oksijen radikallerinin şelasyonunu sağlayan bütün blokerler miyokardiyal hücrelerde apoptozisi, nekrozisi ve/veya proliferasyonu düzeltmek gibi ekstra yarar göstermektedir. Aslında busindolol ve nebivolol gibi bazı β -blokerler endotel bağımlı gevşetici özellikleri nedeniyle β_3 -AR agonisti olarak tanımlanmaktadır (De Groot ve ark., 2003). Busindolol kullanan ileri düzeyde kalp yetmezlikli hastalarda yapılan bir çalışmada, bu maddenin sağkalım üzerinde herhangi bir pozitif etkisi saptanmamıştır (beta bloker evaluation of survival trial investigators, 2001).

1.3.5.2. Hipertansiyon

Hipertansiyon pre- ve postsinaptik sempatik disfonksiyon sonucu vazokonstriktör ve vazodilatör mekanizmalar arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak gelişen bir hastalıktır (De Champlain, 2001). Hem insan (Michel ve ark., 1990) hem de hayvan (Feldman, 1987; Michel ve ark., 1990; Dogrell ve Surman, 1995) deneylerinde, sistemik hipertansiyonla ilgili olarak β -adrenerjik yanıtta düşüş saptanmıştır.

Saptanan temel farklılıklar; β -AR “downregölasyon”u, G proteini değişimleri ve β -AR-G protein efektör kenetindeki bozukluklardır (Werstiuk ve Lee, 2000). Hipertansif ratlarda farklı damar preparatlarında β -AR-aracılı yanıtların aynı kaldığı (Borkowski ve ark., 1992, Boonen ve ark., 1993) ya da arttığı (Carvalho ve ark., 1987) bildirilmiştir. Bu farklı bulgular hipertansiyonun derecesi (Borkowski ve ark., 1992), kullanılan kastırıcı ajan (Konishi ve Su, 1983; Carvalho ve ark., 1987) ve prekontraksiyon düzeyi (Konishi ve Su, 1983; Carvalho ve ark., 1987) gibi etkenlerle yorumlanmaya çalışılmıştır. Çalışmaların tamamının kesişim noktası, kullanılan nonselektif β -AR agonisti izoprenalin ile oluşan β -AR-aracılı yanıtla hangi reseptör alttipinin ne kadar katkıda bulunduğunun saptanamamasıdır (Rozec ve Gauthier, 2006).

Hipertansiyonda β_3 -AR’lerin rolü çok iyi aydınlatılamamıştır. Köpeklerde perinefritik hipertansiyon modelinde β_3 -AR stimölasyonu yararlı bulunmuştur (Donckier ve ark., 2001). 12 haftalık spontan hipertansif ratlarda β_3 -AR ekspresyonunun arttığı (Rozec ve Gauthier, 2006) gösterilmiş, ne var ki, bu durum β_3 -AR-aracılı vazodilatasyon artışı ile bütünüyle ilişkilendirilememiştir (Mallem ve ark., 2004).

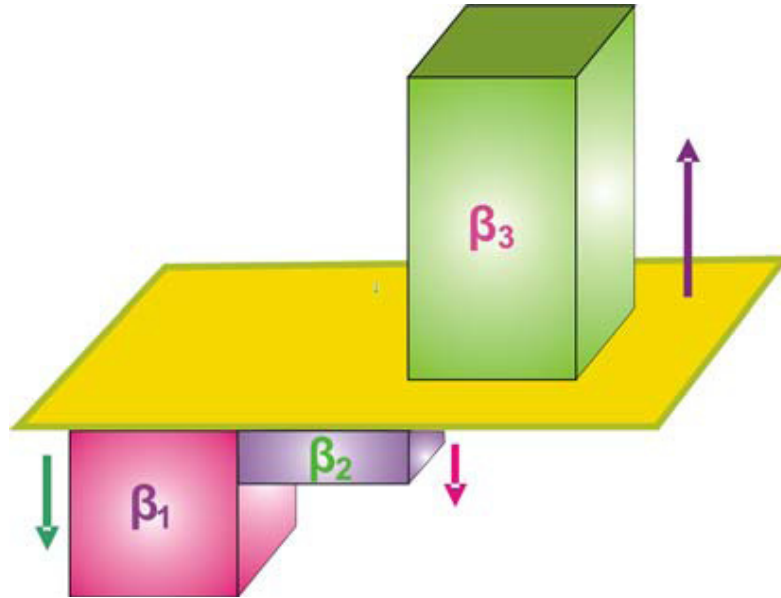
Bunlara ek olarak, β blokerler içinde yalnızca nebivolol’ün, NO donörü özelliği de olduğu için endotelial fonksiyonu iyileştirdiği, buna karşın bu etkinin ilacın β bloker karakterinden değil de NO düzeyindeki artıştan kaynaklandığı gösterilmiştir (Thuillez ve Richard, 2005).

1.3.5.3. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus, mikroanjyopati ve ateroskleroz gibi vasküler komplikasyonların eşlik ettiği bir hastalıktır. İnsan (Johnstone ve ark., 1993) ve hayvan (Turner ve White, 1996) deneylerinde diabette endotel kaynaklı yanıtların azaldığı bulunmuştur. 14 haftalık diabetik ratlarda β_1 -AR mRNA ve protein düzeylerinin azaldığı, β_3 -AR mRNA ve protein düzeylerinin ise arttığı gösterilmiştir (Dincer ve ark., 2001).

Kalpdeki β_1 -, β_2 - ve β_3 -AR protein düzeylerinin oranı sağlıklı ratlarda 62:30:8; diabetik ratlarda ise 40:36:23 olarak belirlenmiştir (Dincer ve ark., 2001). 2 haftalık insulin tedavisi ile diabetik ratların artan β_3 -AR mRNA düzeyleri kısmen düşerken, protein düzeyleri belirgin olarak azalmış; β_1 -, β_2 - ve β_3 -AR alttipleri oranı da 57:33:10 olarak değişmiştir (Dincer ve ark., 2001). Bu veriler kronik diabette saptanan kardiyak disfonksiyonu kısmen de olsa açıklayabilmektedir. (Şekil 1.6).

Moleküler β_3 -AR varyasyonları obezite, insulin rezistansı ve tip 2 diabete zemin hazırlayabilir. Tip 2 diabetin erken döneminde (Walston ve ark., 1995) ve Japon tip 2 diabetik hastalarda (Sakane ve ark., 1997; Sakane ve ark., 1998) gözlenen diabetik retinopati ve nefropatinin Trp64Arg polimorfizmi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Homozigot β_3 -AR geni Trp64Arg mutasyonu diabet ile ilişkili bulunmuştur (Xiu ve ark., 2004). Özetle bu bulgular β -AR'lerden özellikle β_3 -AR'lerin diabetik kardiyovasküler komplikasyonlarda etkili olabileceğini göstermektedir (Altan ve ark., 2007).



Şekil 1.6. Diabetik rat kalbinde β -AR alttiplerinde gözlenen değişiklikler (Altan ve ark., 2007)

1.3.5.4. Koroner Arter Hastalığı

β_3 -AR'lerin insanda mikrokoroner arterlerde lokalize olması bu reseptör alttipinin koronaropatiye önemli bir katkısı olduğu fikrini vermektedir (Dessy ve ark., 2004). Ne var ki, β_3 -AR'lerin iskemi-reperfüzyondaki rolü ve uyarılmasına bağlı yarar ya da zararı tam olarak gösterilememiştir. β_3 -AR'lerin negatif inotropik etkisi kalbin aşırı oksijen tüketimini engelleyebilir ve bu şekilde kardiyoprotektif etki meydana getirebilir (Rozec ve Gauthier, 2006).

Koroner arter bypass'ı sonrasında damarlar aşırı düzeyde katekolamine maruz kalmakta ve β -AR-aracılı damar yanıtları belirgin ölçüde bozulmaktadır (Friedman ve ark., 1995, Sellke ve ark., 1997). Bu durum, β -AR'lerin G_s -adenilat siklaz kenetinden ayrılması ve/veya adenilat siklaz fonksiyonunun değişmesi (Schranz ve ark., 1993, Booth ve ark., 1998) ile ilişkili olabilir. Farklı olarak β_3 -AR'ler yalnızca çok yüksek katekolamin düzeylerinde aktive olmaktadır (Pietri-Rouxel ve Strosberg, 1995). Ayrıca β_3 -AR'lerin desensitizasyona rezistan olduğu bilinmektedir (Iwase ve ark., 2000). β_3 -AR stimülasyonunun bu durumdaki etkisi koroner arter bypass'ından sonra koroner akışı artırıp, miyokardiyal oksijen tüketimini azaltmasından kaynaklanabilir (Gauthier ve ark., 1996).

İnternal meme arter graftlarından sağlanan kan akımının maksimum egzersiz için yeterli olmadığı gösterilmiştir (Kawasuji ve ark., 1993). Bu nedenle, araştırmaların nebivolol ve busindolol gibi β_3 -AR agonistik özellikleri nedeniyle vazodilatasyon yapan üçüncü kuşak β -blokerler üzerinde odaklanması yerinde olacaktır (De Groot ve ark., 2003; Toda, 2003; Rozec ve ark., 2006).

1.4. Amaç

İnsülinin kliniğe girmesinden önce diabetik ketoasidozis, infeksiyonlar ve kardiyovasküler hastalıklar diabetik hastaların başlıca ölüm nedenleri olmasına karşın insülinin kullanılmasıyla diabetik koma sonucu görülen ölümler neredeyse tamamen önlenmiş, diabetik infeksiyonlardan kaynaklanan ölümler ise belirgin olarak azalmıştır. Ne var ki, kardiyovasküler sorunların önlenmesinde aynı ölçüde bir başarı sağlanamamıştır. Diabetin yolaştığı kardiyak bozukluklar aterosklerozun bir sonucu olarak gelişebildiği gibi mikroangiopati, makroangiopati, otonomik nöropati ve kalpte yapısal, fonksiyonel, biyokimyasal değişimlere neden olan öteki bazı faktörlerin bir kombinasyonu olarak da ortaya çıkabilmektedirler. Ne var ki, diabetik hastaların önemli sayılabilecek bir bölümünde sözü edilen faktörlerin bulunmamasına karşın kardiyak problemlerin gözlenebilmesi spesifik bir kardiyomyopatinin temel neden olabileceğini düşündürmektedir. Bilindiği gibi diabetiklerde angina, akut myokard infarktüsü, konjestif kalp yetmezliği ve aterosklerotik hastalık riski non-diabetiklere oranla belirgin olarak daha yüksektir (Kannel ve McGee, 1979). Çoğunlukla kardiyomyopati şeklinde gözlenen kalp hastalığı diabetin eşlik ettiği en önemli komplikasyonlardan biridir. Diabetik hastalarda konjestif kalp yetmezliği sıklığı da armaktadır. Gerçekten de konjestif kalp yetmezlikli hasta popülasyonunun %30'unu diabetik hastalar oluşturmaktadır (Solang ve ark., 1999). Hiperglisemi, hipertansiyon, obezite ve ateroskleroz kombinasyonunun diabetik hastalarda konjestif kalp yetmezliği riskini arttırdığı bildirilmiştir (Sowers ve ark., 2001).

Klinik çalışmalarda diabette gözlenen kardiyak bozukluklara neden olan faktörlere ilişkin çok sayıda bulgu elde edilmesine karşın etyolojiye ilişkin özelliklerin daha ayrıntılı bir biçimde anlaşılabilmesi ancak deneysel araştırmalarla olanaklıdır. Bu amaca yönelik olarak, streptozotosin (STZ) ya da alloxan (ALL) gibi kimyasallar aracılığıyla diabetik yapılan ratlar yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Sözü edilen ratlarda kardiyak performansla ilişkili olarak gözlenen fonksiyonel bozukluklardan ilk ortaya çıkanlar diabetik kalbin β -AR agonistlerine verdiği pozitif inotropik ve kronotropik yanıtlardaki azalmadır (Vadlamudi ve McNeill, 1984; Karasu ve ark.,

1990). β -AR agonistlerinin stimüle ettiği kardiyak yanıtlardaki azalmanın mekanizmaları tam olarak belirlenebilmiş değildir. Ancak, diabetik ratlarda kardiyak β_1 -AR ekspresyonunun azaldığı gösterilmiş ve bunun fonksiyonel yanıtlardaki azalmaya katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür (Sunderesan ve ark., 1984). Öte yandan, diabetik ratlarda kardiyak β_3 -AR ekspresyonunun arttığı da belirlenmiştir (Dincer ve ark., 2001). İlginç olarak, β_3 -AR'ler klasik β_1 - ve β_2 -AR'lerden farklı olarak kalpte negatif inotropik etkiye aracılık etmektedirler (Gauthier ve ark., 1996). β_3 -AR-aracılı negatif inotropik etkinin, kalp yetmezliği ya da diabetik kardiyomyopati gibi kalp üzerindeki sempatik sinir sistemi baskısının arttığı durumlarda kalbi aşırı katekolamin etkisinden koruduğu, ama sonrasında maladaptasyon sonucu kalpteki kontraktilete problemini daha da arttırdığı düşünülmektedir. Ne var ki, β_3 -AR ekspresyonundaki artışın diabetik myokarddaki performans bozukluğuna doğrudan katkıda bulunup bulunmadığına yönelik fonksiyonel araştırmaların sayısı henüz oldukça azdır. Bu noktadan yola çıkarak, çalışmamızda β_3 -AR ekspresyonundaki artışın diabetik kalpteki fonksiyonel azalmaya olası katkısının ve bir β_3 -AR blokörü olan SR 59230A ile yapılan uzun süreli tedavinin ratlarda diabetin yol açtığı kardiyak disfonksiyon üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Gereçler

2.1.1. Malzemeler

- Grass S44 stimülatör (Grass Instrument, Inc., Quincy, MA, USA)
- Tek kullanımlık basınç Transdüseri (MAY, Commat Ltd., Ankara, TÜRKİYE)
- Su banyosu (MAY, Commat Ltd., Ankara, TÜRKİYE)
- Millar Kateter SPR-249 (Houston, ABD)
- Veri Kayıt ve Analiz Sistemi (MP30 Data Acquisition System, Biopac-System Inc, Santa Barbara-California, ABD)
- %95 Oksijen, %5 karbondioksit içeren gaz karışım tüpü
- Operasyon masası (Harvard Instrument, Massachusetts, ABD)
- Santrifüj (Hettich, EBA 12, Tuttlingen, ALMANYA)
- Santrifüj (Hettich Rotina 35R, Tuttlingen, ALMANYA)
- Otoklav (ALP, JAPONYA)
- Kaba terazi (Scaltec, SBA 61 Heiligenstadt, ALMANYA)
- Hassas terazi (Scaltec, SBA 31 Heiligenstadt, ALMANYA)
- Çeşitli hacimlerde otomatik pipetler (Eppendorf, Hamburg, ALMANYA)
- Pipet uçları (Standart ve RNase içermeyen özellikte)
- Vortex (Velp Scientifica, İTALYA)
- pH metre (Mettler Toledo MP220; İSVİÇRE)

- Mini Santrifüj (Hermle Z160 M, Hersteller Spintron Inc, Wehingen, ALMANYA)
- Quick Santrifüj (Qualitron Inc., KORE)
- -80 °C Derin dondurucu (JOUAN VXS 380)
- Likit Nitrojen Tankı
- Buz Makinesi (Hosizaki Ice Maker, JAPONYA)
- Çeşitli cam ve plastik malzemeler (Standart ve DNase Free özellikte)
- Cerrahi makas ve pensler
- NanoDrop (NanoDrop Tech., ABD)
- Thermalcyclers (ThermoHybaid, ABD)
- Elektroforez aleti (SCIE-PLAS, İNGİLTERE)
- Kuru ısıtıcı (Major Science, ABD)
- Elektroforez güç kaynağı (SCIE-PLAS, İNGİLTERE)
- Mikrodalga fırın (Arçelik, TÜRKİYE)
- Isıtıcı karıştırıcı (Torrey Pines Scientific, ABD)
- Jel görüntüleme sistemi (Kodak EDAS 290, ABD)
- Polietilen enjektörler
- 4/0 ipek cerrahi iplik
- Kronometre
- Glukozölçer ve stikleri (AccuCheck)

2.1.2. Kimyasal Maddeler

- SR 59230A (Sigma Chemical Co, ABD)
- BRL 37344 (Sigma Chemical Co, ABD)
- Streptozotosin (Sigma Chemical Co, ABD)
- Ketamin (Ketalar, Pfizer, İstanbul)
- Ksilazin (Alfazyn, Alfasan, Ege Vet., İzmir)
- Glukoz monohidrat (Merck)
- Kalsiyum klorür (Merck)
- Sodyum hidrojen fosfat (Merck)
- Sodyum bikarbonat (Merck)
- Sodyum klorür (Merck)
- Magnezyum klorür (Merck)
- Rat Yemi (Purina, Gebze, TÜRKİYE)
- Moleküler grade izopropil alkol (Riedel, ABD)
- Moleküler grade kloroform (Riedel, ABD)
- Trizol Total RNA İzolasyon Kiti (Sigma-Aldrich, ABD)
- ImProm II RT-PCR Kiti (Promega, ABD)
- GoTaq Flexi PCR Kiti (Promega, ABD)
- Primer (IDT, ABD)
- Tris (Applichem, A2264, 1000, Darmstadt, ALMANYA)
- Agaroz (Sea-Kem LE agarose, Rockland, Maine, ABD)
- Borik asit (Sigma, B 6768, St. Louis, ABD)
- EDTA (Sigma, E-5134, St. Louis, ABD)

- Absolü Etanol (Riedel, 32221, Sigma-Aldrich, ABD)
- Etidyum Bromür (Sigma, E-7637, St Louis, ABD)
- DNA Ladder (100bp, Promega, ABD)
- DEPC (Sigma, D-5785, St. Louis, ABD)
- Yükleme boyası (Blue-Orange 6X, Promega, ABD)
- Selüloz Asetat Filtre (0.45µm, Sartorius AG, Goettingen, ALMANYA)

2.1.3. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Bilkent Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Merkezi'nden sağlanan 200-250 g ağırlığındaki erkek Sprague-Dawley ratlar kullanılmıştır. Çalışma süresince ratlar her biri bireysel kafeslerde olacak şekilde (07.00-19.00 saatleri arası aydınlık, 19.00-07.00 saatleri arası karanlık, oda sıcaklığı $22\pm1^{\circ}\text{C}$) kontrol altında tutulan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde barındırılmışlardır. Bu çalışma için Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan izin alınmıştır.

2.2. Kullanılan Yöntemler

2.2.1. DeneySEL Diabetin Oluşturulması

Ratlarda diabet oluşumu streptozotosin (STZ) ile sağlanmıştır. Bu amaçla, pH'sı 4.5 olan 0.1 M sitrat tamponu içinde hazırlanan STZ çözeltisi 40 mg/kg dozda kuyruk veninden tek doz I.V. enjeksiyonla verilmiştir. STZ uygulanan ratlar bireysel kafeslere konulmuş, yem ve su kısıtlaması uygulanmamıştır. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra ratların kuyruklarından alınan kan örneklerinden glukoz konsantrasyonları ölçülmüş ve kan glukoz konsantrasyonları 300 mg/dl ve üzerinde

olan ratlar “diabetik” olarak kabul edilmiştir. Deneysel diabet süresi yaklaşık 7 hafta olarak belirlenmiş ve bu sürenin sonunda kan glukoz konsantrasyonları tekrar ölçülmüştür.

Sitrat tamponunun hazırlanması:

2.94 gr. Na sitrat tartılarak distile su içinde çözülmüş ve hacmi 100 ml’ye tamamlanmıştır. 1N HCl ile pH’sı 4.5’a ayarlanmış ve +4°C’de saklanmıştır.

2.2.2. Deney Grupları

Çalışmamızda ratlar kontrol” (K), “diabetik” (D) ve “SR 59230A tedavili diabetik” (D-SR) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. D-SR grubunda SR 59230A tedavisine STZ injeksiyonundan 5 gün sonra başlanmış ve tedavi 6 hafta sürdürülmüştür. Kullanılan dozlar, sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez i.p. 100 nmol SR 59230A olarak belirlenmiştir.

Deney günü beden ağırlığı ölçülen ratların kuyruk veninden kan alınarak kan glukoz konsantrasyonlarına bakılmış, sonrasında i.p. olarak 60 mg/kg ketamin anestezisi uygulanmıştır.

2.2.3. In-vivo Hemodinamik Ölçümler (Millar Kateterizasyonu)

Ratlar ketamin (60mg/kg)–ksilazin (10mg/kg) (i.p.) kombinasyonu ile anestezisi edilmiştir. Anestezisi edilen ratlar operasyon masasına yatırılıp sabitlenmiştir. Operasyon masasına bağlı rektal prob yardımıyla ratların vücut ısısı operasyon süresince 36°C’de sabitlenmiştir. Ardından Millar (SPR-249) katater ile sağ karotid arterden girilerek, 5 dakika süreyle sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri alınmış, bu süre sonunda katater sol ventrikül içine ilerletilmiştir. 10 dakikalık stabilizasyon süresinin ardından elde edilen kayıtlardan bazal sol ventrikül basıncı (LVP) ve kalp

atım hızı değerleri ölçülmüştür. Daha sonra sol ventrikül diastol sonu basıncı (LVEDP), sol ventrikül içi gelişen basınç (LVDP), kalbin kasılma hızının göstergesi olan $+dP/dT$ ve kalbin gevşeme hızının göstergesi olan $-dP/dT$ değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen bütün verilerin kayıt ve analizi “Biopac Data Analiz Sistemi” kullanılarak yapılmıştır.

2.2.4. İzole Organ Banyosu Deneyleri (Langendorff Kalp Preparatı)

Ratlar ketamin (60mg/kg)–ksilazin (10mg/kg) (i.p.) kombinasyonu ile anestezi edilmiş, göğüs kafesleri açılarak üzerinde 2cm aorta kalacak şekilde kalp çıkartılıp içinde buz olan Krebs-Henseleit çözeltisine konulmuştur. Daha sonra kalp aortadan Langendorff kanülüne takılarak çevresindeki dokular temizlenmiş ve 4.0 ipek iplikle aorta üzerinden bağlanmıştır. Sisteme bu şekilde takılan kalpler Krebs-Henseleit çözeltisi ile dakikada 10 ml hızla perfüze edilmiştir. Deneylerde kullanılan Krebs-Henseleit çözeltisinin içeriği şöyledir; NaCl 120, NaHCO₃ 25, Glukoz 10, KCl 4.8, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.25, CaCl₂ 1.25 (mmol/L). Deney süresince perfüzyon sıvısının sıcaklığı sirkülatörlü su banyosu ile 37°C’de, pH’sı ise %95 O₂ + %5 CO₂ gaz karışımı ile 7.4’de sabit tutulmuştur. Sol ventrikül içi gelişen basınç (LVDP) ve diğer parametreleri ölçmek için bir ucu “basınç transdüserine”na bağlı olan lateks balon boş şekilde sol ventrikül içerisine yerleştirilmiş ve balonun içindeki hacim, sol ventrikül diastol sonu basıncı (LVEDP) 10 mm Hg olacak şekilde ayarlanmıştır. Ardından apekse elektrot yerleştirilerek kalpler dakikada 300 atım olacak şekilde stimüle edilmiştir. Sonrasında kontrol, diabetik ve SR 59230A tedavili diabetik kalplerin β_3 -AR agonisti BRL 37344’e verdiği fonksiyonel yanıtlar β_3 -AR antagonisti SR 59230A varlığında ve yokluğunda ölçülmüştür. LVDP, LVEDP, $+dP/dT$, $-dP/dT$ değerleri MP100 (Biopac System, Inc., Santa Barbara, CA) veri kayıt sistemi ile kaydedilmiş ve sonrasında analizleri yapılmıştır.

2.2.4.1 BRL 37344 Konsantrasyon-Yanıt Çalışmaları

Stabilizasyon süresinden sonra β_3 -AR-aracılı yanıtları araştırmak için 10^{-10} ile 10^{-6} mol/L aralığındaki dozlarda BRL 37344 kullanılarak konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edilmiştir.

2.2.4.2. BRL 37344 ve SR59230A Konsantrasyon-Yanıt Çalışmaları

BRL 37344 yanıtları β_3 -AR antagonisti varlığında tekrar incelenmiş, bu amaçla 10^{-7} mol/L konsantrasyonunda SR 59230A ile inkübe edilen kalplerde 10^{-10} ile 10^{-6} mol/L aralığındaki dozlarda BRL 37344 kullanılarak konsantrasyon yanıt eğrileri elde edilmiştir.

2.2.5. Total RNA Ekstraksiyonu

Eksi 80°C 'de saklanan kalp dokusu, içinde likit nitrojen bulunan porselen havanda toz edilmiştir. Steril tüplere 1 ml trizol çözeltisi konup üzerine toz edilen kalp dokusu konulmuş ve üstüne 1 ml trizol çözeltisi daha eklenmiştir. Sonrasında ultrasonik homojenizatörde homejenizasyon yapılmış ve çözeltiler 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Alınan supernatant kısım oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiş, üzerine supernatantın 0,2 ml katı kadar kloroform eklenmiş, 15 saniye güçlü bir şekilde çalkalanmış ve 5 dakika yine oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve üstteki berrak faz alınmıştır. Üstüne trizol kadar isopropil alkol eklenmiş ve 10000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Bu kez supernatant kısmı atılmış ve pellete 900 μL %75 etanol eklenerek 10000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Sonrasında 400 μL etanol ile yıkama işlemi tekrar edilmiştir. En son olarak etanol uzaklaştırılmış, pellet 10 dakika oda sıcaklığında kurutulmuş ve 60 μL nükleaz içermeyen su ile çözülüp

spektrofotometrede OD değerleri ve konsantrasyonu okunmuştur. OD değerleri 1,7'nin altında olan numuneler deneye dahil edilmemiştir.

2.2.5.1. Total RNA Jeli

Elde edilen total RNA'ların kalitesini test etmek için %1'lik agaroz jeli hazırlanarak, tRNA numuneleri bu jele yüklenmiş, elektroforez işlemi uygulanmış, sonrasında görüntüleme sisteminde jelin fotoğrafı çekilmiştir. Bu jelde her bir numune için DNA'nın 18S ve 28S bandlarını gösteren 2 ayrı band görölmektedir ve bunlardan 28S bandı 18S bandının yaklaşık 2 katı kadar parlaktır. Bu görüntü, elde edilen tRNA kalitesinin iyi olduğunu göstermektedir.

Jelin Hazırlanması:

1.1 g agaroz tartılıp, üzerine 110 ml 1XTBE çözeltisi eklenmiş ve mikrodalgada ısıtılmıştır. Sonrasında soğutulurak üzerine 2 µl Etidyum Bromür (10mg/ml) eklenmiştir. Steril koşullara uygun hazırlanan jel, tepsiye dökölerek en az 1 saat süreyle soğuması beklenmiştir.

Numunelerin hazırlanması:

Steril tüplere 1000-1500 ng'a denk gelecek miktarda total RNA konmuş, numuneler nükleaz içermeyen su ile 20 µl'ye tamamlanmış, üzerlerine de 4 µl 6Xboya eklenmiştir.

Hazırlanan jele 1XTBE'den üzerini kapatacak kadar konulduktan sonra numuneler yüklenmiş, yaklaşık 45 dakika süreyle elektroforez işlemi uygulanmıştır.

2.2.5.2. RT-PCR

RT-PCR'ın (reverse transcriptase-polymerase chain reaction) ilk adımında total RNA'dan oligo dT primer ile mRNA'lar elde edilmiş, daha sonra "Revers Transkriptaz" enzimiyle cDNA iplikçikleri üretilmiştir.

Örnekler en düşük konsantrasyona sahip olana göre hesaplanarak belli miktarda steril tüplere alınmış, nükleaz içermeyen suyla toplam 4 µl'ye tamamlanmıştır. Üzerine 1 µl oligo dT primer eklenmiş ve PCR cihazında 70°C'de 5 dakika tutulmuştur. Daha sonra örneklerle sırasıyla çizelge 2.1'dekiler eklenmiştir.

Çizelge 2.1. RT-PCR reaksiyonu bileşenleri.

Su	6.1 µl
5X Tampon	4.0 µl
MgCl ₂ (25 mM)	2.4 µl
dNTP	1.0 µl
Rnazin	0.5 µl
RT (Reverse transkriptase)	1.0 µl

Final hacmi 20 µl olan örneklerle PCR cihazında çizelge 2.2'deki program uygulanmıştır.

Çizelge 2.2. RT-PCR programı.

25°C	5 dk
42°C	60 dk
70°C	15 dk
4°C	5 dk

2.2.5.3. PCR

RT-PCR ile elde edilen cDNA iplikçikleri Taq DNA polimeraz enzimi varlığında çoğaltılmıştır. β -aktin ve β_3 -AR olmak üzere iki primerle çalışılmıştır. Tüplere çizelge 2.3’de gösterilen maddeler konulmuş ve çizelge 2.4’de gösterilen program uygulanmıştır.

Çizelge 2.3. PCR reaksiyonu bileşenleri. * Her deney için $MgCl_2$, cDNA ve primer hacimlerine göre gereken su miktarı toplam 50 μ l’den çıkarılarak hesaplanır. *Farklı primerlar için farklı $MgCl_2$ konsantrasyonu seçilmektedir.

cDNA	1.0 μ l
5X Tampon	10.0 μ l
$MgCl_2$ (25 mM)	2.4
dNTP	1.0 μ l
Taq	0.2 μ l
Primer (10 pmol/ml)	1.0 μ l
Primer (10 pmol/ml)	1.0 μ l
Nükleaz içermeyen su	(-)* μ l
Toplam Hacim	50 μ l

Çizelge 2.4. PCR programı. * Her primer için spesifik tutunma derecesi farklıdır.

Denatürasyon	94°C	3dk	94°C	1.5dk	72°C	10dk
Tutunma	58°C	1dk	58°C	1dk	4°C	5dk
Uzama	72°C	2dk	72°C	2dk		
	1 Döngü		35 Döngü		1 Döngü	

Çizelge 2.5. Reaksiyonda kullanılan primerlerin $MgCl_2$ konsantrasyonları, tutunma dereceleri ve ürün büyüklükleri

Primer Adı	$MgCl_2$ (25mM)	Tutunma	Ürün
		Derecesi ($^{\circ}C$)	Büyüklüğü (BP)
β -aktin	2.4	58	387
β_3 -AR	2.4	58	444

2.2.5.4. Jel Elektroforezi

Agoroz jel tepsisine taraklar yerleştirilmiştir. % 1-1.5'luk agoroz jel hazırlamak için, bir erlene 1.2-1.8 g agoroz tartılarak 90 ml 10X TBE elektroforez tamponu eklenmiş ve mikrodalga fırında çözülmüştür. Yaklaşık 40-45C'ye soğutularak 2.5 μ l 10 mg/ml'lik etidyum bromür eklenmiştir. Jel tepsiye dökülerek 30-60 dakika süre ile donması beklenmiş ve sonra taraklar çıkarılarak içinde 1X TBE bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Örnekler kuyulara direkt yüklenmiş, 1 saat süreyle elektroforez yapılmış, sonrasında 100bp DNA ladder varlığında sinyallerin yeri saptanmıştır. Sinyaller "Kodak EDAS 290" sistemi ile UV ışığı altında görüntülenmiş, fotoğraflarının analizi ise Kodak 1D 3.6 programı ile yapılmıştır. Her bir sinyal yoğunluğu internal kontrol primerle (beta aktin) oluşan sinyalin yoğunluğuna oranlanarak istatistiksel anlamlılık araştırılmıştır.

2.3. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, belli sayıda (n) deney sonucundan elde edilen ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir. İstatistiksel analiz için GraphPad PRISM 5 (for Windows, Version 5.0) programı kullanılarak one way ANOVA - Newman Keuls Multiple Comparison testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Ratların Genel Özellikleri

Çalışmamızda deneysel diabet oluşumu, 200-250 g ağırlığındaki erkek Sprague-Dawley ratlara uygulanan 40 mg/kg (i.v.) STZ injeksiyonundan 72 saat sonra yapılan kan glukoz ölçümleriyle saptanmıştır. Kan glukoz düzeyleri 300 mg/dL'nin üzerinde olan ratlar diabetik olarak değerlendirilmişlerdir. 7 haftalık dönemde ratların büyüme profilleri değerlendirilmiş ve diabetik ratların beden ağırlıklarının kontrollere oranla belirgin olarak azaldığı saptanmıştır. SR 59230A tedavisi ise diabetik ratların beden ağırlıklarında gözlenen azalmayı önleyememiştir

In vivo ölçümler için deneye alındıkları 7 haftanın sonunda alınan kan örneklerinde, diabetik ratların kan glukoz düzeylerinin kontrol ratların kan glukoz düzeylerine göre belirgin olarak yükseldiği, SR 59230A tedavisinin ise diabetik ratların kan glukoz düzeyleri üzerinde iyileştirici bir etkisinin bulunmadığı saptanmıştır.

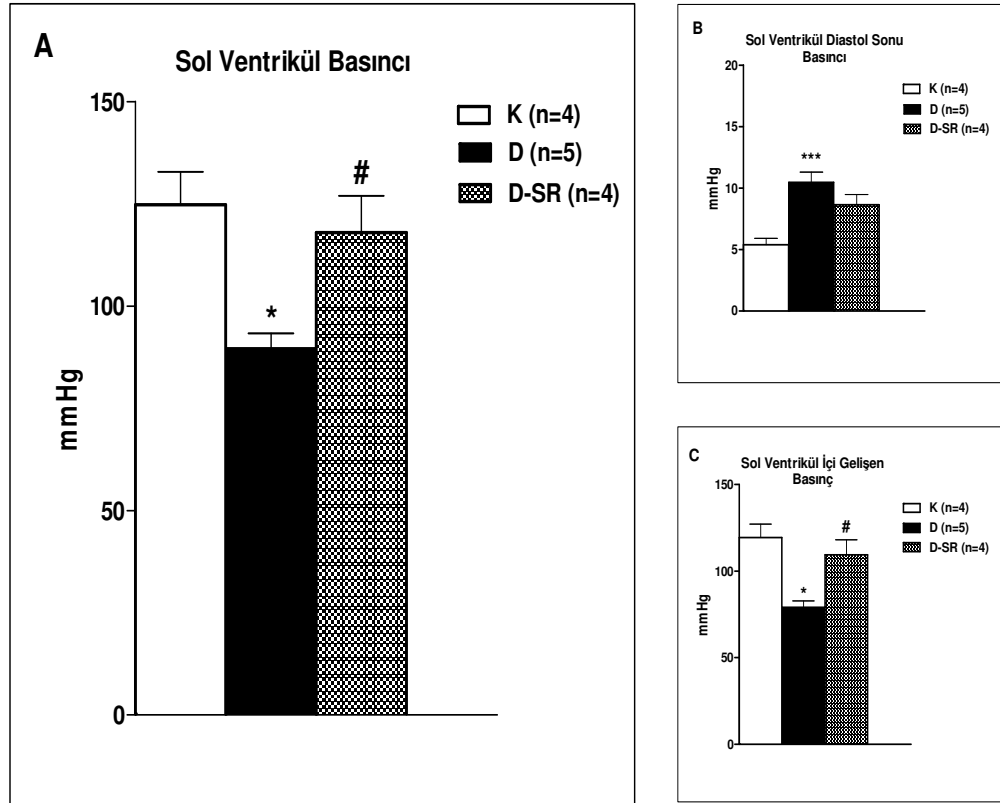
3.2. In Vivo Ölçümler

7 hafta sonunda anestezi altındaki ratlarda ölçülen *in vivo* kardiyak hemodinamik parametreler çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

	K (n=6)	D (n=5)	D-SR (n=5)
Beden Ağırlığı (g)	406,1±7,6	265±7,1***	233,8±17,4 ^{ΔΔΔ}
Kan Glukoz Değeri (mg/dL)	92,6±2,6	331±17,6***	358±17,4 ^{ΔΔΔ}
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	130,6±8,6	90±3,6***	94,5±4,4 ^{ΔΔΔ}
Diastolik Kan Basıncı (mmHg)	91,6±4,9	61,8±4,3***	61,3±4,4 ^{ΔΔΔ}
Kalp Atım Hızı (atım/dak)	301±7,7	238±8,7**	240,2±7,6 ^{ΔΔ}
Sol Ventrikül Basıncı (LVP) (mmHg)	124,7±8	89,6±3,6*	118±8,9 [#]
Sol Ventrikül Diastol Sonu Basıncı (LVEDP) (mmHg)	5,4±0,5	10,4±0,8***	8,6±0,8 ^{ΔΔΔ}
Sol Ventrikül İçi Gelişen Basıncı (LVDP) (mmHg)	119,3±7,6	79,1±3,6*	109,3±8,7 [#]
+dP/dT (mmHg/sn)	4338±238,8	2800,4±147,6***	3318±193,1 ^Δ
- dP/dT (mmHg/sn)	4053,2±241,9	2408,4±127,4***	2939±286,8 ^Δ
Ortalama Kan Basıncı (mmHg)	104,5±5,6	71,1±4***	72,3±4,3 ^{ΔΔΔ}

Çizelge 3.1. Kontrol (K), diabetik (D) ve SR 59230A tedavili diabetik (D-SR) ratların *in vivo* kardiyak hemodinamik parametreleri. Değerler ortalama± standart hata olarak verilmiştir. *, p<0.05, **, p<0.01, ***, p<0.001, kontrol grubu ile diabet grubu arasında anlamlı farkı, #, p<0.05, diabet grubu ile SR 59230A tedavili diabet grubu arasında anlamlı farkı, Δ, p<0.05, ΔΔ, p<0.01, ΔΔΔ, p<0.001, kontrol grubu ile SR 59230A tedavili diabet grubu arasında anlamlı farkı göstermektedir.

Millar Katater kullanılarak alınan kardiyak ölçümler diabetik ratlarda LVP ve LVDP değerlerinin kontrollere göre belirgin olarak azaldığı; LVEDP değerinin ise belirgin olarak arttığı saptanmıştır. SR 59230A tedavisi uygulanan diabetik ratlarda LVP ve LVDP değerleri kontrol düzeylere ulaşmıştır. Bir başka anlatımla, diabetin sözü edilen hemodinamik parametreler üzerinde yol açtığı değişiklikler SR 59230A tedavisi ile düzeltilmiştir (Çizelge 3.1, Şekil 3.1). Buna karşın SR 59230A tedavisi LVEDP değeri üzerinde istatistiksel anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Çizelge 3.1, Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *İn vivo* olarak ölçülen A) Sol ventrikül basıncı, B) Sol ventrikül diastol sonu basıncı ve C) Sol ventrikül içi gelişen basıncı değerleri. Değerler ortalama± standart hata olarak verilmiştir. *, $p<0.05$, ***, $p<0.001$, kontrol grubu ile diabet grubu arasında anlamlı farkı, #, $p<0.05$, diabet grubu ile SR 59230A tedavili diabet grubu arasında anlamlı farkı göstermektedir.

Birim zamanda sol ventrikül basıncındaki değişimleri gösteren dP/dT değerleri açısından gruplar karşılaştırıldığında, kontrole göre diabet grubunda kalbin birim zamandaki kasılma hızının göstergesi olan $+dP/dT$ ve kalbin birim zamandaki gevşeme hızının bir göstergesi olan $-dP/dT$ değerleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. SR 59230A tedavisi uygulanan diabetik ratlarda ise sözü edilen bu parametrelerin diabetik gruptan anlamlı olarak farklı olmamasına karşın, özellikle $+dP/dT$ değerlerinin kontrol düzeylerine yaklaştığı saptanmıştır (Çizelge 3.1).

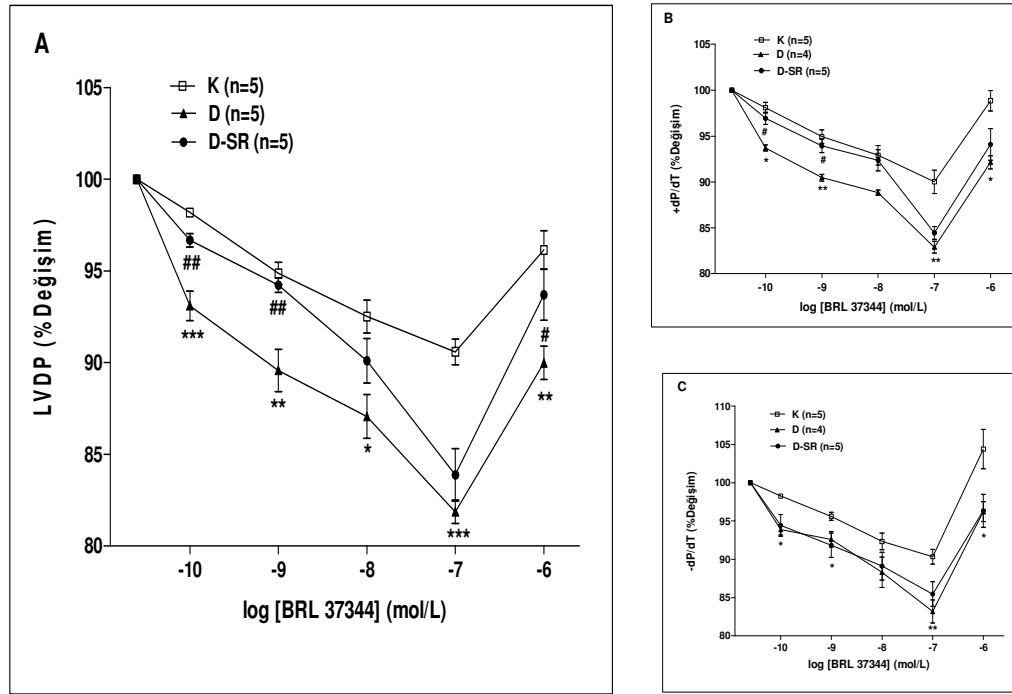
Kalp atım hızı değerleri açısından da kontrol ve diabetik ratlar arasında anlamlı farklılık belirlenmiştir (kontrol: 301 ± 7.76 atım/dak, diabet: 238 ± 8.74 atım/dak, Çizelge 3.1). Diabet grubu ile karşılaştırıldığında, SR tedavisi uygulanan diabetik grubun kalp atım hızı değerleri arasında ise istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. (Çizelge 3.1).

Anestezi altında Millar Katater'le alınan *in vivo* kan basıncı değerleri çizelge 3.1'de gösterilmiştir. Kontrole göre diabetik grubun sistolik ve diastolik kan basınçlarının anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Doğal olarak, hesaplanan ortalama kan basıncı değerleri açısından da kontrol ile diabet grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Öte yandan, SR 59230A tedavili diabetik grubun sistolik, diastolik ve ortalama kan basıncı değerlerinin kontrollerle karşılaştırıldığında hala anlamlı olarak düşük olduğu, bir başka anlatımla, tedavinin bu parametrelerde oluşan diabet kaynaklı değişiklikler üzerinde etkisiz olduğu saptanmıştır.

3.3. İzole Organ Banyosu Deneyleri

3.3.1. BRL 37344 Konsantrasyon-Yanıt Çalışmaları

7 hafta sonunda kontrol, diabetik ve SR 59230A tedavili diabetik ratlardan izole edilen kalplerde Langendorff tekniği ile BRL 37344'ün (10^{-10} - 10^{-6} mol/L konsantrasyon aralığında) LVDP, +dP/dT ve -dP/dT yanıtları üzerinde oluşturduğu etkiler araştırılmıştır. Yanıtlarımız BRL 37344'ün kontrol ratlarda konsantrasyon-bağımlı negatif inotropik etkiye neden olduğunu ve bu etkinin diabetik ratlarda anlamlı olarak arttığını göstermiştir. Ancak 10^{-6} mol/L konsantrasyonda, BRL 37344 ile uyarılan negatif inotropik etkinin, tüm gruptaki ratlardan izole edilen preparatlarda pozitif inotropik etkiye dönüştüğü saptanmıştır. Buna ek olarak, LVDP yanıtlarında olduğu gibi BRL 37344'ün kontrol ratlarda +dP/dT ve -dP/dT değerlerini de azalttığı ve sözü edilen parametreler üzerindeki etkilerinin diabetik ratlarda anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir. BRL 37344, 10^{-6} mol/L konsantrasyonda ise hem +dP/dT ve hem de -dP/dT değerlerinde artışa yolaçmıştır. Öte yandan, SR 59230A tedavili diabetik ratlarda, BRL 37344'ün LVDP ve +dP/dT değerleri üzerindeki etkilerinin düşük dozlarda (10^{-10} ve 10^{-9} mol/L) kontrol değerlere geri döndüğü gözlenmiştir (Şekil 3.2).



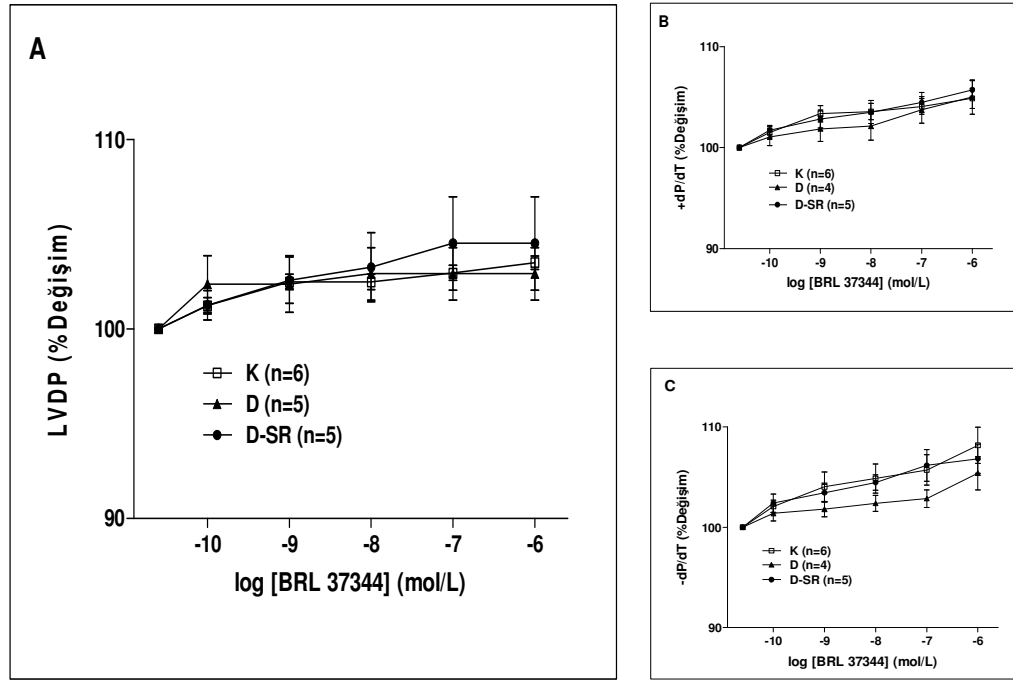
Şekil 3.2. BRL 37344'ün konsantrasyon-yanıt eğrileri. A) Sol ventrikül içi gelişen basınç (LVDP). B) +dP/dT. C) -dP/dT. Değerler ortalama±standart hata olarak gösterilmiştir. *, p<0.05, **, p<0.01, ***, p<0.001, kontrol grubu ile diabetes grubu arasında anlamlı farkı, #, p<0.05, ##, p<0.01, diabetes grubu ile SR 59230A tedavili diabetes grubu arasında anlamlı farkı göstermektedir.

Çizelge 3.2. İzole kalp preparatlarında BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrisinden hesaplanan pD₂ değerleri. Değerler ortalama ±standart hata olarak gösterilmiştir. *,p<0,05, kontrol grubu ile diabetes grubu arasında anlamlı farkı, #,p<0,05, ###, p<0,001, diabetes grubu ile SR 59230A tedavili diabetes grubu arasında anlamlı farkı, Δ, p<0,05, ΔΔΔ, p<0,001, kontrol grubu ile SR 59230A tedavili diabetes grubu arasında anlamlı farkı göstermektedir.

pD ₂	LVDP	+dP/dT
K	9,08±0,05	9,09±0,46
D	9,64±0,24*	9,51±0,23
D-SR	8,15±0,10 ^{###,ΔΔΔ}	8,05±0,36 ^{#,Δ}

3.3.2. BRL 37344 ve SR 59230A Konsantrasyon-Yanıt Çalışmaları

BRL 37344'ün LVDP, +dP/dT, -dP/dT üzerindeki etkilerinin β_3 -AR aracılığıyla oluştuğunun doğrulanabilmesi için perfüzyon çözeltisine 10^{-7} mol/L konsantrasyonda eklenen selektif β_3 -AR antagonisti SR 59230A ile kalpler perfüze edilmiştir. SR 59230A varlığında BRL 37344'ün sözü edilen parametreler üzerindeki tüm etkileri her üç grupta da ortadan kalkmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar çalıştığımız sistemde BRL 37344 yanıtlarının β_3 -AR aracılığıyla oluştuğunu göstermektedir.

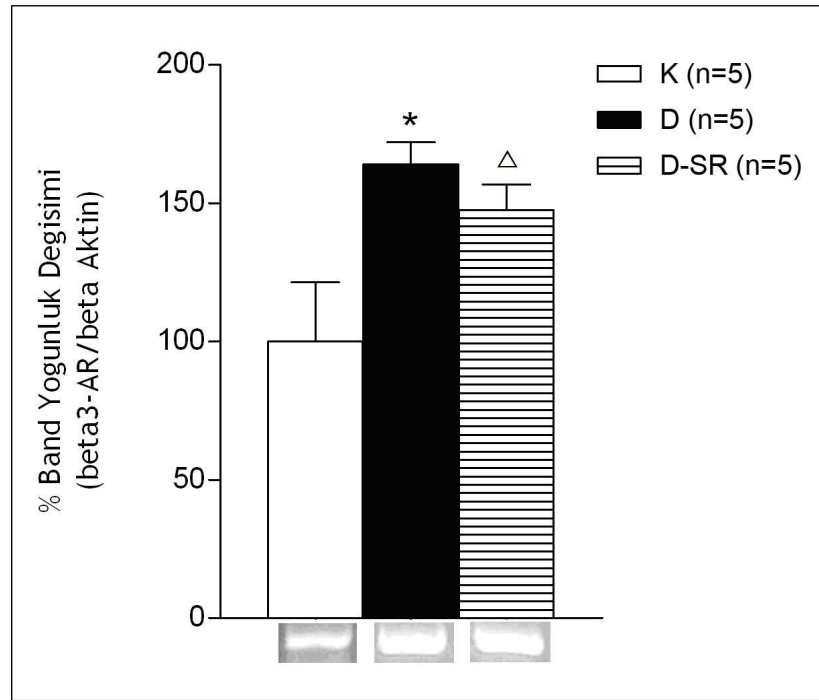


Şekil 3.3. BRL 37344'ün SR 59230A varlığında elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrileri. A) Sol ventrikül içi gelişen basınç (LVDP). B) +dP/dT. C) -dP/dT. Değerler ortalama±standart hata olarak gösterilmiştir.

3.4. β_3 -AR Altıtipi mRNA Ekspresyonları

Kontrol, diabetik ve SR 59230A tedavili diabetik ratların kalplerinde β_3 -AR mRNA ekspresyonları RT-PCR tekniği ile belirlenmiştir. Okunan band yoğunlukları, kontrol primer olan beta aktin band yoğunluklarına oranlanarak ifade edilmiş ve üç grup arasında karşılaştırılmıştır.

Kardiyak β_3 -AR mRNA ekspresyonunun diabetiklerde kontrollere oranla anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. SR 59230A tedavili diabetik ratlarda ise β_3 -AR mRNA ekspresyonunun diabet grubuna oranla azalmasına karşın hala kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (Kontrol, $100 \pm 21,3$; diabetik, $163,9 \pm 8$; SR 59230A tedavili diabetik, $147,5 \pm 9$) (Şekil 3.4).

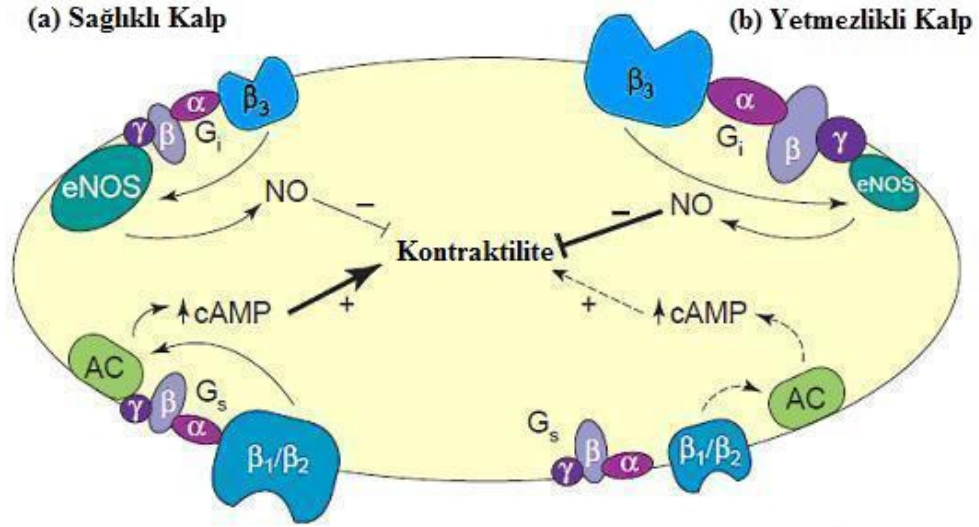


Şekil 3.4. Kontrol, diabetik ve SR 59230A tedavili diabetik ratlarda β_3 -AR mRNA ekspresyonlarına ilişkin band yoğunlukları ve band fotoğrafları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir. *, $p < 0,05$, kontrol grubu ile diabet grubu arasında anlamlı farkı, Δ , $p < 0,05$, kontrol grubu ile SR 59230A tedavili diabet grubu arasında anlamlı farkı göstermektedir.

4. TARTIŞMA

Kronik kalp yetmezliğinde, kalbin artan yükünün karşılanabilmesi ve kasılabilirliğinin artırılabilmesi için bazı dengeleyici mekanizmalar uyarılır. Bu çerçevede, sempatik sinir sistemi ve renin-angiotensin-aldosteron sistemi aşırı etkinlik gösterirler ve böylece kalbi yetmezliğin başlangıcında desteklerler. Ne var ki, yetmezliğin ileri döneminde ise kalbi desteklemek şöyle dursun tam tersine kalp için daha da zararlı olmaya başlarlar. Öte yandan, diyabetik hastalarda angina, akut myokard infarktüsü, konjestif kalp yetmezliği ve ateroskleroz gibi kardiyovasküler komplikasyonların görülme sıklığı sağlıklı bireylere göre çok daha yüksektir (Kannel ve McGee, 1979). Kardiyovasküler komplikasyonlar diyabetik morbidite ve mortalitenin en önde gelen nedenleri arasındadır. Diyabetik ratlarda bu anlamda ilk ortaya çıkan belirtilerden biri kardiyak preparatların β -adrenerjik agonist stimülasyonuna verdiği inotropik ve kronotropik yanıtların azalmasıdır (Vadlamudi ve McNeill, 1984; Karasu ve Altan, 1993; Yu ve McNeill, 1991; Özuarı ve ark., 1993). Bunun en azından bir ölçüde kalpteki β -AR alttıplerindeki ekspresyon değişiklikleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Altan ve ark., 2007). Gerçekten de β -AR'ler kardiyak fonksiyonların düzenlenmesinde çok önemli bir rol üstlenirler. β -AR alttıplerinden β_1 - ve β_2 -AR'ün fizyolojik koşullardaki fonksiyonları yeterince anlaşılmış olmasına karşın kardiyovasküler hastalıklardaki rolleri henüz tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Buna ek olarak, yaklaşık 10 yıl önce insan kalbinde fonksiyonel β_3 -AR alttipinin de bulunduğu gösterilmiştir (Gauthier ve ark., 1996). İnsan ventriküler endomyokardial biyopsilerinde β_3 -AR'lerin, β_1 - ve β_2 -AR'lerin tersine, negatif inotropik etkiye aracılık ettiği saptanmıştır. Diyabetik ratlarda kardiyak β_1 -AR'lerin sayısının, β_2 -AR'lerin ise duyarlılığının azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Buna ek olarak, diyabetik ratlarda kardiyak β_3 -AR ekspresyonunda belirgin bir artış olduğu saptanmıştır (Dincer ve ark., 2001). Bu nedenle, β_3 -AR'lerin negatif inotropik etkileri nedeniyle kalp yetmezliği ve diyabetik kardiyomyopatide kardiyak fonksiyonların bozulmasına yolaçabileceği öne sürülmüştür (Gauthier ve ark., 2007). Ne var ki, bu reseptör alttipinin kalbin çalışmasının düzenlenmesindeki

rolü henüz anlaşılabilmiş değildir. Bilindiği gibi kalp yetmezliğinin erken döneminde yetmezlik belirtilerinin dengelenmesi amacıyla sempatik sinir sistemi aktive edilir. Vasküler sempatik tonus ve adrenal medulladan adrenalin ve noradrenalin salınması artar. Yetmezlik belirginleştğinde ise sempatik sinir sistemi aktivasyonu kalp için zararlı olmaya başlar. Sempatik etkinlikteki artışın myokardda yolaçtığı hasar ise bu kez kardiyak β_1 -AR’lerde oluşan “down-regulation” ve β_2 -AR’lerdeki desensitizasyon ile azaltılmaya çalışılır. Böylece yetmezlik sırasında bu reseptör alttıplerinin aracılık ettiği pozitif inotropik etkinlik de azaltılmış olur. Benzer şekilde, β_3 -AR ekspresyonundaki artışın da yetmezlik belirtilerinin başlangıcında kalbi aşırı sempatik aktivasyondan korumaya yönelik adaptif bir değişiklik olduğu, ne var ki, sonrasında maladaptasyon sonucu kalp için daha zararlı olduğu öne sürülmüştür. Çünkü β_3 -AR’ler, yine β_1 - ve β_2 -AR’lerden farklı olarak protein kinaz A ve β ARK (β -adrenerjik reseptör kinazlar) ile fosforillenecek alanlardan yoksun oldukları için “down-regulation” a uğramazlar (Gauthier ve ark., 2000). Reseptör ekspresyonunun azalmaması, kuramsal olarak, bu reseptör alttipinin aracılık ettiği negatif inotropik etkinin de yetmezlikte azalmayacağı şeklinde yorumlanabilir. Ne var ki, pozitif inotropik etkinliğin azalmasına karşın negatif inotropik etkinliğin korunması, süreç içinde, bu birbirine zıt inotropik yollar arasındaki dengenin bozulmasına ve zaten iyi kasılmayan kalbin performansının daha da kötüleşmesine yolaçabilir (Şekil 4.1). Bu noktadan yola çıkarak, çalışmamızda diabetik ratlarda kardiyak β_3 -AR ekspresyonu ve fonksiyonundaki bir artışın diabetin yolaçtığı kardiyak komplikasyonlara olası katkısının araştırılması amaçlanmıştır.



Şekil 4.1. β_3 -AR'lerin sağlıklı kalpte ve kalp yetmezliğindeki hipotetik rolü (Gauthier ve ark., 2000)

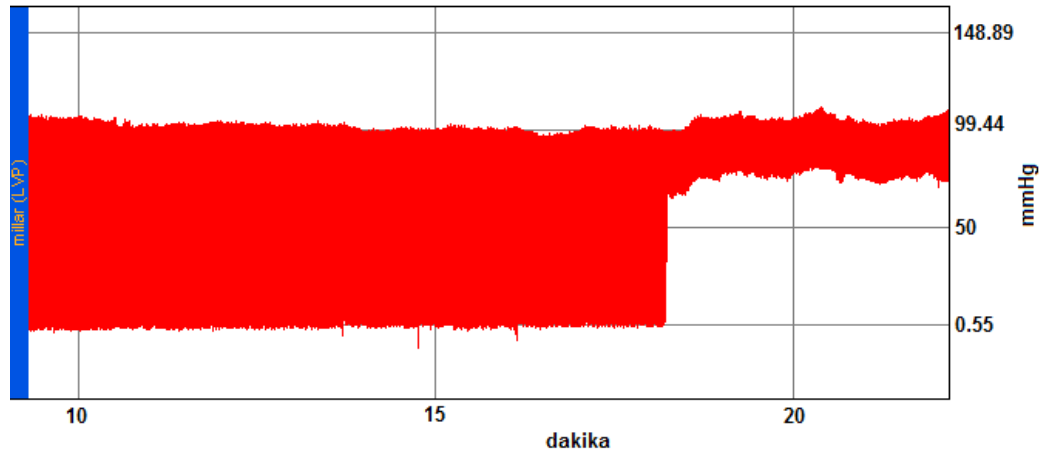
Çalışmamızda, öncelikle 7 haftalık deneysel diabetin ratlarda kardiyak disfonksiyona yol açıp açmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak Millar katater ile bazal hemodinamik parametreler ölçülmüştür. Diabetik ratlarda LVEDP'nin anlamlı olarak arttığı, ne var ki, LVP ve LVDP'nin ise anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur. Buna ek olarak, $+dP/dT$ ve $-dP/dT$ 'nin de diabetik ratlarda kontrollere oranla belirgin olarak azaldığı saptanmıştır. Benzer şekilde, diabetik ratların kalp atım hızının da kontrollere göre anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir (Şekil 3.1, Çizelge 3.1). Bulgularımız hem daha önceki araştırmaların (Heyliger ve ark., 1985; Ramanadham ve ark., 1989; Dai ve ark., 1994) hem de laboratuvarımızda daha önce gerçekleştirilen bir araştırmanın (Kaykı ve ark., 2009) sonuçlarıyla uyum göstermektedir. Sonuçlarımız, 7 haftalık diabetin ratlarda kardiyak performansın bozulması için yeterli bir süre olduğunu göstermektedir. Öte yandan, diabette değişen hemodinamik parametrelerin kardiyak β_3 -AR'lerle ilişkisinin belirlenebilmesi amacıyla diabetik ratlara 6 hafta süre ile bir β_3 -AR antagonisti olan SR 59230A tedavisi uygulanmıştır. Bu tedavi sonucunda kardiyak kontraktilitenin önemli göstergelerinden biri olan LVP değerlerinin kontrol ratlardaki düzeylere geri

döndüğü saptanmıştır. Ne var ki, SR 59230A tedavisinin diabette artan LVEDP değerlerini bir ölçüde azalttığı, ancak sözü edilen etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur. LVP ile LVEDP arasındaki matematiksel farkı yansıtan LVDP değerleri de, doğal olarak, diabetik ratlara uygulanan SR 59230A tedavisinden sonra kontrol düzeylere ulaşmıştır (Şekil 3.1, Çizelge 3.1). SR59230A tedavisinin LVP değerlerini düzeltmesi, β_3 -AR'lerin diabette kardiyak kontraktilitede oluşan bozukluğa katkıda bulunduğunu göstermektedir. Ne var ki, sözü edilen tedavinin LVEDP değerlerini düzeltmeden LVP değerlerini normale döndürmesi, β_3 -AR blokunun diabetin yolaçtığı kardiyak disfonksiyonu değil, yalnızca disfonksiyonun sonuçlarından biri olan kontraktilitedeki azalmayı düzelttiğini düşündürmektedir.

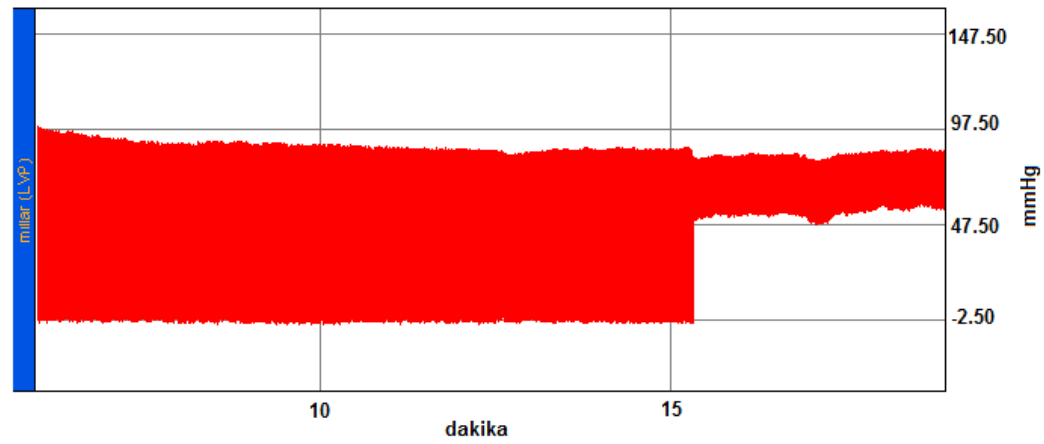
Bradikardi, ratlarda uzun süreli diabetin karakteristiklerindendir. Sözü edilen komplikasyonun vagal tonüsteki artıştan kaynaklandığı öne sürülmüştür (Jackson ve Carrier, 1983). Ancak, diabetik bradikardiye kardiyak β_1 -AR ekspresyonundaki değişikliklerin katkısının da çok önemli olduğu düşünülmektedir. Önceden de vurgulandığı gibi kronik diabette kardiyak β_1 -AR ekspresyonu azalmaktadır (Sundaresan ve ark., 1984; Dincer ve ark., 2001) ve bu reseptör alttipindeki azalma bradikardi ile doğrudan ilişkili görünmektedir. Çalışmamızda SR 59230A tedavisinin diabetik ratlarda kalp atım hızı üzerinde herhangi bir etki oluşturmadığının saptanması da en azından β_3 -AR'lerin diabetik bradikardiye aracılık etmediğini göstermektedir. Öte yandan, çalışmamızda, diabetik ratların sistolik ve diastolik kan basınçlarının da kontrollerle karşılaştırıldığında belirgin olarak azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 3.1). Klinik diabetle karşılaştırıldığında bu sonuç şaşırtıcı görülmektedir. Gerçekten de özellikle obez olan tip 2 diabetik hastaların %70'inde hipertansiyon gözlenmektedir (Williams, 1999). Bu durumu destekleyen bir başka klinik bulgu ise hipertansif hastaların yaklaşık yarısında da insülin rezistansı olduğunun anlaşılmasıdır (Reaven, 1999). Ne var ki, STZ diabetik ratlarda, insanlardakinden farklı olarak genellikle hipotansiyon gelişmektedir (Maeda ve ark., 1995; Dall'ago ve ark., 1997; Schaan ve ark., 1997). Çelişkili görünen bu durumun açıklanmasına yönelik çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır. Ratlarda kan basıncının invazif yöntemle ölçülmesi genellikle hipotansiyon, non-invazif yöntemle ölçülmesi ise hipertansiyon

gözlenmesine neden olmaktadır (Schaan ve ark., 2004). Bir başka anlatımla, nedeni açık olmamakla birlikte kan basıncı ölçüm yöntemleri sonuçları etkileyebilmektedir. Çalışmamızda invazif yöntem kullanıldığı için diabetik ratlarda sistolik ve diastolik kan basınçlarına ilişkin olarak elde ettiğimiz bulgular, aynı yöntemin kullanıldığı literatür sonuçlarıyla örtüşmektedir. Kronik diabetin ratlardaki hipotansif etkisinin mekanizmasına ilişkin en inandırıcı açıklama ise diabette kardiyak β_1 -AR sayısının azalmasıdır. Bu durumun, myokardın kasılabilirliğini azaltarak hipotansiyona katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Hebden ve ark., 1986; DeAngelis ve ark., 2000). β_3 -AR stimülasyonunun negatif inotropik etki oluşturduğu bilindiğinden, çalışmamızda bu reseptör alttipinin aracılık ettiği kardiyak etkilerin diabetik ratlarda gözlenen hipotansiyona olası katkısı da değerlendirilmiştir. SR 59230A tedavisi diabetik ratlarda kan basıncı üzerinde hiçbir değişiklik oluşturmamıştır (Çizelge 3.1). Bu sonuçlar, 7-haftalık diabetin ratlarda neden olduğu hipotansiyonun β_3 -AR stimülasyonundan bağımsız olarak geliştiğini düşündürmektedir.

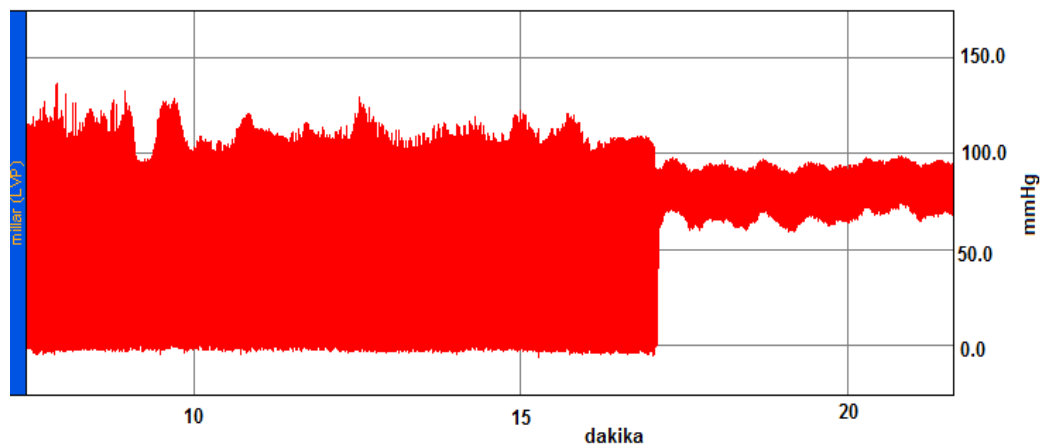
A



B



C



Şekil 4.2. Kontrol (A), Diabet (B) ve SR 59230A tedavili diabet (C) grubundan alınan *in-vivo* kan basıncı ve sol ventrikül basıncı traseleri

Çalışmamızın temel kurgusu, β_3 -AR-aracılı negatif inotropik etkideki olası bir artışın, diabetik ratlarda kardiyak performans bozukluğunda rol oynayabileceği düşüncesine dayanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda, tercihi (preferential) β_3 -AR agonisti BRL 37344'ün diabetik ratlardan izole edilen kalplerde LVDP, +dP/dT ve -dP/dT üzerindeki etkileri Langendorff tekniği kullanılarak kontrollerle karşılaştırılmıştır. İnsan kardiyomiyositlerinde gerçekleştirilen çok sayıda araştırmada selektif β_3 -AR uyarısının negatif inotropik etkiye yol açtığı gösterilmiştir (Rozec ve Gauthier, 2006). Benzer şekilde ratlarda da kardiyak β_3 -AR'lerin negatif inotropik etkiye aracılık ettiği bildirilmiştir (Gauthier ve ark., 2000). İnsanlarda kardiyak β_3 -AR ekspresyonunun fazla olması nedeniyle bu reseptör alttipinin aracılık ettiği negatif inotropik etkinin karakterizasyonu için doğal olarak insan kardiyomiyositleri kullanılmalıdır. Kardiyomiyositler ise kardiyak transplantasyon hastalarına uygulanan endomiyokardial biyopsi örneklerinden alınmaktadırlar. Ne var ki, bu aşamada böyle bir olanaktan yoksun olduğumuz için araştırmamızda β_3 -AR uyarısına yanıtverirliği daha az olmasına karşın rat kalp dokuları kullanılmıştır. Buna ek olarak, β_3 -AR agonistlerinin, vasküler düz kastaki β_3 -AR uyarısının yol açtığı barorefleks aktivasyon ile ilişkili olarak *in vivo* çalışmalarda kalbin çalışmasını hızlandırdıkları belirlenmiştir (Wheeldon ve ark., 1993; Berlan ve ark., 1994). Bu nedenle, β_3 -AR uyarısından kaynaklanabilecek periferik vazodilatasyonun yanıtıcı etkisinden kurtulmak için araştırmamızda Langendorff perfüze kalp preparatları kullanılmıştır. Bu doğrultuda elde ettiğimiz sonuçlar, BRL 37344'ün kontrol ratlarda LVDP değerlerini, bazal değerlere göre azalttığı bulunmuştur. BRL 37344'ün sözü edilen negatif inotropik etkisi 10^{-10} - 10^{-7} mol/L aralığında konsantrasyon-bağımlı bir şekilde gelişmiştir. Ne var ki, 10^{-6} mol/L konsantrasyona ulaşıldığında pozitif inotropik etkiye dönüşmüştür (Şekil 3.2). β_3 -AR agonistlerinin yüksek konsantrasyonlarda β_3 -AR'leri değil β_1 - ve β_2 -AR'leri etkilediği ve bu alttiplerin stimülasyonu sonucu pozitif inotropik etki gösterdiği düşünülmektedir (Kitamura ve ark., 2000). Bu nedenle 10^{-6} mol/L konsantrasyonda gözlediğimiz pozitif inotropik etki şaşırtıcı değildir. Kaldı ki, laboratuvarımızda daha önce gerçekleştirilen bir araştırmada BRL 37344'ün 10^{-6} mol/L konsantrasyonda oluşturduğu pozitif inotropik etkinin bir β_1 / β_2 -AR antagonisti olan nadolol ile belirgin olarak inhibe edildiği gösterilmiştir (Kaykı ve ark., 2009). Öte yandan, BRL

37344'ün 10^{-10} - 10^{-7} mol/L konsantrasyon aralığında oluşturduğu negatif inotropik etkinin β_3 -AR-aracılı olduğunu doğrulamak amacıyla BRL 37344'ün etkileri selektif β_3 -AR antagonisti SR 59230A varlığında da araştırılmıştır. SR 59230A ile perfüze edilen preparatlarda BRL 37344'ün negatif inotropik etkinliğinin ortadan kalkması, sözü edilen etkinin β_3 -AR'ler aracılığıyla oluştuğunu kanıtlamaktadır (Şekil 3.3). Buna ek olarak, araştırmamızda BRL 37344'ün kontrol ratlarda sol ventrikül kontraktilesi ile ilişkili olarak kasılma ve gevşeme hızlarının göstergeleri olan $+dP/dT$ ve $-dP/dT$ değerlerini de belirgin olarak azalttığı saptanmıştır (Şekil 3.2). β_3 -AR agonistlerinin lusitropik fonksiyon üzerindeki etkinliğine ilişkili olarak oldukça az sayıda araştırma gerçekleştirilmiştir. Ancak, elde ettiğimiz sonuçlar sözü edilen araştırmalardaki sonuçlarla örtüşmektedir. Gerçekten de BRL 37344'ün ratlarda (Barbier ve ark., 2007; Kaykı ve ark., 2009) ve kobaylarda (Kitamura ve ark., 2000) $+dP/dT$, $-dP/dT$ değerlerini azalttığı gösterilmiştir. İlginç olarak, BRL 37344'ün LVDP, $+dP/dT$ ve $-dP/dT$ üzerindeki etkilerinin, bir başka anlatımla inotropik ve lusitropik fonksiyonları azaltıcı etkinliğinin diabetik ratlarda kontrollere oranla belirgin olarak arttığı gözlenmiştir (Şekil 3.2). Aslında, önceki araştırmalarımızın sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde, β_3 -AR-aracılı kardiyak yanıtların arttığını gösteren bulgularımız şaşırtıcı değildir. Laboratuvarımızda daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda, 8 haftalık diabetik ratlarda kardiyak β_3 -AR mRNA ekspresyonlarının (Kaykı ve ark., 2009); 14 haftalık diabetik ratlarda ise hem mRNA hem de protein ekspresyonlarının arttığı (Dincer ve ark., 2001) gösterilmiştir. Benzer şekilde bu çalışmada da 7 haftalık diabetik ratlarda kardiyak β_3 -AR'leri kodlayan mRNA düzeylerinin anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir (Şekil 3.4). mRNA ekspresyonlarındaki değişiklikler her koşulda protein ekspresyonlarına aynen yansımada da hala önemli bir gösterge olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle mRNA sonuçlarına dayanarak, araştırmamızda ölçülmemiş olmasına karşın, 7 haftalık diabetik ratlarda kardiyak β_3 -AR protein ekspresyonlarının artmasını beklemek mantıksal görünmektedir. Bu varsayım doğrultusunda, β_3 -AR-aracılı negatif inotropik ve lusitropik etkinin diabetik ratlarda artması, çok büyük bir olasılıkla bu reseptör alttipinin ekspresyonundaki artıştan kaynaklanmaktadır. Ne var ki, selektif β_3 -AR antagonisti SR 59230A ile tedavi edilen diabetik ratlardan izole edilen kalplerde elde ettiğimiz sonuçlar bu düşüncemizi doğrulamamaktadır.

Çalışmamızda, diabetik ratlarda ortaya çıkacak olası kardiyak değişikliklerin β_3 -AR'lerle ilişkili olduğunun gösterilebilmesi amacıyla bazı diabetik ratlar 6 hafta boyunca sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez i.p. enjeksiyonla 100nmol SR 59230A verilerek tedavi edilmişlerdir. Ancak bu tedavi protokolü, diabette artan β_3 -AR-aracılı fonksiyonel yanıtların kontroller doğrultusunda düzelmesini sağlayamamıştır (Şekil 3.2). SR 59230A tedavisi, diabetik ratlarda BRL 37344 ile elde edilen $-dP/dT$ değerleri üzerinde hiçbir değişiklik oluşturmamıştır. Benzer şekilde, aynı tedavi protokolü diabetik ratlarda BRL 37344 ile uyarılan LVDP ve $+dP/dT$ değerlerine ilişkin maksimum yanıtları da değiştirmemiştir. İlginç olarak, SR 59230A tedavisi, sözü edilen parametreler üzerinde BRL 37344'ün yalnızca düşük konsantrasyonlarda (10^{-10} - ve 10^{-9} mol/L) oluşturduğu artışı kontroller düzeyinde geri döndürebilmiştir (Şekil 3.2). Öte yandan, SR 59230A tedavisi diabetik ratlarda artan β_3 -AR mRNA ekspresyonu üzerinde de anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Elde ettiğimiz bulgular, ilk bakışta, 7-haftalık STZ-diabetin ratlarda yolaştığı kardiyak değişikliklerin β_3 -AR'lerle ilişkisini net olarak ortaya koyamadığı izlenimini vermektedir. Yine de,

- ✓ Diabette azalan LVP değerlerinin *in vivo* β_3 -AR antagonisti (SR 59230 A) tedavisi ile normale dönmesi,
- ✓ Langendorff kalp preparatlarında β_3 -AR agonisti (BRL 37344)'nin negatif inotropik etki göstermesi ve bu etkinin β_3 -AR antagonisti ile perfüze edilen kalp preparatlarında ortadan kalkması,
- ✓ β_3 -AR agonistinin neden olduğu negatif inotropik etkinin ve kalp dokusundaki β_3 -AR'leri kodlayan mRNA ekspresyonlarının diabetik ratlarda artması,

yönündeki bulgularımız, en azından, *kalpte fonksiyonel β_3 -AR'ler bulunduğunu, diabette bu reseptörlerin yanıtverirliğinin arttığını ve diabette LVP (sol ventrikül basıncı)de gözlenen azalmaya bu reseptör alttipinin aracılık edebileceğini* göstermektedir. Ne var ki, SR 59230A ile sağlanan kronik β_3 -AR blokunun diabetik ratlarda ortaya çıkan kardiyak değişikliklerin tümünü düzeltmemesi yukarıdaki yaklaşımımızla örtüşmemektedir. Ancak çelişkili gibi görülen bu durumun açıklanmasına yönelik bazı varsayımlar öne sürülebilir.

- LVEDP değerlerindeki artış, kompanse edilemeyen konjestif kalp yetmezliğinin göstergesidir. Buna ek olarak, LVEDP değerlerindeki artışla sol ventrikül fonksiyon bozukluğunun bağlantılı olduğu da bilinmektedir (Opie, 2003). Millar kateter ile elde edilen bulgularımız diabette de LVP, LVDP ve $\pm dP/dT$ değerlerinin azaldığını ancak LVEDP değerlerinin arttığını göstermektedir. SR 59230A tedavisi sonrasında LVP ve LVDP değerleri kontrol düzeylere ulaşmasına karşın LVEDP ve $\pm dP/dT$ değerlerinde anlamlı bir düzelme saptanamamıştır. Bu sonuçlar, β_3 -AR antagonisti ile yaptığımız tedavinin diabetik ratlarda kardiyak disfonksiyon tablosunu değiştirmeden myokardın kasılma gücünü arttırdığını düşündürmektedir.
- Kalp yetmezliği çok sayıda mekanizmanın yer aldığı bir patofizyolojik süreçtir. Bu nedenle, tek bir komponent ya da mekanizmanın düzeltilmesi, yetmezliğin tümüyle düzeltilmesini sağlamamaktadır. Kaldı ki, β_3 -AR'ler sağlıklı ratlarda kardiyak β -AR'lerin yaklaşık %8'ini oluşturmaktadır (Dincer ve ark., 2001). Bu noktadan yola çıkıldığında, bu reseptör alttipinin aracılık ettiği hemodinamik bozuklukların düzeltilmesi, benzer bir yaklaşımla diabetin neden olduğu kardiyak performans bozukluğunu tümüyle düzeltilmesi için yeterli değildir.
- Ratlarda isoprenalinle indüklenen kalp yetmezliği modelinde kronik SR 59230A tedavisinin ekokardiyografik parametreleri kontroller düzeyine ulaştıramamasına karşın anlamlı olarak iyileştirmiştir (Gan ve ark., 2007). Bu çalışmayla benzer doz ve sürede SR 59230A tedavisi uyguladığımız diabetik ratların kardiyak parametrelerinde aynı etkinlikte bir iyileşme sağlanamamıştır. Bunun nedeni, büyük olasılıkla, yukarıdaki araştırmada kalp yetmezliğinin oluşturulduğu yöntemdir. İki gün üst üste sabah ve akşam yapılan toplam 4 isoprenalin injeksiyonuyla oluşturulan bu modelde ılımlı bir yetmezlik tablosu oluşmaktadır. Bir başka anlatımla, kalp yetmezliğinin “kontrol edilebilir” bir aşamasında tedaviye başlanabilmektedir.

β_3 -AR'ler adipositlerde ve damarlarda da bulunurlar. Bu dokulardaki fonksiyonları belirlenmiş olmasına karşın bu alttipin kardiyak fonksiyonlardaki rolü henüz “varsayım” düzeyindedir. Sempatik sinir sistemi etkinliğindeki aşırı artışın eşlik ettiği egzersiz gibi durumlarda ya da patolojilerde kardiyomyositlerin korunmasına yönelik bir mekanizma olarak uyarıldıkları öne sürülmektedir. Kalp yetmezliği tedavisinde kısa bir süre öncesine kadar, kullanılmaları şöyle dursun kontrendike olan β -bloker ilaçların artık kullanılmaya başlanmasının temel nedenini, sempatik sinir sistemi etkinliğindeki artışın myokardda yolaçtığı progresif hasarı önleme çabası oluşturmaktadır. Ne var ki, yetmezliğin kronik aşamasında β_3 -AR-aracılı negatif inotropik etki myokarddaki depresyonu daha da ağırlaştırarak zararlı olmaktadır (Rozec ve ark., 2003). Sempatik sinir sistemi etkinliğindeki artış ve neden olduğu kardiyak disfonksiyon nedeniyle diabetes mellitus, konjestif kalp yetmezliğine benzemektedir (Ganguly ve ark., 1986; Ganguly ve ark., 1987). Bu noktadan yola çıkıldığında, kardiyak β_3 -AR'lerin diabetteki fonksiyonel rolünün benzer olduğunu düşünmek mantıksal görünmektedir.

Sonuç olarak, araştırmamızda 7-haftalık diabetik ratlarda β_3 -AR-aracılı negatif inotropik etkinin arttığı ancak kronik β_3 -AR blokunun sözü edilen artışı önleyemediği saptanmıştır. Ne var ki, kronik β_3 -AR blokunun LVP ve LVDP gibi bazı hemodinamik parametrelerde diabetin yolaçtığı değişiklikleri geri döndürebilmiştir. Bu da β_3 -AR antagonistlerinin diabetik ratlarda negatif inotropik etkiyi inhibe ederek kardiyak fonksiyonların iyileştirilmesine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Doğal olarak, bu yaklaşımımızın doğrulanabilmesi çok sayıda deneysel ve klinik araştırmayla olanaklıdır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgular 7-haftalık diabetik ratlarda kardiyak hemodinamiklerde değişiklikler oluştuğunu, diabetik kalpte β_3 -AR agonist etkinliğinin ve bu reseptör alttipini kodlayan mRNA ekspresyonunun arttığını göstermektedir. Kardiyak β_3 -AR'lerin negatif inotropik etkiye aracılık ettiği yaklaşık onbeş yıl önce saptanmış, ne var ki, henüz fonksiyonel işlevinin ne olduğu belirlenememiştir. Bu doğrultuda en mantıksal görünen varsayım, diabet ve kalp yetmezliği gibi sempatik sinir sistemi uyarısının arttığı patolojilerin erken döneminde negatif inotropik etkisiyle kalbi koruduğu, ama sonrasında zaten iyi kasılamayan kalbin kontraktilesini daha da bozarak yetmezlik belirtilerini ağırlaştırdığıdır. Diabetik ratlara uyguladığımız uzun süreli SR 59230A (selektif β_3 -AR antagonisti) tedavisinin diabette bozulan bazı hemodinamik parametreleri düzeltmesi, en azından bu değişikliklerin β_3 -AR-aracılı olarak ortaya çıktığını göstermektedir. Ne var ki, SR 59230A tedavisinin diabetin yol açtığı kardiyak disfonksiyonu “bir bütün olarak” iyileştirememesi ise bu patolojik sürecin “çok faktörlü” olduğunu düşündürmektedir. Öte yandan, SR 59230A tedavisinin diabette gözlenen bazı değişiklikler üzerinde de etkili olmaları, ne var ki, bunların istatistiksel olarak anlamsız bulunmaları ise, bir olasılıkla, uyguladığımız tedavi süresi ve dozunun yetersiz olabileceğini göstermektedir. Buna ek olarak, deney gruplarında kullanılan denek sayısının da bundan sonraki çalışmalarda artırılması gereği gözardı edilmemelidir. Daha da önemlisi, benzer çalışmaların insan dokularında da gerçekleştirilmesidir. Bu amaca yönelik olarak, kardiyak transplantasyon hastalarından alınan kardiyomyositler öncelikli olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde bu aşamada böyle bir olanaktan yoksun olmamız nedeniyle araştırmamızda “yanıtverirliği” çok daha az olan rat kalp dokusu kullanılmıştır. Ülkemizde de kalp nakli operasyonlarının daha sık gerçekleştirilmesi durumunda bu olasılık araştırılmalıdır.

ÖZET

β_3 -adrenoseptör Blokağının Ratlarda Diabetin Yolağı Kardiyak Komplikasyonlar Üzerindeki Etkisi

Kardiyak β_1 - ve β_2 -adrenoseptörlerin uyarılması, bilindiğı gibi pozitif inotropik ve kronotropik etkilere yol açar. Ancak, diabet ve kalp yetmezliğinde fonksiyonel yanıtlardaki azalmaya paralel olarak ratlarda kardiyak β_1 -adrenoseptör ekspresyonun da azaldığı gösterilmiştir. Öte yandan kardiyak β_3 -adrenoseptörlerin uyarılması, klasik β_1 - ve β_2 -adrenoseptörlerin tam tersine negatif inotropik etkiye aracılık eder. Buna ek olarak, kardiyak β_3 -adrenoseptör ekspresyonunun diabetik ratlarda ve insanlarda kalp yetmezliğinde belirgin olarak arttığı da saptanmıştır. β_3 -adrenoseptör ekspresyonundaki artış ve kardiyak disfonksiyon arasındaki nedensel ilişki hala araştırılmaktadır, ne var ki, bu alttipin aracılık ettiği kardiyodepresan etkinin hem diabet hem de kalp yetmezliğinin patogeneze katkıda bulunabileceğı düşünülmektedir. Bu noktadan yola çıkarak, çalışmamızda diabetik ratların β_3 -adrenoseptör antagonisti olan SR 59230A ile uzun süreli tedavisinin diabetin yol açtığı kardiyak komplikasyonların önlenmesi açısından yararlı olup olmadığı araştırılmıştır. 7 haftalık diabetik ratlarda kardiyak değişimlerin oluştuğı Millar katater kullanılarak elde edilen *in vivo* bazal hemodinamik sonuçlarla doğrulanmıştır. Diabetik ratlarda LVP, LVDP, +dP/dT, -dP/dT ve kalp atım hızının azaldığı buna karşın LVEDP değerinin arttığı gösterilmiştir. SR 59230A tedavisi ise yalnızca LVP ve LVDP değerlerinin kontrol düzeyler doğrultusunda geri dönmesini sağlamıştır. Öte yandan, çalışmamızda Langendorff perfüze kalp preparatları kullanılarak β_3 -adrenoseptör stimülasyonunun kardiyak performans üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. Bir öncelikli β_3 -adrenoseptör agonisti olan BRL 37344'ün 10^{-10} - 10^{-7} M aralığında konsantrasyon-bağımlı negatif inotropi etki oluşturduğu ve bu etkinin selektif β_3 -adrenoseptör antagonisti SR 59230A ile ortadan kaldırıldığı belirlenmiştir. Benzer şekilde BRL 37344'ün aynı konsantrasyon aralığında +dP/dT ve -dP/dT değerlerini de doz-bağımlı bir biçimde azalttığı saptanmıştır. BRL 37344'ün sözü edilen etkileri de SR 59230A ile ortadan kaldırılmıştır. Sonuçlarımız BRL 37344'ün kardiyak etkilerinin β_3 -adrenoseptörler aracılığıyla oluştuğunu göstermektedir. İlginç olarak, BRL 37344'ün LVDP, +dP/dT ve -dP/dT üzerindeki etkilerinin 7 haftalık diabetik ratlarda anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. Buna ek olarak, 7 haftalık diabetik ratlarda kardiyak β_3 -adrenoseptörleri kodlayan mRNA ekspresyonu da artmaktadır. Diabetik ratlara uygulanan *in vivo* SR 59230A tedavisi ise ne BRL 37344'ün kardiyak kontraktilite üzerindeki etkisini ne de artan mRNA düzeylerini kontrol değerlere geri döndürememiştir. Sonuç olarak diabetin kardiyak kontraktilite üzerinde yol açtığı değişimlerden bazıları SR 59230A tedavisi ile düzeltilebilmesine karşın kardiyak fonksiyon önemli ölçüde iyileştirilememiştir. Sonuçlarımız, diabetin neden olduğu kardiyak disfonksiyonun çok faktörlü bir patolojik süreç olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: β_3 -adrenoseptörler, diabet, kalp yetmezliği, LVDP, SR 59230A

SUMMARY

The Effect of β_3 -adrenoceptor Blocking on Diabetes-induced Cardiac Complications

As is well known, the stimulation of cardiac β_1 - and β_2 -adrenoceptors causes positive inotropic and chronotropic effects. However, in accordance with the decreased functional responses, a decreased expression of cardiac β_1 -adrenoceptors has been demonstrated in rats with diabetes or heart failure. Stimulation of cardiac β_3 -adrenoceptors, on the other hand, mediate negative inotropic effect in contrast to classical β_1 - and β_2 -adrenoceptors. In addition, cardiac β_3 -adrenoceptors are upregulated in experimental diabetes and also in human heart failure. Although the causal relationship between the upregulation of β_3 -adrenoceptors and impaired cardiac function is still under investigation, the cardiodepressant effect mediated by this subtype has been proposed to contribute to the cardiac dysfunction in both pathologies. Therefore, in the present study we investigated whether the long-term β_3 -adrenoceptor-blocker treatment of diabetic rats would provide benefits in terms of diabetes-induced cardiac complications. Cardiac alterations induced by 7-week-STZ-diabetes were verified by the results of *in vivo* basal hemodynamics obtained by Millar catheterization. LVP, LVDP, +dP/dT, -dP/dT and heart rate values were all decreased while LVEDP was increased in diabetes, but only the LVP and LVDP values were restored to control values with SR 59230A treatment, a selective β_3 -adrenoceptor antagonist, started after 5 days of diabetes induction. In another set of experiments, on the other hand, the effect of β_3 -AR stimulation on cardiac performance was studied by using Langendorff perfused hearts. BRL 37344, a preferential β_3 -adrenoceptor agonist, induced a concentration-dependent negative inotropic effect at concentrations ranging from 10^{-10} to 10^{-7} M in isolated heart from control rats. The negative inotropic effect of BRL 37344 obtained by assessment of LVDP values was abolished by SR 59230A, a selective β_3 -adrenoceptor antagonist. Similarly, BRL 37344 also dose-dependently decreased +dP/dT and -dP/dT values at the same concentration range mentioned above. These effects of BRL 37344 were also abolished by SR 59230A. These data indicate that cardiac actions of BRL 37344 are coupled to β_3 -adrenoceptors. Interestingly, the effects of BRL 37344 on LVDP, +dP/dT and -dP/dT values were found to be significantly increased in isolated hearts from 7-week diabetic rats. We also observed that 7-week diabetes significantly increased the mRNA levels encoding cardiac β_3 -adrenoceptors. SR 59230A treatment of diabetic rats, did not restore BRL 37344 responses on cardiac contractility to near control values. Increased β_3 -adrenoceptors mRNA expression was not reversed by SR 59230 treatment either. In conclusion, although some of the changes in cardiac contractility due to the diabetes were corrected by SR 59230A treatment, the cardiac function was not greatly improved. Our findings, thus, suggest that diabetes-induced cardiac dysfunction is indeed a pathophysiological process with multiple factors.

Key Words: β_3 -adrenoceptors, diabetes, heart failure, LVDP, SR 59230A

KAYNAKLAR

- ABACI, A., OGUZHAN, A., KAHRAMAN, S., ERYOL, N.K., UNAL, S., ARINC, H., ERGIN, A. (1999). Effect of diabetes mellitus on formation of coronary collateral vessels. *Circulation*, **99**: 2239–2242
- ALMDAL, T., SCHARLING, H., JENSEN, J.S., VESTERGAARD, H. (2004). The independent effect of type 2 diabetes mellitus on ischemic heart disease, stroke, and death: a population-based study of 13,000 men and women with 20 years of follow-up. *Archives of internal medicine*, **164**: 1422-1426
- ALTAN, N., DINCEL, A., KOCA, C. (2006). Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, **31(2)**: 51-56
- ALTAN, V.M. (2003). The pharmacology of diabetic complications. *Current Medicinal Chemistry*, **10**: 1317-1327
- ALTAN, V.M., ARIOGLU, E., GUNER, S., OZCELIKAY, T. (2007). The influence of diabetes on cardiac β -adrenoceptor subtypes. *Heart Failure Reviews*, **12**: 58-65
- ALTSCHULD, R.A., STARLING, R.C., HAMLING, R.L., BILLMAN, G.E., HENSLEY, J., CASTILLO, L., FERTEL, R.H., HOHL, C.M., ROBITAILLE, P.M., JONES, L.R., XIAO, R.P., LAKATTA, E.G. (1995). Response of failing canine and human heart cells to beta 2 adrenergic stimulation. *Circulation*, **92**: 1612-1618
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (2007). Standards of Medical Care in Diabetes-2007. *Diabetes Care*, Volume 30, Supplement 1.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (2008). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, Volume 31, Supplement 1.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (2009). Standards of Medical Care in Diabetes-2009. *Diabetes Care*, Volume 32, Supplement 1.
- ANESINI, C., BORDA, E. (2002). Modulatory effect of the adrenergic system upon fibroblast proliferation: participation of beta 3-adrenoceptors. *Autonomic & Autacoid Pharmacology*, **22**: 177-186
- ARCH, J.R. (2002). Beta(3)-adrenoceptor agonists: potential, pitfalls and progress. *European Journal of Pharmacology*, **440(2-3)**: 99-107
- ARCH, J.R., AINSWORTH, A.T., CAWTHORNE, M.A., PIERCY, V., SENNITT, M.V., THODY, V.E., WILSON, C., WILSON, S. (1984). Atypical beta-adrenoceptor on brown adipocytes as target for anti-obesity drugs. *Nature*, **309(5964)**: 163-165
- ARCH, J.R., KAUMANN, A.J. (1993). Beta 3 and atypical beta-adrenoceptors. *Medicinal Research Reviews*, **13(6)**: 663-729

- BAKER, J.G. (2005). The selectivity of β -adrenoceptor antagonists at the human β_1 , β_2 and β_3 adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*, **144**: 317–322
- BARBIER, J., RANNOU-BEKONO, F., MARCHAIS, J., TANGUY, S., CARRE, F. (2007). Alterations of β_3 -adrenoceptors expression and their myocardial functional effects in physiological model of chronic exercise-induced cardiac hypertrophy. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **300**: 69–75
- BEAVO, J.A. (1995). cGMP inhibition of heart phosphodiesterase: is it clinically relevant? *The Journal of Clinical Investigation*, **95**(2): 445
- BECKMAN, J.A., CREAGER, M.A., LIBBY, P. (2002). Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA*, **287**: 2570–2581
- BEGIN-HEICK, N. (1995). Beta 3-adrenergic activation of adenylyl cyclase in mouse white adipocytes: modulation by GTP and effect of obesity. *Journal of Cellular Biochemistry*, **58**(4): 464–473
- BELL, D.S. (2003). Diabetic cardiomyopathy. *Diabetes Care*, **26**: 2949–2951
- BERKOWITZ, D.E., NARDONE, N.A., SMILEY, R.M., PRICE, D.T., KREUTTER, D.K., FREMEAU, R.T., SCHWINN, D.A. (1995). Distribution of beta 3-adrenoceptor mRNA in human tissues. *European journal of pharmacology*, **289**(2): 223–228
- BERLAN, M., GALITZKY, J., BOUSQUET-MELOU, A., LAFONTAN, M., MONTASTRUC, J.L. (1994). Beta-3 adrenoceptor-mediated increase in cutaneous blood flow in the dog. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **268**(3): 1444–1451
- BETA-BLOCKER EVALUATION of SURVIVAL TRIAL INVESTIGATORS. (2001). A trial of the beta-blocker bucindolol in patients with advanced chronic heart failure. *The New England Journal of Medicine*, **344**(22): 1659–1667
- BIANCHETTI, A., MANARA, L. (1990). In vitro inhibition of intestinal motility by phenylethanolaminotetralines: evidence of atypical beta-adrenoceptors in rat colon. *British Journal of Pharmacology*, **100**(4): 831–839
- BIELAWSKA, A.E., SHAPIRO, J.P., JIANG, L., MELKONYAN, H.S., PIOT, C., WOLFE, C.L., TOMEI, L.D., HANNUN, Y.A., UMANSKY, S.R. (1997). Ceramide is involved in triggering of cardiomyocyte apoptosis induced by ischemia and reperfusion. *The American Journal of Pathology*, **151**: 1257–63
- BLIN, N., CAMOIN, L., MAIGRET, B., STROSBERG, A.D. (1993). Structural and conformational features determining selective signal transduction in the beta 3-adrenergic receptor. *Molecular Pharmacology*, **44**(6): 1094–1104
- BLOCH, W., FLEISCHMANN, B.K., LORKE, D.E., ANDRESEN, C., HOPS, B., HESCHELER, J., ADDICKS, K. (1999). Nitric oxide synthase expression and role during cardiomyogenesis. *Cardiovascular Research*, **43**(3): 675–684

- BOONEN, H.C., DAEMEN, M.J., EERDMANS, P.H., FAZZI, G.E., VAN KLEEF, E.M., SCHIFFERS, P. M., DE MEY, J.G. (1993). Mesenteric small artery changes after vasoconstrictor infusion in young rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **22(3)**: 388–395
- BOOTH, J.V., LANDOLFO, K.P., CHESNUT, L.C., BENNETT-GUERRERO, E., GERHARDT, M.A., ATWELL, D.M. (1998). Acute depression of myocardial beta-adrenergic receptor signaling during cardiopulmonary bypass: impairment of the adenylyl cyclase moiety. Duke Heart Center Perioperative Desensitization Group. *Anesthesiology*, **89(3)**: 602–611
- BORKOWSKI, K.R., GROS, R., SCHNEIDER, H. (1992). Vascular betaadrenoceptor-mediated responses in hypertension and ageing in rats. *Journal of Autonomic Pharmacology*, **12(6)**: 389–401
- BOSCH, R.F., SCHNECK, A.C., KIEHN, J., ZHANG, W., HAMBROCK, A., EIGENBERGER, B.W. RUB, N., GOGEL, J., MEWIS, C., SEIPEL, L., KUHLEKAMP, V. (2002). Beta3-adrenergic regulation of an ion channel in the heart-inhibition of the slow delayed rectifier potassium current I(Ks) in guinea pig ventricular myocytes. *Cardiovascular Research*, **56(3)**: 393–403
- BOUDINA, S., DALE ABEL, E. (2007). Diabetic cardiomyopathy revisited. *Circulation*, **115**: 3213–3223
- BOULTON, A.J., VINIK, A.I., AREZZO, J.C., BRIL, V., FELDMAN, E.L., FREEMAN, R., MALIK, R.A., MASER, R.E., SOSENKO, J.M., ZIEGLER, D. (2005). Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, **28**: 956–962
- BOYLE, P.J. (2007). Diabetes mellitus and macrovascular disease: mechanisms and mediators. *The American Journal of Medicine*, **120**: S12–17
- BROWNLEE, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, **414**: 813–820
- BROWNLEE, M. (2005). The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*, **54(6)**: 1615–1625
- CAMPBELL, D.L., STAMLER, J.S., STRAUSS, H.C. (1996). Redox modulation of L-type calcium channels in ferret ventricular myocytes. Dual mechanism regulation by nitric oxide and S-nitrosothiols. *The Journal of General Physiology*, **108(4)**: 277–293
- CANDELORE, M.R., DENG, L., TOTA, L., GUAN, X.M., AMEND, A., LIU, Y., NEWBOLD, R., CASCIERI, M.A., WEBER, A.E. (1999). Potent and selective human beta(3)-adrenergic receptor antagonists. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **290(2)**: 649–655
- CARVALHO, M.H., SCIVOLETTO, R., FORTES, Z.B., NIGRO, D., CORDELLINI, S. (1987). Reactivity of aorta and mesenteric microvessels to drugs in spontaneously hypertensive rats: role of the endothelium. *Journal of Hypertension*, **5(3)**: 377–382

- CESARIO, D.A., BRAR, R., SHIVKUMAR, K. (2006). Alterations in ion channel physiology in diabetic cardiomyopathy. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, **35**(3): 601-610, ix-x
- CHAMBERLAIN, P.D., JENNINGS, K.H., PAUL, F., CORDELL, J., BERRY, A., HOLMES, S.D. PARK, J., CHAMBERS, J., SENNITT, M.V., STOCK, M.J., CAWTHORNE, M.A., YOUNG, P.W., MURPHY, G.J. (1999). The tissue distribution of the human beta3-adrenoceptor studied using a monoclonal antibody: direct evidence of the beta3-adrenoceptor in human adipose tissue, atrium and skeletal muscle. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, **23**(10): 1057-1065
- CHATHAM, J.C., FORDER, J.R., MCNEILL, J.H. (1996). *The Heart in Diabetes*. Norwell: Kluwer Academic Publishers, 1. Bask1.
- CHAUDHRY, A., MACKENZIE, R.G., GEORGIC, L.M., GRANNEMAN, J.G. (1994). Differential interaction of beta 1- and beta 3-adrenergic receptors with Gi in rat adipocytes. *Cellular Signaling*, **6**(4): 457-465
- CHENG, H.J., ZHANG, Z.S., ONISHI, K., UKAI, T., SANE, D.C., CHENG, C.P. (2001). Upregulation of functional beta(3)-adrenergic receptor in the failing canine myocardium. *Circulation Research*, **89**(7): 599-606
- CHEN-IZU, Y., XIAO, R.P., IZU, L.T., CHENG, H., KUSCHEL, M., SPURGEON, H., LAKATTA, E.G. (2000). Gi dependent localization of beta 2 adrenergic receptor signaling to L type Ca⁺⁺ channels. *Biophysical Journal*, **79**: 2547-2556
- CHESLEY, A., LUNDBERG, M.S. ASAI, T., XIAO, R.P., OHTANI, S., LAKATTA, E.G., CROW, M.T. (2000). The beta(2)-adrenergic receptor delivers an antiapoptotic signal to cardiac myocytes through G(i)-dependent coupling to phosphatidylinositol 3'-kinase. *Circulation Research*, **87**: 1172-1179
- CHOI, K.M., ZHONG, Y., HOIT, B.D., GRUPP, I.L., HAHN, H., DILLY, K.W., GUATIMOSIM, S., LEDERER, W.J., MATLIB, M.A. (2002). Defective intracellular Ca(2+) signaling contributes to cardiomyopathy in type 1 diabetic rats. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, **283**: H1398-H1408
- CHRISTLIEB, A.R., LONG, R., UNDERWOOD, R.H. (1979). Renin-angiotensin aldosterone system, electrolyte homeostasis and blood pressure in alloxan diabetes. *The American journal of the medical sciences*, **277**:295-303
- CLARK, B.J., BERTHOLET, A. (1983). Effects of pindolol on vascular smooth muscle. *General Pharmacology*, **14**(1): 117-119
- CLOUTIER, F., COUTURE, R. (2000). Pharmacological characterization of the cardiovascular responses elicited by kinin B(1) and B(2) receptor agonists in the spinal cord of streptozotocin-diabetic rats. *British Journal of Pharmacology*, **130**: 375-385

- COHEN, M.L., BLOOMQUIST, W., KRIAUCIUNAS, A., SHUKER, A., CALLIGARO, D. (1999). Aryl propanolamines: comparison of activity at human beta3 receptors, rat beta3 receptors and rat atrial receptors mediating tachycardia. *British Journal of Pharmacology*, **126**(4): 1018–1024
- COMMUNAL, C., SINGH, K., SAWYER, D.B., COLUCCI, W.S. (1999). Opposing effects of beta(1)- and beta(2)-adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis: role of a pertussis toxin-sensitive G protein. *Circulation*, **100**: 2210–2212
- CRAVEN, P.A., STUDER, R.K., DeRUBERTIS, F.R. (1994). Impaired nitric oxide-dependent cyclic guanosine monophosphate generation in glomeruli from diabetic rats. Evidence for protein kinase C-mediated suppression of the cholinergic response. *The Journal of Clinical Investigation*, **93**: 311–320
- DAI, S., FRASER, H., YUEN, V.G., MCNEILL, J.H. (1994). Improvement in cardiac function in streptozotocin-diabetic rats by salt loading. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **72**: 1288–1293
- DALL'AGO, P., FERNANDES, T.G., MACHADO, U.F., BELLÓ, A.A., IRIGOYEN, M.C. (1997). Baroreflex and chemoreflex dysfunction in streptozotocin diabetic rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **30**: 119–124
- DE ANGELIS, K.L.D., OLIVEIRA, A.R., DALL'AGO, P., PEIXOTO, L.R.A., GADONSKY, G., LACCHINI, S., FERNANDES, T.G., IRIGOYEN, M.C. (2000). Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin diabetic rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **33**: 635–641
- DE CHAMPLAIN, J. (2001). Do most antihypertensive agents have a sympatholytic action? *Current Hypertension Reports*, **3**(4): 305–313
- DE GROOT, A.A., MATHY, M.J., VAN ZWIETEN, A., PETERS, S.L. (2003). Involvement of the beta3 adrenoceptor in nebivolol-induced vasorelaxation in the rat aorta. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **42**(2): 232–236
- DEGENHARDT, T.P., THORPE, S.R., BAYNES, J.W. (1998). Chemical modification of proteins by methylglyoxal. *Cellular and molecular biology*, **44**: 1139–1145
- DESSY, C., MONIOTTE, S., GHISDAL, P., HAVAUX, X., BALIIGAND, J.L. (2004). Endothelial beta3-adrenoceptors mediate vasorelaxation of human coronary microarteries through nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization. *Circulation*, **110**(8): 948–954
- DHALLA, N.S., LIU, X., PANAGIA, V., TAKEDA, N. (1998). Subcellular remodeling and heart dysfunction in chronic diabetes. *Cardiovascular Research*, **40**: 239–247
- DINCER, U.D., BIDASEE, K.R., GUNER, S., TAY, A., OZCELIKAY, A.T., ALTAN, V.M. (2001). The effect of diabetes on expression of beta1-, beta2-, and beta3-adrenoceptors in rat hearts. *Diabetes*, **50**(2): 455–461
- DOGGRELL, S.A., SURMAN, A.J. (1995). Loss of maximum attenuation and receptor reserve for isoprenaline at the beta 2-adrenoceptors of the portal veins of hypertensive rats. *Journal of Hypertension*, **13**(9): 1023–1029

- DOLAN, J.A., MUENKEL, H.A., BURNS, M.G., PELLEGRINO, S.M., FRASER, C.M., PIETRI, F., STROSBERG, A.D., LARGIS, E.E., DUTIA, M.D., BLOOM, J.D., BASS, A.S., TANIKELLA, T.K., COBUZZI, A., LAI, F.M., CLAUS, T.H. (1994). Beta-3 adrenoceptor selectivity of the dioxolane dicarboxylate phenethanolamines. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **269**(3): 1000-1006
- DONCKIER, J.E., MASSART, P.E., VAN MECHELEN, H., HEYNDRIX, G.R., GAUTHIER, C., BALLIGAND, J.L. (2001). Cardiovascular effects of beta 3-adrenoceptor stimulation in perinephritic hypertension. *European Journal of Clinical Investigation*, **31**(8): 681-689
- DU, X.L., EDELSTEIN, D., ROSETTI, L., FANTUS, I.G., GOLDBERG, H., ZIYADEH, F., WU, J., BROWNLEE, M. (2000). Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**: 12222-12226
- DUMAS, J.P., GOIRAND, F., BARDOU, M., DUMAS, M., ROCHETTE, L., ADVENIER, C., GIUDICELLI, J.F. (1999). Role of potassium channels and nitric oxide in the relaxant effects elicited by beta-adrenoceptor agonists on hypoxic vasoconstriction in the isolated perfused lung of the rat. *British Journal of Pharmacology*, **127**(2): 421-428
- EL-ARMOUCHE, A., ZOLK, O., RAU, T., ESCHENHAGEN, T. (2003). Inhibitory Gproteins and their role in desensitization of the adenylyl cyclase pathway in heart failure. *Cardiovascular Research*, **60**(3): 478-487
- EMORINE, L., BLIN, N., STROSBERG, A.D. (1994). The human beta 3-adrenoceptor: the search for a physiological function. *Trends in Pharmacological Sciences*, **15**(1): 3-7
- EMORINE, L.J., MARULLO, S., BRIEND-SUTREN, M.M., PATEY, G., TATE, K., DELAVIER-KLUTCHKO, C., STROSBERG, A.D. (1989). Molecular characterization of the human beta 3- adrenergic receptor. *Science*, **245**(4922): 1118-1121
- ENDO, M. (2006). Signal transduction and Ca²⁺ signaling in intact myocardium. *Journal of Pharmacological Sciences*, **100**: 525-537
- EVANS, B.A., PAPAIOANNOU, M., BONAZZI, V.R., SUMMERS, R.J. (1996). Expression of β_3 -adrenoceptor mRNA in rat tissues. *British Journal of Pharmacology*, **117**(1): 210-216
- FANG, Z.Y., PRINS, J.B., MARWICK, T.H. (2004). Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications. *Endocrine reviews*, **25**:543-567
- FELDMAN, R.D. (1987). Beta-adrenergic receptor alterations in hypertension—physiological and molecular correlates. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **65**(8): 1666-1672

- FIORDALISO, F., LI, B., LATINI, R., SONNENBLICK, E.H., ANVERSA, P., LERI, A., KAJSTURA, J. (2000). Myocyte death in streptozotocin-induced diabetes in rats in angiotensin II- dependent. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, **80**:513-527
- FONG, D.S., AIELLO, L., GARDNER, T.W., KING, G.L., BLANKENSHIP, G., CAVALLERANO, J.D., FERRIS, F.L., KLEIN, R. (2004). Retinopathy in Diabetes. *Diabetes Care*, **27**: 84S-87S
- FORREST, R.H., HICKFORD, J.G. (2000). Rapid communication: nucleotide sequences of the bovine, caprine, and ovine beta3-adrenergic receptor genes. *Journal of Animal Science*, **78**(5): 1397-1398
- FRIEDMAN, M., WANG, S.Y., STAHL, G.L., JOHNSON, R.G., SELLKE, F.W. (1995). Altered beta-adrenergic and cholinergic pulmonary vascular responses after total cardiopulmonary bypass. *Journal of Applied Physiology*, **79**(6): 1998–2006
- FRUSTACI, A., KAJSTURA, J., CHIMENTI, C., JAKONIUK, I., LERI, A., MASERI, A., NADAL-GINARD, B., ANVERSA, P. (2000). Myocardial cell death in human diabetes. *Circulation Research*, **87**:1123-1132
- GALITZKY, J., REVERTE, M., PORTILLO, M., CARPENE, C., LAFONTAN, M., BERLAN, M. (1993). Coexistence of beta 1-, beta 2-, and beta 3-adrenoceptors in dog fat cells and their differential activation by catecholamines. *The American journal of physiology*, **264**(3 Pt 1): E403-E412
- GAN, R.T., LI, W.M., XIU, C.H., SHEN, J.X., WANG, X., WU, S., KONG, Y.H. (2007). Chronic blocking of β 3-adrenoceptor ameliorates cardiac function in rat model of heart failure. *Chinese Medical Journal*, **120**(24): 2250-2255
- GANGULY, P.K., DHALLA, K.S., INNES, I.R., BEAMISH, R.E., DHALLA, N.S. (1986). Altered norepinephrine storage, distribution, and release in diabetic cardiomyopathy. *Circulation Research*, **59**: 684-693
- GANGULY, P.K., BEAMISH, R.E., DHALLA, K.S., INNES, I.R., DHALLA, N.S. (1987). Norepinephrine storage, distribution and release in diabetic cardiomyopathy. *The American Journal of Physiology*, **252**: E734-E739
- GANZ, M.B., SEFTTEL, A. (2000). Glucose-induced changes in protein kinase C and nitric oxide are prevented by vitamin E. *American Journal of Physiology*, **278**: E146-E152
- GAUTHIER, C., LANGIN, D., BALLIGAND, J.L. (2000). Beta3-adrenoceptors in the cardiovascular system. *Trends in Pharmacological Sciences*, **21**(11): 426-431
- GAUTHIER, C., LEBLAIS, V., KOBZIK, L., TROCHU, J.N., KHANDOUDI, N., BRIL, A., BALLIGAND, J.L., LE MAREC, H. (1998). The negative inotropic effect of beta3-adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle. *The Journal of Clinical Investigation*, **102**(7): 1377-1384
- GAUTHIER, C., TAVERNIER, G., CHARPENTIER, F., LANGIN, D., LE MAREC, H. (1996). Functional b3-adrenoceptor in the human heart. *The Journal of clinical investigation*, **98**: 556-562

- GAUTHIER, C., TAVERNIER, G., TROCHU, J.N., LEBLAIS, V., LAURENT, K., LANGIN, D., ESCANDE, D., LE MAREC, H. (1999). Interspecies differences in the cardiac negative inotropic effects of beta(3)-adrenoceptor agonists. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **290**(2): 687-693
- GAUTHIER, C., SEZE-GOISMIER, C., ROZEC, B. (2007). Beta 3-adrenoceptors in the cardiovascular system. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, **37**: 193-204
- GEORGE, M.S., PITT, G.S. (2006). The real estate of cardiac signaling: location, location, location. *PNAS*, **103**(20): 7535-7536
- GERMACK, R., DICKENSON, J.M. (2006). Induction of beta3-Adrenergic receptor functional expression following chronic stimulation with noradrenaline in neonatal rat cardiomyocytes. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **316**(1): 392-402
- GIARDINO, I., EDELSTEIN, D., BROWNLEE, M. (1994). Nonenzymatic glycosylation in vitro and in bovine endothelial cells alters basic fibroblast growth factor activity. A model for intracellular glycosylation in diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*, **94**: 110-117
- GOLDHABER, J.I., KIM, K.H., NATTERSON, P.D., LAWRENCE, T., YANG, P., WEISS, J.N. (1996). Effects of TNF-alpha on [Ca²⁺]_i and contractility in isolated adult rabbit ventricular myocytes. *The American Journal of Physiology*, **271**(4 Pt 2): H1449-H1455
- GREENE, D.A. (1991). Prevention and treatment of neuropathy. In *Pharmacology of Diabetes, Present Practice and Future Perspectives*, ed. by C.E. Morgensen and E. Standl, Walter de Gruyter, Berlin, **297-324**
- GROSS, W.L., BAK, M.I., INGWALL, J.S., ARSTALL, M.A., SMITH, T.W., BALLIGAND, J.L., KELLY, R.A. (1996). Nitric oxide inhibits creatine kinase and regulates rat heart contractile reserve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **93**(11): 5604-5609
- GROSS, J.L., De AZEVEDO, M.J., SILVEIRO, S.P., CANANI, L.H., CARAMORI, M.L., ZELMANOVITZ, T. (2005). Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care*, **28**: 164-176
- GUYTON&HALL, (2007). Tıbbi Fizyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri, 11. Baskı. Bölüm 78
- HAMMES, H.P., MARTIN, S., FEDERLIN, K., GEISEN, K., BROWNLEE, M. (1991). Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **88**: 11555-11559
- HEBDEN, R.A., GARDINER, S.M., BENNETT, T., MACDONALD, I.A. (1986). The influence of streptozotocin-induced diabetes mellitus on fluid and electrolyte handling in rats. *Clinical Science*, **70**: 111-117
- HEYLIGER, C.E., PIERCE, G.N., SINGAL, P.K., BEAMISH, R.E., DHALLA, N.S. (1982). Cardiac alpha- and beta-adrenergic receptor alterations in diabetic cardiomyopathy. *Basic Research in Cardiology*, **77**: 610-618

- HORIE, K., MIYATA, T., MAEDA, K., MIYATA, S., SUGIYAMA, S., SAKAI, H., Van YPERSOLE De STRIHOU, C., MONNIER, V.M., WITZTUM, J.L., KUROKAWA, K. (1997). Immunohistochemical colocalization of glycoxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. Implication for glycoxidative stress in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *The Journal of Clinical Investigation*, **100**: 2995–2999
- HORINOUCI, T., KOIKE, K. (2001). Agonist activity of SR59230A at atypical β -adrenoceptors in guinea pig gastric fundus and duodenum. *European Journal of Pharmacology*, **416**: 165–168
- HUTCHINSON, D.S., BENGTSSON, T., EVANS, B.A., SUMMERS, R.J. (2002). Mouse beta 3a- and beta 3b-adrenoceptors expressed in Chinese hamster ovary cells display identical pharmacology but utilize distinct signaling pathways. *British Journal of Pharmacology*, **135**(8): 1903–1914
- HUTCHINSON, D.S., SATO, M., EVANS, B.A., CHRISTOPOULOS, A., SUMMERS, R.J. (2005). Evidence for pleiotropic signaling at the mouse β 3-adrenoceptor revealed by SR59230A [3-(2-ethylphenoxy)-1-[(1,S)-1,2,3,4-tetrahydronaph-1-ylamino]-2S-2-propanol oxalate]. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **312**: 1064–1074
- ISHII, H., JIROUSEK, M.R., KOYA, D., TAKAGI, C., XIA, P., CLERMONT, A., BURSELL, S., KERN, T., BALLAS, L.M., HEATH, W.F., STRAMM, L.E., FEENER, E.P., KING, G.L. (1996). Amelioration of vascular dysfunction in diabetic rats by an oral PKC beta inhibitor. *Science*, **272**: 728–731
- IWASE, M., ICHIKAWA, K., TASHIRO, K., IINO, K., SHINOHARA, N., IBAYASHI, S., YOSHINARI, M., FUJISHIMA, M. (2000). Effects of monosodium glutamate-induced obesity in spontaneously hypertensive rats vs. Wistar Kyoto rats: serum leptin and blood flow to brown adipose tissue. *Hypertension Research*, **23**(5): 503–510
- JACKSON, C.V., CARRIER, G.O. (1983). Influence of short-term experimental diabetes on blood pressure and heart in response to norepinephrine and angiotensin II in the conscious rat. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **5**(2): 260–265
- JOHNSTONE, M.T., CREAGER, S.J., SCALES, K.M., CUSCO, J.A., LEE, B.K., CREAGER, M.A. (1993). Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*, **88**(6): 2510–2516
- JOSEPH, S.S., LYNHAM, J.A., MOLENAAR, P., GRACE, A.A., COLLEDGE, W.H., KAUMANN, A.J. (2003). Intrinsic sympathomimetic activity of (–)-pindolol mediated through a (–)-propranolol-resistant site of the beta1-adrenoceptor in human atrium and recombinant receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, **368**(6): 496–503
- KANNEL, W.B., MCGEE, D.L. (1979). Diabetes and cardiovascular risk factors: the Framingham study. *Circulation*, **59**: 8–13
- KARASU, C., OZTURK, Y., YILDIZOGLU-ARI, N., IKIZLER, C., ALTAN, V.M. (1990). Thyroid hormones mediated effect of insulin on alloxan diabetic rat atria. *General Pharmacology*, **21**: 735–740

- KARASU, C., ALTAN, V.M. (1993). The role of endothelial cells on the alterations in vascular reactivity induced by insulin-dependent diabetes mellitus: effects of insulin treatment. *General Pharmacology*, **24(3)**: 743-755
- KATHOFER, S., ZHANG, W., KARLE, C., THOMAS, D., SCHOELS, W., KIEHN, J. (2000). Functional coupling of human beta 3-adrenoreceptors to the KvLQT1/MinK potassium channel. *The Journal of Biological Chemistry*, **275(35)**: 26743–26747.
- KAUMANN, A.J., BARTEL, S., MOLENAAR, P., SANDERS, L., BURRELL, K., VETTER, D., HEMPEL, P., KARCZEWSKI, P., KRAUSE, E.G. (1999). Activation of beta 2 adrenergic receptors hastens relaxation and mediates phosphorylation of phospholamban, troponin I, and C protein in ventricular myocardium from patients with terminal heart failure. *Circulation*, **99**: 65-72
- KAUMANN, A.J., MOLENAAR, P. (1996). Differences between the third cardiac beta-adrenoceptor and the colonic beta 3-adrenoceptor in the rat. *British Journal of Pharmacology*, **118(8)**: 2085-2098
- KAUMANN, A.J., MOLENAAR, P. (1997). Modulation of human cardiac function through 4 beta-adrenoceptor populations. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, **355(6)**: 667-681
- KAUMANN, A.J., SANDERS, L., LYNHAM, J.A., BARTEL, S., KUSCHEL, M., KARCZEWSKI, P., KRAUSE, E.G. (1996). Beta 2 adrenoceptor activation by zinterol causes protein phosphorylation, contractile effects and relaxant effects through a cAMP pathway in human atrium. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **163-164**: 113-123
- KAWASUJI, M., TEDORIYA, T., TAKEMURA, H., SAKAKIBARA, N., TAKI, J., WATANABE, Y. (1993). Flow capacities of arterial grafts for coronary artery bypass grafting. *The Annals of Thoracic Surgery*, **56(4)**: 957–962
- KAYKI, G., ARIOGLU, E., OZAKCA, I., OZCELIKAY, A.T., ALTAN, V.M. (2009). The Effects of Diabetes on Beta-3-adrenoceptor-mediated cardiac responses. *Hypertension*, **54**: 1180
- KEOGH, R.J., DUNLOP, M.E., LARKINS, R.G. (1997). Effect of inhibition of aldose reductase on glucose flux, diacylglycerol formation, protein kinase C, and phospholipase A2 activation. *Metabolism*, **46**: 41–47
- KHATTER, J.C., SADRI, P., ZHANG, M., HOESCHEN, R.J. (1996). Myocardial angiotensin II (Ang II) receptors in diabetic rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **793**:466-472
- KHAVANDI, K., KHAVANDI, A., ASGHAR, O., GREENSTEIN, A., WITHERS, S., HEAGERTY, A.M., MALIK, R.A. (2009). Diabetic cardiomyopathy – a distinct disease? *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, **23(3)**: 347-360
- KING, K.D., JONES, J.D., WARTHEN, J. (2005). Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes Mellitus. *American Journal of Pharmaceutical Education*, Vol 69, Issue 5, 87

- KIRSETIN, M., ASTON, C., HINTZ, R., VLASSARA, H. (1992). Receptor-specific induction of insulin-like growth factor I in human monocytes by advanced glycosylation end product-modified proteins. *The Journal of Clinical Investigation*, **90**: 439-446
- KITAMURA, T., ONISHI, K., DOHI, K., OKINAKA, T., ISAKA, N., NAKANO, T. (2000). The negative inotropic effect of beta3-adrenoceptor stimulation in the beating guinea pig heart. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **35**(5): 786-790
- KOHOUT, T.A., TAKAOKA, H., McDONALD, P.H., PERRY, S.J., MAO, L., LEFKOWITZ, R.J., ROCKMAN, H.A. (2001). Augmentation of cardiac contractility mediated by the human beta(3)-adrenergic receptor overexpressed in the hearts of transgenic mice. *Circulation*, **104**(20): 2485-2491
- KONG, Y.H., LI, W.M., TIAN, Y. (2004). Effect of beta3-adrenoreceptors agonist on beta3-adrenoreceptors expression and myocyte apoptosis in a rat model of heart failure. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, **16**(3): 142-147
- KONISHI, M., SU, C. (1983). Role of endothelium in dilator responses of spontaneously hypertensive rat arteries. *Hypertension*, **5**(6): 881-886
- KOYA, D., KING, G.L. (1998). Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*, **47**: 859-866
- KROLEWSKI, A.S., KOSINSKI, E.J., WARRAM, J.H., LELAND, O.S., BUSICK, E.J., ASMAL, A.C., RAND, L.I., CHRISTLIEB, A.R., BRADLEY, R.F., KAHN, C.R. (1987). Magnitude and determinants of coronary artery disease in juvenile-onset, insulin-dependent diabetes mellitus. *The American Journal of Cardiology*, **59**: 750-755
- KUBO, S., MATSUDA, A., OHNUKI, T., HATTORI, K., SUZUKI, J., NAGATOMO, T. (1997). Assessment of beta 2- and beta 3-adrenoceptors in rat white adipose tissues by radioligand binding assay. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **20**(2): 142-148
- KUBOKI, K., JIANG, Z.Y., TAKAHARA, N., HA, S.W., IGARASHI, M., YAMAUCHI, T., FEENER, E.P., HERBERT, T.P., RHODES, C.J., KING, G.L. (2000). Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and in vivo a specific vascular action of insulin. *Circulation*, **101**: 676-681
- KUSCHEL, M., ZHOU, Y.Y., CHENG, H., ZHANG, S.J., CHEN, Y., LAKATTA, E.G., XIAO, R.P. (1999b). Gi protein mediated functional compartmentalization of cardiac beta 2 adrenergic signaling. *The Journal of Biological Chemistry*, **274**(31): 22048-22052
- KUSCHEL, M., ZHOU, Y.Y., SPURGEON, H.A., BARTEL, S., KARCZEWSKI, P., ZHANG, S.J., KRAUSE, E.G., LAKATTA, E.G., XIAO, R.P. (1999a). Beta 2 adrenergic cAMP signaling is uncoupled from phosphorylation of cytoplasmic proteins in canine heart. *Circulation*, **99**: 2458-2465
- KUZNETSOV, V., PAK, E., ROBINSON, R.B., STEINBERG, S.F. (1995). Beta 2 adrenergic receptor actions in neonatal and adult rat ventricular myocytes. *Circulation Research*, **76**: 40-52

- LAING, S.P., SWEDLOW, A.J., CARPENTER, L.M., SLATER, S.D., BURDEN, A.C., BOTHAM, J.L., MORRIS, A.D., WAUGH, N.R., GATLING, W., GALE, E.A., PATTERSON, C.C., QIAO, Z., KEEN, H. (2003). Mortality from cerebrovascular disease in a cohort of 23 000 patients with insulin-treated diabetes. *Stroke*, **34**: 418–421
- LAING, S.P., SWEDLOW, A.J., SLATER, S.D., BURDEN, A.C., MORRIS, A., WAUGH, N.R., GATLING, W., BINGLEY, P.J., PATTERSON, C.C. (2003). Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia*, **46**: 760–765
- LANDS, A.M., ARNOLD, A., McAULIFF, J.P., LUDUENA, F.P., BROWN, T.G. (1967). Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature*, **214**(88):597-598
- LANGIN, D., PORTILLO, M.P., SAULNIER-BLACHE, J.S., LAFONTAN, M. (1991). Coexistence of three beta-adrenoceptor subtypes in white fat cells of various mammalian species. *European Journal of Pharmacology*, **199**(3): 291-301
- LEBLAIS, V., DEMOLOMBE, S., VALLETTE, G., LANGIN, D., BARO, I., ESCANDE, D., GAUTHIER, C. (1999). Beta3-adrenoceptor control the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator through a cAMP/protein kinase A-independent pathway. *The Journal of Biological Chemistry*, **274**(10): 6107-6113
- LEHTO, S., RONNEMAA, T., PYORALA, K., LAAKSO, M. (1996). Predictors of stroke in middle-aged patients with non-insulin-dependent diabetes. *Stroke*, **27**: 63–68
- LENZEN, G., PIETRI-ROUXEL, F., DRUMARE, M.F., AMIARD, A., GUILLOT, S., ARCHIMBAULT, P., STROSBURG, A.D. (1998). Genomic cloning and species-specific properties of the recombinant canine beta3-adrenoceptor. *European Journal of Pharmacology*, **363**(2-3): 217-227
- LIBBY, P., NATHAN, D.M., ABRAHAM, K., BRUNZELL, J.D., FRADKIN, J.E., HAFFNER, S.M., HSUEH, W., REWERS, M., ROBERTS, B.T., SAVAGE, P.J., SKARLATOS, S., WASSEF, M., RABADAN-DIEHL, C. (2005). Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute-National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Working Group on Cardiovascular Complications of Type 1 Diabetes Mellitus. *Circulation*, **111**: 3489–3493.
- LIGGETT, S.B. (1992). Functional properties of the rat and human beta 3-adrenergic receptors: differential agonist activation of recombinant receptors in Chinese hamster ovary cells. *Molecular Pharmacology*, **42**(4): 634-637
- LIGGETT, S.B., FREEDMAN, N.J., SCHWINN, D., LEFKOWITZ, R.J. (1993). Structural basis for receptor subtype-specific regulation revealed by a chimeric beta3/beta 2-adrenergic receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **90**(8): 3665-3669
- LOHSE, M.J., ENGELHARDT, S., ESCHENHAGEN, T. (2003). What is the role of beta-adrenergic signaling in heart failure? *Circulation Research*, **93**(10): 896-906

- LOPASCHUK, G.D., TAHILIANI, A.G., VADLAMUDI, R.V., KATZ, S., McNEILL, J.H. (1983). Cardiac sarcoplasmic reticulum function in insulin- or carnitine-treated diabetic rats. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, **245**: H969-H976
- LOWELL, B.B., SPIEGELMAN, B.M. (2000). Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature*, **404**: 652-660
- MACHACKOVA, J., BARTA, J., DHALLA, N.S. (2005). Molecular defects in cardiac myofibrillar proteins due to thyroid hormone imbalance and diabetes. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **83**: 1071-1091
- MAEDA, C.Y., FERNANDES, T.G., TIMM, H.B., IRIGOYEN, M.C. (1995). Autonomic dysfunction in short-term experimental diabetes. *Hypertension*, **26**: 1000-1004
- MALLEM, M.Y., TOUMANIANTZ, G., SERPILLON, S., GAUTHIER, F., GOGNY, M., DESFONTIS, J.C., GAUTHIER, C. (2004). Impairment of the low-affinity state beta1-adrenoceptor-induced relaxation in spontaneously hypertensive rats. *British Journal of Pharmacology*, **143**(5): 599-605
- MANARA, L., BADONE, D., BARONI, M., BOCCARDI, G., CECCHI, R., CROCI, T., GIUDICE, A., GUZZI, U., LANDI, M., LE FUR, G. (1996). Functional identification of rat atypical beta-adrenoceptors by the first beta 3-selective antagonists, aryloxypropanolaminotetralins. *British Journal of Pharmacology*, **117**(3): 435-442
- MERY, P.F., LOHMANN, S.M., WALTER, U., FISCHMEISTER, R. (1991). Ca²⁺ current is regulated by cyclic GMP-dependent protein kinase in mammalian cardiac myocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **88**(4): 1197-1201
- MICHEL, M.C., BRODDE, O.E., INSEL, P.A. (1990). Peripheral adrenergic receptors in hypertension. *Hypertension*, **16**(2): 107-120
- MOLENAAR, P., SARSERO, D., KAUMANN, A.J. (1997). Proposal for the interaction of non-conventional partial agonists and catecholamines with the 'putative beta 4-adrenoceptor' in mammalian heart. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, **24**(9-10): 647-656
- MONIOTTE, S., VAERMAN, J.L., KOCKX, M.M., LARROURY, D., LANGIN, D., NOIRHOMME, P., BALLIGAND, J.L. (2001). Real-time RT-PCR for the detection of beta adrenoceptor messenger RNAs in small human endomyocardial biopsies. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **33**(12): 2121-2133
- MORIMOTO, A., HASEGAWA, H., CHENG, H., LITTLE, W., CHENG, C.P. (2004). Endogenous beta3-adrenoreceptor activation contributes to left ventricular and cardiomyocyte dysfunction in heart failure. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, **286**(6): H2425-H2433
- NAKAMURA, S., MAKITA, Z., ISHIKAWA, S., YASUMURA, K., FUJII, W., YANAGISAWA, K., KAWATA, T., KOIKE, T. (1997). Progression of nephropathy in spontaneous diabetic rats is prevented by OPB-9195, a novel inhibitor of advanced glycation. *Diabetes*, **46**: 895-899

- NATIONAL DIABETES FACT SHEET, (2007). Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention.
- O'DONNELL, S.R., WANSTALL, J.C. (1985). Responses to the beta 2-selective agonist procaterol of vascular and atrial preparations with different functional beta-adrenoceptor populations. *British Journal of Pharmacology*, **84**(1): 227–235
- OPIE, L.H. (2003). Heart Physiology: From Cell to Circulation. Lippincott Williams and Wilkins, 4th Edition.
- OSSWALD, W., GUIMARAES, S. (1983). Adrenergic mechanisms in blood vessels: morphological and pharmacological aspects. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, **96**: 53–122
- OZUARI, A., OZTURK, Y., YILDIZOGLU-ARI, N., OZCELIKAY, A.T., ALTAN, V.M. (1993). The effects of glyburide and insulin on the cardiac performance in rats with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *General Pharmacology*, **24**(1): 165–169
- PATERSON, A.D., RUTLEDGE, B.N., CLEARY, P.A., LACHIN, J.M., CROW, R.S. (2007). The effect of intensive diabetes treatment on resting heart rate in type 1 diabetes: the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study. *Diabetes Care*, **30**: 2107–2112
- PIERCE, G.N., DHALLA, N.S. (1981). Cardiac myofibrillar ATPase activity in diabetic rats. *Journal of molecular and cellular cardiology*, **13**: 1063–1069
- PIETRI-ROUXEL, F., STROSBERG, A.D. (1995). Pharmacological characteristics and species-related variations of beta 3-adrenergic receptors. *Fundamental and clinical pharmacology*, **9**(3): 211–218
- PORTILLA, D., DAI, G., PETERS, J.M., GONZALEZ, F.J., CREW, M.D., PROIA, A.D. (2000). Etomoxir-induced PPARalpha-modulated enzymes protect during acute renal failure. *American Journal of Physiology, Renal Physiology*, **278**: F667–F675
- POTT, C., BRIXIUS, K., BUNDKIRCHEN, A., BOLCK, B., BLOCH, W., STEINRITZ, D., MEHLHORN, U., SCHWINGER, R.H. (2003). The preferential beta3-adrenoceptor agonist BRL 37344 increases force via beta1/beta2-adrenoceptors and induces endothelial nitric oxide synthase via beta3-adrenoceptors in human atrial myocardium. *British Journal of Pharmacology*, **138**(3): 521–529
- POTT, C., STEINRITZ, D., NAPP, A., BLOCH, W., SCHWINGER, H.G.R., BRIXIUS, K. (2006). Zur funktion des beta 3 adrenozeptors am herzen: signaltransduktion, inotroper effkt und therapeutischer ausblick. *Wiener medizinische Wochenschrift*, **156**(15-16): 451–458
- RAMANADHAM, S., MONGOLD, J.J., BROWNSEY, R.W., CROS, G.H., MCNEILL, J.H. (1989). Oral vanadyl sulfate in treatment of diabetes mellitus in rats. *The American Journal of Physiology*, **257**: 904–911
- RAUTUREAU, Y., TOUMANIANTZ, G., SERPILLON, S., JOURDOZ, P., TROCHU, J.N., GAUTHIER, C. (2002). Beta 3-adrenoceptor in rat aorta: molecular and biochemical characterization and signalling pathway. *British Journal of Pharmacology*, **137**(2): 153–161

- REAVEN, G.M. (1999). Intensive blood pressure/glucose control in type 2 diabetes: why is it so difficult decrease coronary heart disease? *Journal of Human Hypertension*, **13**: 19-S-23
- RETNAKARAN, R., ZINMAN, B. (2008). Type 1 diabetes, hyperglycemia, and the heart. *Lancet*, **371**: 1790-1799
- REUSCH, J.E.B. (2003). Diabetes, microvascular complications, and cardiovascular complications: what is it about glucose? *The Journal of Clinical Investigation*, **112**: 986-988
- ROUGET, C., BREUILLER-FOUCHE, M., MERRIER, F.J., LEROY, M.J., LOUSTALOT, C., NALINE, E. (2004). The human near term myometrial beta 3 adrenoceptor but not the beta 2 adrenoceptor is resistant to desensitization after sustained agonist stimulation. *British Journal of Pharmacology*, **141**(5): 831-841
- ROZEC, B., NOIREAUD, J., TROCHU, J.N., GAUTHIER, C. (2003). Place of β_3 -Adrenoceptors among other β -Adrenoceptor Subtypes in the Regulation of the Cardiovascular System. *Cardiovascular Research*, **96**: 905-913
- ROZEC, B., GAUTHIER, C. (2006). Beta 3 adrenoceptors in the cardiovascular system: Putative roles in human pathologies. *Pharmacology and therapeutics*, **111**(3): 652-673
- ROZEC, B., QUANG, T.T., NOIREAUD, J., GAUTHIER, C. (2006). Mixed beta3-adrenoceptor agonist and alpha1-adrenoceptor antagonist properties of nebivolol in rat thoracic aorta. *British Journal of Pharmacology*, **147**: 699-706
- RYBIN, V.O., XU, X., LISANTI, M.P., STEINBERG, S.F. (2000). Differential targeting of beta adrenergic receptor subtypes and adenylyl cyclase to cardiomyocyte caveola. A mechanism to functionally regulate to cAMP signaling pathway. *The Journal of Biological Physiology*, **275**: 41447-41457
- SAKANE, N., YOSHIDA, T., YOSHIOKA, K., NAKAMURA, Y., UMEKAWA, T., KOGURE, A., TAKAKURA, Y., KONDO, M. (1997). Beta 3-adrenoreceptor gene polymorphism: a newly identified risk factor for proliferative retinopathy in NIDDM patients. *Diabetes*, **46**(10): 1633-1636
- SAKANE, N., YOSHIDA, T., YOSHIOKA, K., NAKAMURA, Y., UMEKAWA, T., KOGURE, A., TAKAKURA, Y., KONDO, M. (1998). Trp64Arg mutation of beta3-adrenoceptor gene is associated with diabetic nephropathy in Type II diabetes mellitus. *Diabetologia*, **41**(12): 1533-1534
- SATO, M., HUTCHINSON, D.S., BENGTSSON, T., FLOREN, A., LANGEL, Ü., HORINOUCI, T., EVANS, B.A., SUMMERS, R.J. (2005). Functional domains of the mouse β_3 -adrenoceptor associated with differential G protein coupling. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **315**: 1354-1361
- SCHAAN, B.D., MAEDA, C.Y., TIMM, H., MEDEIROS, S., MORAES, R., FERLIN, E., FERNANDES, T.G., RIBEIRO, J.P., SCHMID, H., IRIGOYEN, M.C. (1997). Time course of changes in heart rate and blood pressure variability in streptozotocin-induced diabetic rats treated with insulin. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **30**: 1081-1086

- SCHAAN, B.D., DALL'AGO, P., MAEDA, C.Y., FERLIN, E., FERNANDES, T.G., SCHMID, H., IRIGOYEN, M.C. (2004). Relations between cardiovascular dysfunction and hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **37**: 12
- SCHRANZ, D., DROEGE, A., BROEDE, A., BRODERMANN, G., SCHAFER, E., OELERT, H., BROEDE, O.E. (1993). Uncoupling of human cardiac beta-adrenoceptors during cardiopulmonary bypass with cardioplegic cardiac arrest. *Circulation*, **87**(2): 422-426
- SCHULZ, R., RASSAF, T., MASSION, P.B., KELM, M., BALLIGAND, J.L. (2006). Recent advances in the understanding of the role of nitric oxide in cardiovascular homeostasis. *Pharmacology & Therapeutics*, **108**(3): 225-256
- SELKE, F.W., TOFUKUJI, M., STAMLER, A., LI, J., WANG, S.Y. (1997). Beta adrenergic regulation of the cerebral microcirculation after hypothermic cardiopulmonary bypass. *Circulation*, **96**(9 Suppl), II-10
- SEVERSON, D.L. (2004). Diabetic cardiomyopathy: Recent evidence from mouse models of type 1 and type 2 diabetes. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **82**: 813-23
- SHAH, A.M., SPURGEON, H.A., SOLLOTT, S.J., TALO, A., LAKATTA, E.G. (1994). 8-Bromo-cGMP reduces the myofilament response to Ca²⁺ in intact cardiac myocytes. *Circulation Research*, **74**(5): 970-978
- SHEETZ, M.J., KING, G.L. (2002). Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. *The journal of the American Medical Association*, **288**(20): 2579-2588
- SHEN, Y.T., ZHANG, H., VATNER, S.F. (1994). Peripheral vascular effects of beta-3 adrenergic receptor stimulation in conscious dogs. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **268**(1): 466-473
- SHEN, Y.T., CERVONI, P., CLAUS, VATNER, S.F. (1996). Differences in beta 3-adrenergic receptor cardiovascular regulation in conscious primates, rats and dogs. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **278**(3): 1435-1443
- SHINOHARA, K., SHINOHARA, T., MOCHIZUKI, N., MOCHIZUKI, Y., SAWA, H., KOHYA, T., FUJITA, M., FUJIOKA, Y., KITABATAKE, A., NAGASHIMA, K. (1996). Expression of vascular endothelial growth factor in human myocardial infarction. *Heart Vessels*, **11**: 113-122
- SOLANG, L., MALMERG, K., RYDEN, L. (1999). Diabetes mellitus and congestive heart failure. Further knowledge needed. *European Heart Journal*, **20**: 789-795
- SOWER, J.P., EPSTEIN, M., FROHLICH, E.D. (2001). Diabetes, hypertension and cardiovascular disease: an update. *Hypertension*, **37**: 1053-1059
- SOULIS-LIPAROTA, T., COOPER, M., PAPAZOGLU, D., CLARKE, B., JERUMS, G. (1991). Retardation by aminoguanidine of development of albuminuria, mesangial expansion, and tissue fluorescence in streptozocin-induced diabetic rat. *Diabetes*, **40**: 1328-1334

- STROSBERG, A.D. (1997). Structure and function of the beta 3-adrenergic receptor. *Annual review of pharmacology and toxicology*, **37**: 421-450
- STROSBERG, A.D., PIETRI-ROUXEL, F. (1996). Function and regulation of the beta 3-adrenoceptor. *Trends in Pharmacological Sciences*, **17(10)**: 373-381
- SUNDARESAN, P.R., SHARMA, V.K., GINGOLD, S.L., BANERJEE, P.S. (1984). Decreased beta-adrenergic receptor in rat heart in streptozotocin-induced diabetes:role of thyroid hormones. *Endocrinology*, **114**: 1358-1363
- TAVERNIER, G., GALITZKY, J., BOUSQUET-MELOU, A., MONTASTRUC, J.L., BERLAN, M. (1992). The positive chronotropic effect induced by BRL37344 and CGP12177, two beta-3 adrenergic agonists, does not involve cardiac beta adrenoceptors but baroreflex mechanisms. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **263(3)**: 1083-1090
- TAVERNIER, G., TOUMANIANTZ, G., ERFANIAN, M., HEYMANN, M.F., LAURENT, K., LANGIN, D., GAUTHIER, C. (2003). Beta3-adrenergic stimulation produces a decrease of cardiac contractility ex vivo in mice overexpressing the human beta3-adrenergic receptor. *Cardiovascular Research*, **59(2)**: 288-296
- THORNALLEY, P.J. (1990). The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life. *Biochemical Journal*, **269**: 1-11
- THUILLEZ, C., RICHARD, V. (2005). Targeting endothelial dysfunction in hypertensive subjects. *Journal of Human Hypertension*, **19(Suppl 1)**: S21-S25
- TODA, N. (2003). Vasodilating beta-adrenoceptor blockers as cardiovascular therapeutics. *Pharmacology and Therapeutics*, **100(3)**: 215-234
- TORRES, J., DARLEY-USMAR, V., WILSON, M.T. (1995). Inhibition of cytochrome c oxidase in turnover by nitric oxide: mechanism and implications for control of respiration. *Biochemical Journal*, **312(Pt 1)**: 169-173
- TROCHU, J.N., LEBLAIS, V., RAUTUREAU, Y., BEVERELLI, F., LE MAREC, H., BERDEAUX, A., GAUTHIER, C. (1999). Beta 3-adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta. *British Journal of Pharmacology*, **128(1)**: 69
- TSCHOPE, C., SCHULTHEISS, H.P., WALTHER, T. (2002). Multiple interactions between the renin-angiotensin and the kallikrein-kinin systems: role of ACE inhibition and AT1 receptor blockade. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **39**: 478-487
- TSCHOPE, C., WESTERMANN, D. (2008). Development of diabetic cardiomyopathy and the kallikrein-kinin system—new insights from B1 and B2 receptor signaling. *Biological Chemistry*, **389**: 707-711
- TURNER, N.C., WHITE, P. (1996). Effects of streptozotocin-induced diabetes on vascular reactivity in genetically hyperinsulinaemic obese Zucker rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **27(6)**: 884-890

- TYAGI, S.C., RODRIGUEZ, W., PATEL, A.M., ROBERTS, A.M., FALCONE, J.C., PASSMORE, J.C., FLEMING, J.T., JOSHUA, I.G. (2005). Hyperhomocysteinemic diabetic cardiomyopathy: Oxidative stress, remodeling, and endothelial-myocyte uncoupling. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, **10**: 1-10
- UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY (UKPDS) GROUP. (1998). Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*, **352**: 837-853
- VADLAMUDI, R.V., MCNEILL, J.H. (1984). Effect of experimental diabetes on isolated rat heart responsiveness to isoproterenol. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **62**(2): 124-131
- VARGHESE, P., HARRISON, R.W., LOFTHOUSE, R.A., GEORGAKOPOULOS, D., BERKOWITZ, D.E., HARE, J.M. (2000). Beta(3)-adrenoceptor deficiency blocks nitric oxide-dependent inhibition of myocardial contractility. *The Journal of Clinical Investigation*, **106**(5): 697-703
- VLASSARA, H., BROWNLEE M., MONOGUE K.R., DINARELLO, C.A., PASAGIAN, A. (1988). Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science*, **240**: 1546-1548
- VRYDAG, W., MICHEL, M.C. (2007). Tools to study β_3 -adrenoceptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives Pharmacology*, **374**: 385-398
- WAHLER, G.M., DOLLINGER, S.J. (1995). Nitric oxide donor SIN-1 inhibits mammalian cardiac calcium current through cGMP-dependent protein kinase. *The American Journal of Physiology*, **268**(1 Pt 1): C45-C54
- WALSTON, J., SILVER, K., BOGARDUS, C., KNOWLER, W.C., CELI, F.S., AUSTIN, S., MANNING, B., STROSBERG, A.D., STERN, M.P., RABEN, N., SORKIN, J.D., ROTH, J., SHULDINER, A.R. (1995). Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the beta 3-adrenergic-receptor gene. *The New England Journal of Medicine*, **333**(6): 343-347
- WARD, J.D. (1989). Diabetic neuropathy. *British Medical Bulletin*, **45**: 111
- WERSTIUK, E.S., LEE, R.M. (2000). Vascular beta-adrenoceptor function in hypertension and in ageing. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **78**(6): 433-452
- WHEELDON, N.M., McDEVITT, D.G., LIPWORTH, B.J. (1993). Investigation of putative cardiac beta 3-adrenoceptors in man. *The Quarterly Journal of Medicine*, **86**(4): 255-261
- WHEELDON, N.M., McDEVITT, D.G., LIPWORTH, B.J. (1994). Cardiac effects of the beta 3-adrenoceptor agonist BRL35135 in man. *British Journal of Pharmacology*, **37**(4): 363-369
- WILLIAMS, B. (1999). The unique vulnerability of diabetic subjects to hypertensive injury. *Journal of Human Hypertension*, **13**: S3-S8

- WILSON, S., CHAMBERS, J.K., PARK, J.E., LADURNER, A., CRONK, D.W., CHAPMAN, C.G. (1996). Agonist potency at the cloned human beta 3 adrenoceptor depends on receptor expression level and the nature of assay. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **279**(1): 214-221
- WOLD, L.E., CEYLAN-ISIK, A.F., REN, J. (2005). Oxidative stress and stress signaling: Menace of diabetic cardiomyopathy. *Acta pharmacologica Sinica*, **26**: 908-17.
- WORLD HEALTH ORGANISATION (1999). Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation.
- XIA, P., INOBUCHI, T., KERN, T.S., ENGERMAN, R.L., OATES, P.J., KING, G.L. (1994). Characterization of the mechanism for the chronic activation of diacylglycerol-protein kinase C pathway in diabetes and hypergalactosemia. *Diabetes*, **43**: 1122-1129
- XIAO, R.P., HOHL, C., ALTSCHULD, R., JONES, L., LIVINGSTON, B., ZIMAN, B., TANTINI, B., LAKATTA, E.G. (1994). Beta 2 adrenergic receptor stimulated increased in cAMP in the rat heart cells is not coupled to changes in Ca^{++} dynamics, contractility or phospholamban phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*, **269**: 19151-19156
- XIAO, R.P., JI, X., LAKATTA, E.G. (1995). Functional coupling of beta 2 adrenoceptor to a pertussis toxin sensitive G protein in cardiac myocytes. *Molecular Pharmacology*, **47**: 322-329
- XIAO, R.P., TOMHAVE, E.D., WANG, D.J., JI, X., BOLUYT, M.O., CHENG, H., LAKATTA, E.G., KOCH, W.J. (1998). Age associated reductions in cardiac beta1 and beta2 adrenergic responses without changes in inhibitory G proteins or receptor kinases. *The Journal of Clinical Investigation*, **101**: 1273-1281
- XIAO, R.P., ZHU, W., ZHENG, M., CHAKIR, K., BOND, R., LAKATTA, E.G., CHENG, G. (2004). Subtype specific beta adrenoceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications. *Trends in Pharmacological Sciences*, **25**: 358-365
- XIU, L.L., WENG, J.P., SUI, Y., WANG, J., YAN, J.H., HUANG, Z.M. (2004). Common variants in beta 3-adrenergic-receptor and uncoupling protein-2 genes are associated with type 2 diabetes and obesity. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, **84**(5): 375-379
- YASUDA, S., LEW, W.Y. (1997). Lipopolysaccharide depresses cardiac contractility and beta-adrenergic contractile response by decreasing myofilament response to Ca^{2+} in cardiac myocytes. *Circulation Research*, **81**(6): 1011-1020
- YU, Z., MCNEILL, J.H. (1991). Altered inotropic responses in diabetic cardiomyopathy and hypertensive-diabetic cardiomyopathy. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **257**: 64-71
- ZAUGG, M., XU, W., LUCCHINETTI, E., SHAFIG, S.A., JAMALI, N.Z., SIDDIQUI, M.A.Q. (2000). Beta-adrenergic receptor subtypes differentially affect apoptosis in adult rat ventricular myocytes. *Circulation*, **102**: 344-350

- ZHANG, R., MAIER, L.S., DALTON, N.D., MIYAMOTO, S., ROSS, J., BERS, D.M., BROWN, J.H. (2003). The deltaC isoform of CaMKII is activated in cardiac hypertrophy and induced dilated cardiomyopathy and heart failure. *Circulation Research*, **92**: 912-919
- ZHANG, Z.S., CHENG, H.J., ONISHI, K., OHTE, N., WANNENBURG, T., CHENG, C.P. (2005b). Enhanced inhibition of L-type Ca^{2+} current by β -adrenergic stimulation in failing rat heart. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **315**(3): 1203-1211
- ZHAO, X.Y., HU, S.J., LI, J., MOU, Y., CHEN, B.P., XIA, Q. (2006). Decreased cardiac sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase activity contributes to cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of physiology and biochemistry*, **62**: 1-8
- ZHOU, Y.Y., CHENG, H., BOGDANOV, K.Y., HOHL, C., ALTSCHULD, R., LAKATTA, E.G., XIAO, R.P. (1997). Localized cAMP dependent signaling mediates beta 2 adrenergic modulation of cardiac excitation-contraction coupling. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, **273**: H1611-1618

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Tuğçe

Soyadı: Yıldız

Doğum Yeri ve Tarihi: Ankara - 27.07.1983

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Bekar

İletişim Adresi: 72. Sokak 61/8 C-Blok Ön Giriş Emek / ANKARA

e-posta: tugceyildiz@hotmail.com

Telefon: 0 535 889 29 27

Eğitimi: 2006– 2001 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
2000– 1998 Ankara Bahçelievler Deneme Lisesi

Staj: Ağustos 2005 – Temmuz 2005 Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, İlaç ve Kozmetikler Araştırma Müdürlüğü

Yabancı Dili: İngilizce

Mesleki Deneyimi: – Kasım 2008 Drog-san İlaçları San. ve Tic. A.Ş. (Ruhsatlandırma Sorumlusu)

Bilimsel Etkinlikleri: YILDIZ, T. Clinical Psychopharmacology. October 28-31, 2005 Mersin-TURKEY, *Journal of Science & Technology*, 2005, **1**: 91