

2022-
ANT
ALY
A
DOK
TOR
A
TEZİ
Esra
AKC
ABA
Ğ

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**DİYABETİK SIÇANLARDA KRONİK ANJİYOTENSİN
(1-7) TEDAVİSİNİN İZOLE REZİSTANS ARTERLERİNİN
FONKSİYONEL YANITLARI ÜZERİNE ETKİSİ**

Esra AKCABAĞ

DOKTORA TEZİ

2022-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYABETİK SIÇANLARDA KRONİK ANJİYOTENSİN
(1-7) TEDAVİSİNİN İZOLE REZİSTANS ARTERLERİNİN
FONKSİYONEL YANITLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Esra AKCABAĞ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından TDK-2018-4187 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2022-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Tıbbi Farmakoloji Programında doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 16/06/2022

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Coşkun USTA
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Mehtap SAVRAN
Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İkbal ÖZEN KÜÇÜKÇETİN
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Şükriye YEŞİLOT
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Melike Cengiz

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Esra AKCABAĞ

İmza

Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM

İmza

TEŐEKKÖR

Eğitim hayatım boyunca öğrendiğim değerli bilgi ve tecrübeler için Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Arda TAŞATARGİL ve Prof. Dr. Coşkun USTA başta olmak üzere Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyelerine ve birlikte geçirdiğimiz güzel zamanlar için kıymetli çalışma arkadaşlarıma,

Beni her zaman dinleyip motive eden, yaklaşık on yıldır aynı çalışma odasını paylaőtıđım ve hayatımdaki iyikilerimden olan çalışma arkadaşım Arő. Gör. Aslı BEDEL'e,

Hayatımın her alanında beni her koşulda destekleyen ve maddi manevi yanımda olan sevgili Ailem'e,

Sonsuz teőkükürler...

Ve en büyük teőkükürümü Yüksek lisans eğitimim ile başlayıp Doktora sürecimde devam eden eğitim hayatımda, bana her zaman hem akademik süreçte hem de kişisel gelişmemde emeğini asla ödeyemeyeceğim katkıları olan, danışman hocam Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM'e iletiyorum.

**Dünyada her şey için, medeniyet için, hayat için, başarı için, en hakiki mürşit
ilimdir, fendir.**

Mustafa Kemal Atatürk

Nutuk



ÖZET

Amaç: Diabetes Mellitus (DM) kardiyovasküler morbidite ve mortaliteye neden olan önemli bir hastalıktır. Ang (1-7), Ang II'nin çeşitli zararlı etkilerine karşı dengeleyici/koruyucu etkiler oluşturan endojen bir maddedir. Bu çalışmada, Ang (1-7) tedavisinin diyabetik sıçan izole rezistans arterlerinde, çeşitli endojen vazoaaktif maddelere yanıtlar üzerindeki etkisi ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmalar araştırılmıştır.

Yöntem: Wistar sıçanlar Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarına ayrıldı. Ang (1-7) tedavisi 4 hafta 576 µg/kg/gün s.k. olarak uygulandı. Tel myografta, izole mezenterik arter halkalarının endojen vazokonstriktör ve vazodilatörlere yanıtları kaydedildi. Lokal (mezenterik arter) ve sistemik (serum) oksidan/antioksidan statü TOS ve TAS düzeyleri ile değerlendirildi.

Bulgular: DM gruplarında izole rezistans arterlerinin vazokonstriktör ajanlara duyarlılığının kontrole göre arttığı, endotel bağımlı vazodilatörlere yanıtların azaldığı tespit edildi. Ang (1-7) tedavisi DM gruplarında vasküler yanıtlardaki değişiklikleri kısmen geri döndürdü. L-NAME inkübasyonu Kontrol gruplarında, SOD inkübasyonu ise DM gruplarında asetilkoline gevşeme yanıtlarında sırasıyla anlamlı azalma ve artmalara neden oldu. İzole damarların apamin ve karibdotoksin ile inkübasyonu DM ve Kontrol gruplarında asetilkoline yanıtlarında benzer azalmalar oluşturdu, glibenklamid, 4-AP, indometazin veya katalaz inkübasyonu ise anlamlı değişiklikler oluşturmadı. Deney gruplarının lokal ve sistemik oksidan/antioksidan statü parametreleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Sonuç: DM'de rezistans arterlerin fonksiyonel yanıtlarındaki değişikliklerde endotel fonksiyon bozukluğu ve/veya oksidatif strese artmaya bağlı nitrik oksit biyoyaralanımındaki azalmanın rol oynayabileceği, Ang (1-7) tedavisinin DM'de endotel fonksiyon bozukluğu için yeni bir terapötik yaklaşımı temsil edebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Diabetes Mellitus, Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS), Anjiyotensin (1-7), tel myograf sistemi, izole rezistans arter

ABSTRACT

Objective: Diabetes Mellitus (DM) is an important disease causing cardiovascular morbidity and mortality. Ang (1-7) is an endogenous substance producing stabilizing/protective effects against various harmful effects of Ang II. In this study, the effects of Ang (1-7) treatment on responses to various endogenous vasoactive substances and the mechanisms involved in these effects were investigated in diabetic rat isolated resistance arteries.

Method: Wistar rats were separated into Control, Control + Ang (1-7), DM and DM + Ang (1-7) groups. Ang (1-7) treatment was given 576 µg/kg/day s.c for 4 weeks. Responses of isolated mesenteric artery rings to endogenous vasoconstrictor and vasodilator agents were recorded in wire myograph. Local (mesenteric artery) and systemic (serum) oxidant/antioxidant status was evaluated with TOS and TAS levels.

Results: Sensitivity to vasoconstrictor agents increased while responses to endothelium-dependent vasodilators decreased in DM compared to Control groups. Ang (1-7) treatment partially reversed the changes in vascular responses in DM groups. L-NAME incubation in Control groups and SOD incubation in DM groups caused significant decrements and increments, respectively, in vasorelaxant responses to acetylcholine. Incubation of isolated vessels with apamine or caribdotoxin caused similar reductions, whereas those with glibenclamide, 4-AP, indomethacine or catalase no significant changes in responses to acetylcholine in DM and Control groups. Local and systemic oxidant/antioxidant status parameters did not differ significantly between experimental groups.

Conclusion: It was concluded that reduction in bioavailability of nitric oxide due to endothelial dysfunction and/or increase in oxidative stress may play a role in alterations in functional responses of resistance arteries in DM, and Ang (1-7) treatment may represent a new therapeutic approach for the endothelial dysfunction in DM.

Key words: Diabetes Mellitus, Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS), Angiotensin (1-7), wire myograph system, isolated resistance artery

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus (DM)	3
2.1.1. DM Tarihçesi	3
2.1.2. DM Epidemiyolojisi	4
2.1.3. DM Mekanizması ve Etiyolojik Sınıflandırılması	6
2.1.4. DM Komplikasyonları	8
2.1.5. DM Tedavisi	11
2.2. Oksidatif Stres	13
2.2.1. Diyabette Oksidatif Stres	15
2.3. Endotel Doku-Vasküler Reaktivite	18
2.4. DM’de Vasküler Reaktivitede Değişiklikler	23
2.5. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS)	26
2.5.1. Anjiyotensin (1-7)	29
2.6. DM, Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS)	32
2.6.1. DM, Anjiyotensin (1-7)	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM	36
3.1. Deney Hayvanları	36
3.1.1. Deney Hayvanlarında Deneysel Diyabet Modeli Oluşturma	36
3.1.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	37
3.1.3. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlığı ve Kan Glukoz Değerleri	38
3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	38

3.3. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanması	39
3.3.1. Deney Hayvanlarında Anestezi Oluşturmak İçin Kullanılan Kimyasal Madde	39
3.3.2. Deney Hayvanlarında DeneySEL Diyabet Oluşturmak İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler	40
3.3.3. Deney Hayvanlarında Kronik Ekzojen Tedavi İçin Kullanılan Madde	40
3.3.4. Tel Myograf Sisteminde <i>in vitro</i> Deney Ortamı Oluşturmak İçin Gerekli Krebs Solüsyonunu Hazırlamada Kullanılan Kimyasal Maddeler	40
3.3.5. Mezenterik Arter Halkalarında Gevşeme Yanıtları Oluşturmak İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler	40
3.3.6. Mezenterik Arter Halkalarında Kasılma Yanıtları Oluşturmak İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler	41
3.3.7. Mezenterik Arter Halkalarında Endotel Bağımlı Gevşeme Yanıtları Oluşturmak İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler	41
3.3.8. Tel Myograf Sisteminin Sterilizasyonu İçin Kullanılan Kimyasal Madde	41
3.4. Mezenterik Yatak İzole Rezistans Arterlerinde <i>in vitro</i> Fonksiyonel Çalışmalar	41
3.4.1. Normalizasyon	42
3.4.2. Vitalizasyon	42
3.4.3. Endotel Sağlamlığı	43
3.5. Deney Protokolü	43
3.5.1. Vazokonstriktör Ajanlarla Oluşan Reseptör Aracılı Kasılma Yanıtları	43
3.5.2. Reseptörden Bağımsız Vasküler Kasılma Yanıtları	43
3.5.3. Çeşitli Vazodilatör Ajanlara Gevşeme Yanıtları	43
3.5.4. Endotel Bağımlı Gevşemelerde Nitrik Oksidin (NO) Rolü	44
3.5.5. Endotel Bağımlı Gevşemelerde Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Rolü	44
3.5.6. Endotel Bağımlı Gevşemelerde Siklooksijenaz Ürünlerinin Rolü	44
3.5.7. Endotel Bağımlı Gevşemelerde Potasyum Kanallarının Rolü	44
3.5.8. Endotel Bağımlı Gevşemelerde Endotel Kaynaklı	45

Hiperpolarizan Faktörün (EDHF) Rolü	
3.6. Oksidan/Antioksidan Statü Parametreleri için Biyokimyasal Ölçümler	46
3.7. İstatiksel Analiz	47
4. BULGULAR	48
4.1. Diyabet Gruplarında STZ ile Deneysel Diyabet Oluşturuldu	48
4.2. KCl İçeren Krebs Solüsyonu ile Oluşan Vasküler Kasılma Yanıtları	48
4.3. Vazokonstriktör Ajanlara Kasılma Yanıtları	50
4.3.1. Endotelin-1 (ET-1)	50
4.3.2. Anjiyotensin II (Ang II)	52
4.3.3. Noradrenalin (NA)	54
4.4. Vazodilatör Ajanlara Gevşeme Yanıtları	56
4.4.1. Asetilkolin (Ach)	56
4.4.2. Bradikinin	57
4.4.3. Histamin	57
4.4.4. Sodyum Nitroprussid (SNP)	58
4.5. İnhibitörler Varlığında Asetilkoline (Ach) Vasküler Yanıtlar	59
4.5.1. N ^o -Nitro-L-Arjinin Metil Ester (L-NAME)	59
4.5.2. İndometazin	60
4.5.3. Glibenklamid	61
4.5.4. 4-Aminopridin (4-AP)	62
4.5.5. Karibdoksit	63
4.5.6. Apamin	64
4.5.7. Süperoksit Dismutaz (SOD)	65
4.5.8. Katalaz	66
4.6. L-NAME ve İndometazin ile İnkübasyon Durumunda KCl Kontraksiyonları Üzerinde Ach'nın Gevşetici Etkisi	667
4.7. Deney Gruplarında Sistemik ve Lokal Oksidan Statü	68

5. TARTIŞMA	71
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	83
KAYNAKLAR	85
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1.	Deney grupları.	39
Tablo 3.2.	Deneylerde kullanılan cihazlar.	40
Tablo 3.3.	Deney protokolü basamakları.	47
Tablo 4.1.	Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında sakrifikasyon öncesi ortalama kan glukoz (mg/dl) düzeyleri ve vücut ağırlıkları (g).	49
Tablo 4.2.	Deney gruplarında endoteli sağlam (E+) ve endoteli zedeli (E-) izole mezenterik arter halkalarında kümülatif olarak uygulanan ET-1 ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrilerinde pD_2 (-Log EC_{50}) ve maksimum kasılma (E_{max}) değerleri.	52
Tablo 4.3.	Deney gruplarında endoteli sağlam (E+) ve endoteli zedeli (E-) izole mezenterik arter halkalarında kümülatif olarak uygulanan Ang II ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrilerinde pD_2 (-Log EC_{50}) ve maksimum kasılma (E_{max}) değerleri.	54
Tablo 4.4.	Deney gruplarında endoteli sağlam (E+) ve endoteli zedeli (E-) izole mezenterik arter halkalarında kümülatif olarak uygulanan NA ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrilerinde pD_2 (-Log EC_{50}) ve maksimum kasılma (E_{max}) değerleri.	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Sağlıklı bir insanda glukoz metabolizması ve Tip 1 ve Tip 2 Diyabet metabolizması.	8
Şekil 2.2.	Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS) mekanizması.	29
Şekil 3.1.	Glukometre cihazı ve strip ile kuyruk veninden kan glukoz ölçümü.	38
Şekil 3.2.	Tel myograf sistemi fotoğrafları.	40
Şekil 3.3.	Sıçan mezenterik yatak izole rezistans arter halkalarının hazırlanma basamakları.	43
Şekil 4.1.	Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-11} - 10^{-8} M) uygulanan ET-1 ile oluşan kasılma yanıtları.	50
Şekil 4.2.	Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-11} - 10^{-8} M) uygulanan ET-1 ile oluşan kasılma yanıtları.	50
Şekil 4.3.	Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan Ang II ile oluşan kasılma yanıtları.	51
Şekil 4.4.	Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan Ang II ile oluşan kasılma yanıtları.	52
Şekil 4.5.	Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-8} - 10^{-5} M) uygulanan NA ile oluşan kasılma yanıtları.	53

- Şekil 4.6.** Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında kümülatif 54
konsantrasyonlarda (10^{-8} - 10^{-5} M) uygulanan NA ile oluşan kasılma
yanıtları.
- Şekil 4.7.** Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında 30, 60 ve 100 mM 55
KCl içeren Krebs solüsyonu ile oluşan kasılma yanıtları.
- Şekil 4.8.** Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında 30, 60 ve 100 mM 56
KCl içeren Krebs solüsyonu ile oluşan kasılma yanıtları.
- Şekil 4.9.** Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma 57
oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında
kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile
oluşan gevşeme yanıtları.
- Şekil 4.10.** Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma 58
oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında
kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan SNP ile
oluşan gevşeme yanıtları.
- Şekil 4.11.** Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma 59
oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında
kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan bradikinin
ile oluşan gevşeme yanıtları.
- Şekil 4.12.** Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma 60
oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında
kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-4} M) uygulanan histamin ile
oluşan gevşeme yanıtları.
- Şekil 4.13.** Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma 61
oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında
kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile

oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10^{-4} M L-NAME ile 20 dk inkübasyonun etkisi.

Şekil 4.14. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma 62 oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10^{-5} M indometazin ile 20 dk inkübasyonun etkisi.

Şekil 4.15. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma 63 oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10^{-5} M glibenklamid ile 30 dk inkübasyonun etkisi.

Şekil 4.16. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma 64 oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 5 mM 4-AP ile 10 dk inkübasyonun etkisi.

Şekil 4.17. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma 65 oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10^{-7} M karibdotoksin ile 30 dk inkübasyonun etkisi.

Şekil 4.18. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma 66 oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10^{-7} M apamin ile 30 dk inkübasyonun etkisi.

- Şekil 4.19.** Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 50 U/ml SOD ile 20 dk inkübasyonun etkisi. 67
- Şekil 4.20.** Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 200 U/ml katalaz ile 20 dk inkübasyonun etkisi. 68
- Şekil 4.21.** 30 mM KCl içeren Krebs solüsyonu ile kasılmış endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) konsantrasyonlarda uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10^{-4} M L-NAME ve 10^{-5} M indometazin ile 20 dk inkübasyonun etkisi. 69
- Şekil 4.22.** İzole mezenterik arter TOS ve TAS değerleri. 70
- Şekil 4.23.** Serum TOS ve TAS değerleri. 71

SİMGELER ve KISALTMALAR

ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ACE2	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2
Ach	: Asetilkolin
Ang	: Anjiyotensin
Ang I	: Anjiyotensin I
Ang (1-7)	: Anjiyotensin (1-7)
Ang II	: Anjiyotensin II
AT1R	: Anjiyotensin II Tip 1 Reseptör
AT2R	: Anjiyotensin II Tip 2 Reseptör
DM	: Diabetes Mellitus
EDHF	: Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör
EDRF	: Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
ET-1	: Endotelin-1
GLUT4	: Glukoz Taşıyıcı Tip 4
ICAM	: Hücreler Arası Adezyon Molekülü
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
i.p.	: İntraperitoneal
KCl	: Potasyum Klorür
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
L-Name	: N ^o -Nitro-L-Arjinin Metil Ester
MCP-1	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
NA	: Noradrenalin

NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
ox-LDL	: Oksitlenmiş Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
Phe	: Fenilefrin
PI3K	: Fosfotidilinositol 3 Kinaz
RAAS	: Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SNP	: Sodyum Nitroprussid
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STZ	: Streptozotosin
s.k	: Subkutan
TAS	: Total Antioksidan Durum
TOS	: Total Oksidan Durum
T1DM	: Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM	: Tip 2 Diabetes Mellitus
VCAM-1	: Vasküler Hücre Adezyon Molekül-1
4-AP	: 4-Aminopridin
β	: beta
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µg	: Mikrogram
kg	: Kilogram
µl	: Mikrolitre

µm	: Mikrometre
dk	: Dakika
g	: Gram
H	: Hacim
L	: Litre
M	: Molar
mM	: Milimolar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
U/ml	: Ünite/mililitre
mg/dl	: Miligram/desilitre



1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM), insülin salınımı, insülin etkisi veya bu faktörlerin her ikisinde de bozukluk nedeniyle ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır (Türkiye Diyabet Vakfı, 2021). DM, günümüzde endişe verici seviyelere ulaşan majör bir sağlık sorunudur ve bugün dünya genelinde yarım milyardan fazla insanın diyabet ile yaşadığı bilinmektedir (International Diabetes Federation, 2021a).

Vasküler dokuların çeşitli endojen ajanlara fonksiyonel yanıtlarında değişiklikleri de kapsayan diyabete bağlı endotel fonksiyon bozukluğu, diyabetin kardiyovasküler komplikasyonlarında önemli bir rol oynamaktadır. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS) tarafından üretilen Anjiyotensin (1-7)'nin (Ang (1-7)) Anjiyotensin II'nin (Ang II) çeşitli olumsuz etkilerine karşı dengeleyici/koruyucu etkiler oluşturduğu dolayısıyla çeşitli kardiyovasküler ve renal patofizyolojilerde terapötik bir potansiyelinin olabileceği anlaşılmıştır.

Bu doğrultuda mevcut çalışmada, streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanların izole mezenterik arterlerin çeşitli endojen vazokonstriktör ve vazodilatör ajanlara fonksiyonel yanıtlarında diyabete bağlı olarak gelişen değişiklikler üzerinde 4 hafta süre ile parenteral Ang (1-7) tedavisinin etkisi araştırılmış, bu etkilerde rol oynayan olası mekanizmalar incelenmiştir. Diyabet sürecine sıklıkla oksidan statü değişiklikleri eşlik ettiği ve oksidan streteki artmanın izole rezistans arterlerin fonksiyonel yanıtlarını değiştirebildiği için, aynı zamanda deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda sistemik (serum) ve lokal (izole mezenterik arter) oksidan statü değişiklikleri incelenmiş ve Ang (1-7) tedavisinin söz konusu parametrelerde meydana getirebileceği değişiklikler araştırılmıştır.

Bu şekilde diyabet gibi sık görülen ve mikro ve makrovasküler komplikasyonları sonucu önemli bir morbidite/mortalite nedeni olan bir hastalığın kardiyovasküler komplikasyonları üzerinde olumlu etkiler oluşturma potansiyeli taşıyan yeni bir terapötik yaklaşımının, deneysel diyabet modelinde klinik öncesi çalışmalarda, kronik uygulamada

izole rezistans damarların fonksiyonel yanıtları üzerinde oluşturduğu etkilere yönelik detaylı ve kapsamlı veriler sağlanmış, bu şekilde ileri çalışmalara gerekçelendirme ve zemin oluşturulmuştur.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus (DM)

DM, insülin salgısının mutlak veya göreceli eksikliği ya da insülin rezistansı ile oluşan, hiperglisemi ile karakterize, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları oluşturan, sürekli tıbbi bakım gerektiren, geniş spektrumlu, kompleks, kronik, metabolik bir hastalıktır (American Diabetes Association, 2022; Türkiye Diyabet Vakfı, 2021; Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2020).

Başka bir şekilde tanımlanacak olursa, insülin hormonunun olmadığı ya da yeterli üretilmediği veya vücudun insülini etkili bir şekilde kullanamadığı bir durumda, kişinin kanında glukoz düzeylerinin artmasıyla ortaya çıkan, ciddi ve uzun süreli (kronik) bir durum olarak tanımlanmaktadır (International Diabetes Federation, 2021b).

2.1.1. DM Tarihçesi

Hastalığın adı, Yunanca “sifon” anlamına gelen “diabetes” terimi ve Latince “bal” anlamına gelen “mellitus” teriminin birleşmesiyle “Diabetes Mellitus” olarak konulmuştur (Polyzos and Mantzoros, 2021).

-İlk olarak, MÖ 1550 yıllarında Mısır’da Georg Ebers tarafından oluşturulan Ebers papirüsünde poliürik bir sendromdan yani muhtemelen diyabetten bahsedilmektedir (Ahmed, 2002).

-2. yüzyılda, Anadolu topraklarında bu hastalık ile ilgili ilk gözlemleri yapan Kapadokyalı Araetus, vücudun sürekli idrara çıkma halinde olduğunu belirterek, Yunanca “sifon” anlamına gelen “diabetes” terimini kullanan ilk kişi olarak bilinmektedir (Ahmed, 2002; Karamanou et al., 2016).

-17. yüzyılda, Thomas Willis idrarın tatlılığından bahsedip, Yunanca “bal” anlamına gelen “mellitus” terimini kullanan ilk kişidir (Karamanou et al., 2016).

-1776 yılında, Matthew Dobson bir hastasının hem idrarında hem de serumunda şeker olduğunu fark etmiştir (Ahmed, 2002).

-1815 yılında, Michel Chevreul tarafından diyabetik idrardaki şekerin glukoz olduğu tanımlanmıştır (Ahmed, 2002).

-1869 yılında, Paul Langerhans, doktora tezi için yaptığı çalışmalarda pankreasta Latince “adacık” anlamına gelen insülinin salgılandığı ve şu an “Langerhans adacıkları” olarak tanımlanan hücreleri keşfetmiştir (Lakhtakia, 2013; Tattersall, 2016).

-1921 yılında, Frederick Banting, John Macleod, Charles Best ve Collip, pankreası çıkarılmış bir köpeğe, pankreastan elde ettikleri çözeltiyi verdiklerinde kan şekerinin düştüğünü görmüş ve böylece DM hastalığının tedavisi için kullanılan insülini keşfetmişlerdir. Sonrasında ilk ticari insülini üreterek, 1923’te Nobel Ödülü almışlardır (Karamanou et al., 2016; Polyzos and Mantzoros, 2021).

-1996 yılında rekombinant DNA teknolojisi ile yeni insülin analogları üretilmeye başlanmıştır (Vajo et al., 2001).

-1991 yılından beri her yıl Frederick Banting’in anısına doğum günü olan 14 Kasım “Dünya Diyabet Günü” olarak kutlanmaktadır (Shahbazian, 2013).

2.1.2. DM Epidemiyolojisi

Diyabet, günümüzde endişe verici seviyelere ulaşan majör bir sağlık sorunudur ve bugün dünya genelinde yarım milyardan fazla insanın diyabet ile yaşadığı bilinmektedir (International Diabetes Federation, 2021b). Bazı ülkelerde hastalığın insidansı azalmaya başlasa da, diğer gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin çoğunda diyabet prevalansı son yıllarda artmaya devam etmektedir (Lin et al., 2020). Yaşam tarzı değişiklikleri, artan yaşam süresi ve yüksek yağlı diyet, diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonların prevalansının daha fazla artmasındaki temel nedenlerdir (Aggarwal et al., 2022; Carbone et al., 2019). Uluslararası Diyabet Federasyonu’nun (International Diabetes Federation, IDF) en son 2021 yılında yayınladığı Diyabet Atlası 10. Edisyonu verilerine göre, 8 milyara yaklaşan dünya nüfusunda (~7,9 milyar), 20-79 yaş arası (~5,1 milyar) %10,5 prevalans ile 537 milyon olan diyabetli yetişkin hasta sayısının, 2030 yılında 643 milyon (%11,3 prevalans), 2045 yılında ise 783 milyon (%12,2 prevalans) olacağı öngörülmektedir. Günümüzden 2045 yılına kadar dünya popülasyonunun yaklaşık %20

artacağı düşünülürse, diyabetli hasta sayısının da %46'lık bir artış göstererek ciddi rakamlara ulaşacağı tahmin edilmektedir (International Diabetes Federation, 2021b). IDF'in belirlediği, tüm dünyada yedi bölgeden oluşan grupta, ülkemizin de içinde yer aldığı Avrupa ülkeleri bölgesinde toplam nüfusta 20-79 yaş arası 61 milyon diyabetli hastadan, %14,5 prevalans ile 9 milyon diyabetli hasta bulundurarak Türkiye ilk sırada yer almaktadır (International Diabetes Federation, 2021b; TÜSEB, 2021). Ne yazık ki, bu atlas, diyabetin 21. yüzyılın en hızlı büyüyen küresel sağlık sorunlarından biri olduğunu doğrulamaktadır (International Diabetes Federation, 2021b).

Diyabetin dünya çapında ilk 10 ölüm nedeninden biri olduğu bildirilmektedir (Forouzanfar et al., 2015). Aynı zamanda diyabetli bireylerde tüm nedenlere bağlı ölüm riski 2-3 kat daha fazla görülmektedir (Yang et al., 2019). Diyabetle ilişkili ölüm oranlarına baktığımızda, tüm dünyada 2021 yılında 20-79 yaş arası 6,7 milyon kişinin diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonlar nedeni ile öldüğü tahmin edilmektedir. Bu sayı, bu yaş grubunda tüm nedenlere bağlı ölümlerin %12,2'sini oluşturmaktadır. Avrupa Bölgesi bu sayının 1,1 milyonluk kısmını oluşturarak, ölüm sıralamasında yedi bölgeden ikinci sırada yer almaktadır (International Diabetes Federation, 2021b).

Ayrıca, hastalığa ekonomik açıdan baktığımızda da, diyabetin ülkelere, sağlık sistemine, diyabet hastalarının kendilerine ve ailelerine önemli bir ekonomik yük oluşturduğu görülmektedir (Abdulah et al., 2018; Tan et al., 2019). Gelir düzeyi ne olursa olsun her ülkede hastalığın sıklığı giderek yaygınlaşmaktadır (Forouhi and Wareham, 2014). 2021 yılında, tüm dünyada DM hastalığı için toplam 966 milyar USD harcanmıştır. Bu yapılan harcamalarında, diyabetli hasta sayısının artmasıyla paralel olarak artacağı ve 2030 yılında 1028 milyar, 2045 yılında 1054 milyar USD olacağı tahmin edilmektedir. Avrupa ülkelerinde diyabet ile ilişkili sağlık harcamalarının toplam miktarı yaklaşık 189 milyar USD olarak hesaplanmıştır. Bu rakam tüm dünyadaki toplam harcamaların %19,6'sını oluşturmaktadır. Avrupa bölgeleri için harcanan maliyetin %23,8'lik gibi büyük bir bölümünü Türkiye'nin yaptığı harcamaların oluşturduğu bildirilmiştir (International Diabetes Federation, 2021b).

2.1.3. DM Mekanizması ve Etiyolojik Sınıflandırılması

Sağlıklı bir insanda, vücut fonksiyonlarının yerine getirilmesi için bir enerjiye ihtiyaç vardır. Bu enerji, yenilen gıdalardan temin edilmektedir. Karbonhidrat, protein ve yağ şeklinde alınan gıdaların ince bağırsaktan emilebilmesi için parçalanmaları gerekmektedir. Karbonhidratlar glukoz adı verilen bir basit şekere parçalanmaktadır. Glukoz pankreastaki beta (β) hücrelerinden salgılanan endojen peptit yapılı bir hormon olan insülin yardımıyla absorbe ve metabolize edilerek enerjiye dönüştürülür (Kapalka, 2010). İnsülin dokudaki reseptörüne bağlanmakta ve glukoz taşıyıcı tip 4 (GLUT4) protein aracılığıyla glukozun adipoz doku, iskelet kası ve kalp gibi dokulara girmesini sağlamaktadır (Rivas and Nugent, 2021). Böylelikle kandaki glukoz düzeyi azalmış olur. Fazla glukoz ise karaciğerde glikojen şeklinde depo edilmektedir. Vücut glukoz seviyeleri düşük olduğunda, karaciğer glukoz seviyesini normal bir aralıkta tutmak için depolanmış glikojeni glukozla çevirmektedir (Mayo Clinic, 2022).

Diyabette bu durum farklıdır. İnsülin üretimindeki yetmezlik ya da insülin direnci nedeniyle hiperglisemi ile birlikte karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında anormallikler ve mineral ve elektrolit bozuklukları gelişimi (Solis-Herrera et al., 2000) şeklinde metabolik bir bozukluk oluşmaktadır (Vieira et al., 2019). Hipergliseminin varlığı, diyabetin tanımlayıcı özelliğidir (Schmidt, 2018).

ADA (American Diabetes Association)'ya göre diyabet aşağıda sunulan dört genel kategoride sınıflandırılmaktadır ("2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021," 2021). Bu kategoriler arasında en yaygın tipler, Tip 1 ve Tip 2 DM'dir (Goodarzi, 2014) (Şekil 2.1).

Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM)

Pankreasta bulunan ve insülin üreten β hücrelerinin yıkımına bağlı olarak gelişen mutlak insülin yetmezliği sonucu hiperglisemi ile ortaya çıkan otoimmün bir hastalıktır (Kakleas et al., 2015; Schmidt, 2018). Diyabetin önemli bir alt tipi olan T1DM, tüm diyabetik vakaların yaklaşık %5'ini oluşturur (Li et al., 2017). İmmün aracılı ve idiyopatik olmak üzere iki çeşidi vardır. İmmün aracılı çeşidi geçmişte insülin bağımlı veya genç (juvenil) başlangıçlı diyabet olarak da tanımlanmıştır. İdiyopatik tipte diyabetli hastalarda kalıcı insülinopeni durumu vardır. Genellikle 30 yaşından önce ortaya çıkmaktadır ("2.

Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021,” 2021).

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM)

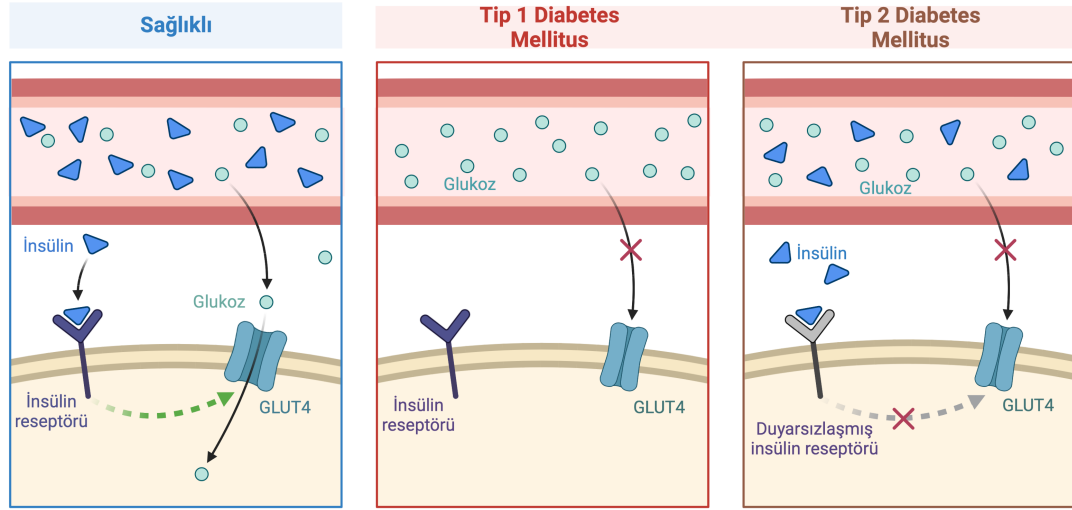
T2DM, dünya genelinde tüm diyabet vakalarının %95’inden fazlasını oluşturan en yaygın görülen diyabet çeşididir (Richardson and Park, 2021; Wu et al., 2022). İnsüline bağımlı olmayan ya da yetişkin başlangıçlı diyabet olarak tanımlanmıştır (Schroeder and Sonnevile, 2016). İnsülin direnci (Padhi et al., 2020; Schmidt, 2018) ve görece insülin yetmezliği ile karakterizedir (Thomas and Philipson, 2015). Bu yüzden hastaların en azından hastalığın başlangıcında ya da yaşamları boyunca hayatta kalmak için insülin tedavisine ihtiyaçları olmayabilir. Obezite, fiziksel hareketsizlik, hipertansiyon, dislipidemi ve belirli etnik kökenler, T2DM için belirli risk faktörleridir. Ayrıca, T2DM aile öyküsünün olması ve çeşitli genetik risk belirteçleri, diyabet ile ilişkili önemli göstergelerdir (Karalliedde and Gnudi, 2016; Tangvarasittichai, 2015). Genellikle 30 yaşından sonra ortaya çıkmaktadır (“2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021,” 2021). Yakın zamana kadar bu tip diyabet sadece yetişkinlerde görülmekteydi ancak şimdi çocuklarda da giderek daha sık görülmeye başlanmıştır (World Health Organization, 2022).

Gestasyonel Diabetes Mellitus

İlk kez gebelik sırasında fark edilen glukoz intoleransı durumudur. Gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde teşhis edilir. T2DM için yüksek risk taşıyanlarda gestasyonel diyabet riski iki katına kadar çıkabilmesine rağmen, tüm gebeliklerde görülme oranı yaklaşık %8-9’dur (DeSisto et al., 2014).

Diğer Nedenlere Bağlı Spesifik Diyabet Türleri

Monogenik diyabet sendromları (yenidoğan diyabeti ve gençlerde erişkin tip diyabet) (Gaál and Balogh, 2019), ekzokrin pankreas hastalıkları (kistik fibroz ve pankreatit) (Wynne et al., 2019), ilaca veya kimyasallara bağlı diyabet (HIV/AIDS tedavisi veya organ naklinden sonra glukokortikoid kullanımı) (Suh and Park, 2017) gibi türleri içerir.



Şekil 2.1. Sağlıklı bir insanda glukoz metabolizması ve Tip 1 ve Tip 2 Diyabet metabolizması. GLUT4: Glukoz taşıyıcı tip 4.

2.1.4. DM Komplikasyonları

Diyabet, her yaştan, ırktan ve cinsiyetten farklı insanları etkileyen kronik bir hastalıktır ve çeşitli akut ve kronik komplikasyonlara neden olmaktadır (Banerjee and Vats, 2014; Bhutani and Bhutani, 2014; Marrazzo et al., 2014). Diyabet ve diyabete bağlı olarak gelişen komplikasyonlar önemli bir mortalite/morbidite nedenidir (Deshpande et al., 2008). İnsülin sekresyonu ve/veya insülin etkisindeki eksikliklerden kaynaklanan kronik hiperglisemi ve karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları, diyabetin temel göstergeleridir (Banerjee and Vats, 2014; Rani and Mythili, 2014). Kronik hiperglisemi, artan oksidatif stres aracılığıyla (Brownlee, 2005) endotelial disfonksiyona neden olmakta ve (Johansen et al., 2005) ve aterosklorozun (Pricci et al., 2003) oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu durum diyabetik vasküler hastalıkların erken bir belirtici olarak kabul edilmektedir (Pandolfi and De Filippis, 2007). Diyabette kronik hiperglisemi durumu sonucunda, özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları olmak üzere farklı organlarda organ hasarı, disfonksiyonu ve yetmezliği ortaya çıkmaktadır (American Diabetes Association, 2011).

Diyabet ile ilişkili semptomlar (poliüri, polidipsi, polifaji) ve akut komplikasyonlar (hiperglisemi, hiperglisemik hiperozmolar durum, diyabetik ketoasidoz) (Bettencourt-

Silva et al., 2019) ilerleyen süreçlerde diyabet ile ilişkili ciddi komplikasyonlarına yol açmaktadırlar.

T2DM doğrudan veya dolaylı olarak, kas-iskelet sistemi, karaciğer ve sindirim sistemi bozukluklarının yanı sıra, kognitif ve mental fonksiyon bozukluk risklerini, karaciğer, pankreas ve endometrium gibi bazı kanser türlerinin insidansını artırabilmektedir (Zheng et al., 2018). T2DM’te, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (Cali et al., 2009), obstrüktif uyku apnesi (Jordan et al., 2014) ve depresyon (Tabák et al., 2014) gibi çeşitli komorbiditeler, karşılıklı olarak birbirlerini etkilemekte ve bu etkiye kısmen obezitenin neden olduğu görülmektedir (Zheng et al., 2018).

Genel olarak T2DM’nin kronik komplikasyonları makrovasküler komplikasyonlar (kardiyovasküler hastalıklar) ve mikrovasküler komplikasyonlar (retinopati, nefropati, nöropati) olarak ikiye ayrılmaktadır (Litwak et al., 2013). Gelişmiş ülkelerde yapılan kohort çalışmaları baz alındığında, diyabetli hastalarda mikrovasküler ve makrovasküler hastalık risklerinin, diyabeti olmayan kişilere göre sırasıyla en az 10-20 kat ve 2-4 kat daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (Karamanou et al., 2016).

Mikrovasküler Komplikasyonlar

T2DM’li hastalar, diyabetik nefropati, retinopati ve nöropati gibi mikrovasküler komplikasyonları geliştirme riski altındadırlar (Aslan et al., 2007). Kandaki hiperkoagulabilite, doku iskemisi ve hemodinamik anomaliler gibi mekanizmalar, diyabetik mikrovasküler komplikasyonlarla yakından ilişkili bulunmuştur (Rosenson et al., 2019; Sörensen et al., 2016; Terzić et al., 2017).

Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati, diyabetli hastaların yaklaşık üçte birinde görülebilmektedir (Samsu, 2021). T2DM’li hastalarda ölümlerin yaklaşık %10’unun böbrek yetmezliği kaynaklı olduğu bildirilmiştir (van Dieren et al., 2010). Oksidatif stres, anjiyotensin II (Ang II) ve inflamatuvar süreçler, hastalığın patolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (Donate-Correa et al., 2020). Diyabetik nefropati, böbrek yetmezliğine bağlı morbidite ve mortalite ile sonuçlanan son dönem böbrek yetmezliğinin önemli bir nedenidir (Alzaid, 1996).

Diyabetik Retinopati

Diyabetik retinopatinin, çalışma çağındaki yetişkinler ve yaşlılar arasında, diyabet ile ilişkili görme hasarı veya kaybının en önde giden nedeni olduğu bilinmektedir (Wong et al., 2016). Diyabetik retinopatinin patofizyolojisinin temeli hiperglisemi kaynaklıdır ve retinal kapiller bazal membranın kalınlaşması, retinal vasküler geçirgenliğin artması, doku iskemisi, neovaskülarizasyona neden olan çeşitli vazoaktif maddelerin salınması gibi nedenlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Kang and Yang, 2020).

Diyabetik Nöropati

Diyabetin komplikasyonları arasında, periferik ve otonom sinir sistemlerindeki hasarın neden olduğu klinik sendromların çok yaygın olduğu ve diyabetli hastaların yaklaşık yarısında görüldüğü bilinmektedir (Callaghan et al., 2015). Diyabetik nöropati prevalansı hastalık süresi ile değişmektedir. T2DM'li hastalar 10 yıl boyunca izlendiğinde, diyabetik nöropati prevalansının %8'den %42'ye çıktığı görülmüştür (Partanen et al., 1995). Diyabetik nöropatinin çeşitli genlerle ilişkili olabileceği bildirilmiş ancak büyük kohortlarda birden fazla popülasyonda sadece anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) ve metilentetrahidrofolat redüktaz gen polimorfizmleri çalışılmıştır. Diyabetik nöropati gelişiminde genetiğin rolünü anlamak için çok daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Politi et al., 2016; Prabodha et al., 2018).

Makrovasküler Komplikasyonlar

Koroner arter hastalığı, periferik vasküler hastalık ve serebrovasküler hastalığı içeren kardiyovasküler hastalıklar, en önemli morbidite/mortalite nedenleridir (Centers for Disease Control and Prevention, 2011). Diyabetli hastalarda kardiyovasküler anormallikler diyabeti olmayan bireylere göre 14.6 yıl daha önce (Booth et al., 2006) ve daha şiddetli düzeyde gelişmektedir (Beckman et al., 2013). Ayrıca, T2DM'li hastalarda kardiyovasküler hastalıkların oluşma olasılığı, diyabeti olmayan bireylere kıyasla en az iki kat daha fazla bulunmuştur (Emerging Risk Factors Collaboration et al., 2010). Ek olarak vasküler nedenlerden kaynaklanan ölüm riskinin diyabette iki kattan fazla olduğu görülmektedir (Rao Kondapally Seshasai et al., 2011).

Diyabetik makrovasküler komplikasyonlara temel olarak koroner, karotid, renal, alt ekstremitte ve diğer büyük ve orta büyüklükteki arterlerde, lümeni daraltan ve hatta tıkayan plakların oluşumu neden olmaktadır (Jin et al., 2019). Ateroskleroz denilen bu durum, T2DM’li hastalarda kardiyovasküler hastalıkların tetikleyicisi rolündedir (Kaur et al., 2018) ve iskemik kalp hastalığı, iskemik inme ve periferik arter hastalığı ile sonuçlanmaktadır. Aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar küresel mortalitenin önemli bir nedenini oluşturmaktadır (Barquera et al., 2015; Herrington et al., 2016). Ateroskleroz; lipit birikimi, immün sistem aktivasyonu, inflamasyon, oksidatif stres ve okside düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (ox-LDL) infiltrasyonu, endotel hücre aktivasyonu ve vasküler düz kas hücre proliferasyonu, makrofaj aktivasyonu ve köpük hücre formasyonu ile başlayan, sonrasında endotelial disfonksiyona sebep olan kompleks bir süreçtir (Tabaei and Tabaei, 2019). Ayrıca trombosit hiperaktivitesinin de aterosklerozun patogeneğinde rol oynadığına dair kanıtlar bulunmaktadır (Kaur et al., 2018).

2.1.5. DM Tedavisi

Henüz diyabeti tamamen yok edebilecek bir tedavi opsiyonu bulunmamakla birlikte, halen diyabet tedavi edilebilir ve kontrol altında tutulabilir bir hastalık durumundadır. Kan glukoz seviyelerini mümkün olduğunca normale yakın düzeylerde tutmak ve diyabete bağlı sağlık sorunlarının oluşumunu mümkün olduğunca önlemek veya geciktirmek için insülin dışında farklı mekanizmalar yoluyla klinik etki gösteren birçok antidiyabetik ilaç bulunmaktadır (Artasensi et al., 2020). Diyabet tedavisinde vücuda direkt enjeksiyonla uygulanan farklı formülasyon (bazal-bonus) ve rejimde (kısa-uzun-hızlı-yavaş etkili gibi) insülin analogları (Priya et al., 2020) dışında aşağıda listelenen sınıflarda yer alan ajanlar da kullanılmaktadır (“9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes—2021,” 2021):

- a) Karaciğerde glukoneogenezi azaltan metformin gibi ilaçları içeren biguanidler (He et al., 2009)
- b) Pankreatik β -hücreleri insülin salgılaması için uyaran ve sülfonilüreler gibi ilaçları içeren insülin sekretagogları (Proks et al., 2002)

- c) Periferik dokuların insüline duyarlılığını artıran ve tiyazolidindionları içeren insülin duyarlılaştırıcılar (Eldor et al., 2013)
- d) Böbrek proksimal tübülünde glukozun geri emilimini inhibe eden ve canagliflozin gibi ilaçları içeren sodyum glukoz ko-transporter 2 (SGLT2) inhibitörleri/antagonistleri (Tentolouris et al., 2019)
- e) Karbonhidrat emilimini geciktirerek bağırsaktaki glukoz emilimini azaltan ve akarboz gibi ilaçları içeren Alfa-glukozidaz inhibitörleri (Scheen, 2003)
- f) Gastrik boşalmayı geciktirerek glukagon salgılanmasını baskılayan ve pramlintid gibi ilaçları içeren Amilin hormon analogları (Liu et al., 2018)
- g) Kan glukoz seviyelerinin azalmasını uyaran doğal metabolik hormon ve liraglutid gibi ilaçları içeren glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) analogları/agonistleri (Yu et al., 2018)
- h) Endojen GLP-1 konsantrasyonlarını artıran ve sitagliptin gibi ilaçları içeren dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri (Gallwitz, 2019)
- i) İnsülin sekresyonunun dopaminerjik sistem üzerinden düzenlenmesini sağlayan ve bromokriptin gibi ilaçları içeren Dopamin 2 reseptör agonistleri (Lopez Vicchi et al., 2016)
- j) Dislipideminin olumsuz etkilerini ortadan kaldırarak, T2DM'nin komplikasyonlarında olumlu etkiler oluşturduğu düşünülen ve colessevelam ilacını içeren safra asidi sekestranları (Hansen et al., 2017)
- k) Potasyum (K^+) kanallarını kapatarak hücre depolarizasyonu aracılığıyla insülin sekresyonu sağlayan ve repaglinid gibi ilaçları içeren Meglitinidler (Scott, 2012)

Bu farklı sınıflardaki farmasötik ajanlar, kendi başlarına (monoterapi) veya iki ve daha fazla ilacın kombinasyonları şeklinde kullanılabilmektedirler (Feingold, 2000). Bununla birlikte mevcut konvansiyonel antidiyabetik ajanların çeşitli advers etkileri nedeniyle hastalığın daha iyi bir şekilde yönetimi için yeni farmakolojik ajanlar geliştirme çalışmaları halen devam etmektedir (Tan et al., 2019).

2.2. Oksidatif Stres

Oksidan moleküller organizmada endojen olarak üretilir veya dışardan alınabilirler. Reaktif oksijen türleri (ROS), redüksiyon-oksidasyon (redoks reaksiyonları) tepkimeleri sonucunda tüm aerobik hücrelerde üretilen reaktif moleküller olup (Goto and Kitazono, 2019), elektron transfer reaksiyonları sonucunda oluşan süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali ($OH^\cdot$), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen ve peroksinitriti içermektedir (Chen et al., 2018). Elektron taşıma zinciri ve ksantin oksidaz, glikollat ve monoamin oksidaz gibi enzimler, başlıca endojen ROS kaynaklarını oluşturmaktadır (Berry and Hare, 2004; Nohl et al., 2005). Vasküler yapılarda başlıca ROS kaynakları arasında nikotinamid adenin dinükleotit (NADH), nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz, ksantin oksidoredüktaz (XOR)/ksantin oksidaz (XO), siklooksijenaz (COX), sitokrom P450 (CYP) ve serbest endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) bulunmaktadır (Chen et al., 2018; Ellis and Triggle, 2003; Pannirselvam et al., 2003).

Antioksidanlar-Oksidatif Stres

İnsanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan şekilde, oldukça karmaşık antioksidan sistemler geliştirmişlerdir. Antioksidanlar endojen olarak üretilir veya bir diyet veya diyet takviyesinin bir parçası olarak ekzojen kaynaklardan elde edilebilirler (Pourvali et al., 2016). Endojen antioksidanlar arasında, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimler; glutatyon proteinleri gibi enzimatik olmayan bileşikler, ürik asit, koenzim Q, lipoik asit gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşikler yer almaktadır. Ekzojen antioksidanlar arasında ise vitamin A, C ve E, karotenoidler, fenolikler bulunmaktadır (Pisoschi and Negulescu, 2012).

SOD, süperoksit (O_2^-) radikalinin oksijen (O_2) molekülüne veya hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşmesini katalize etmekte ve ROS'un neden olduğu hücresel ve dokusal hasarlara karşı önemli koruyucu roller oynamaktadır. Diğer antioksidan enzimlerle

karşılaştırıldığında, substrat-reaksiyon hızının son derece yüksek olduğu bilinmektedir. SOD antioksidan enzim ailesi, intraselüler, mitokondriyal ve ekstraselüler (sırasıyla SOD 1, 2 ve 3 tipleri olarak da bilinir) enzimleri içermektedir (Banerjee and Vats, 2014; Marrazzo et al., 2014; Tiwari et al., 2013).

Antioksidanlar, oluşan serbest radikallere karşı savunma sistemi görevi üstlenmişlerdir (Maritim et al., 2003; Rahimi et al., 2005). ROS degrade eden enzimlerde dahil olmak üzere (Houldsworth et al., 2015; Rahimi et al., 2005), her antioksidanın görevi farklı mekanizmalar aracılığıyla serbest radikallerin etkisini azaltmaktır (Rani and Mythili, 2014). Vücutta yer alan antioksidan sistem bileşenleri, oksidatif stresi ve hücre hasarı ile ilişkili diğer parametreleri azaltarak, serbest radikalleri yakalayıp oluşumlarını engelleyebilirler ve ROS oluşumunu önleyebilirler. Antioksidanlar ayrıca, hücre metabolizmasında değişikliğe yol açan kümeleşmelerden önce, hasarlı biyomolekülleri uzaklaştırarak, hücrelerin onarımını sağlamaktadırlar (Pisoschi and Pop, 2015).

Antioksidan savunma sistemleri normal koşullarda oksidan-antioksidan dengesini sağlamak için çalışmakta (Liu et al., 2009; Maritim et al., 2003), prooksidan ve antioksidan bileşikler arasındaki denge prooksidan bileşiklerin lehine döndüğünde, ROS ile enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemi arasında bir dengesizlik oluşmakta (Bajpai et al., 2014; Bhatt et al., 2020; Pisoschi and Pop, 2015), vücuttaki antioksidanların zararlı bir uyaran ile oluşan aktif oksidanlarla baş edemediği durumlarda gelişen oksidatif hasara tepki olarak ortaya çıkan durum “oksidatif stres” olarak tanımlanmaktadır (Ďuračková, 2010; Halliwell, 1999; Halliwell and Whiteman, 2004). Oksidatif stres, serbest radikallerin ve proinflamatuvar belirteçlerin artmasını uyarak, antioksidan rezervlerde deplesyona neden olmakta (Liguori et al., 2018), doku protein denatürasyonunu, DNA hasarını ve lipid peroksidasyonunu indükleyerek, makro moleküler düzeyde oksidatif hasar oluşturmakta, vücudun normal metabolik aktivitesini olumsuz bir şekilde etkileyerek, hastalıkların ortaya çıkmasına ve/veya gelişmesine yol açmaktadır.

Oksidatif stresin, pnömoni (Katsoulis et al., 2005), pankreatit (Osterreicher et al., 2007), diyabetik nefropati (Nam et al., 2009), kardiyovasküler hastalıklar (Kasap et al., 2007), sinir sistemi hastalıkları (Martin, 2008) ve kanser (Feng et al., 2012) gibi pek çok

hastalıkta rol oynadığı, diyabette oksidatif stresin arttığı (Martín-Gallán et al., 2003; Wohaieb and Godin, 1987) ve hipertansiyon ve aterosklerozda dahil olmak üzere, diyabet ile ilişkili makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların oluşumuna ve ilerlemesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Banerjee and Vats, 2014; Ding and Triggler, 2005; Folli et al., 2011; Maritim et al., 2003). Hayvan çalışmalarında primer antioksidanların oksidatif stresin olumsuz etkilerini en azından kısmen azaltabileceği, dolayısıyla diyabet ve komplikasyonlarının şiddetini de azaltabilecekleri gösterilmiş olmakla birlikte insanlarda yapılan çalışmalarda elde edilen veriler net bir sonuç vermedikleri gibi aynı zamanda oldukça sınırlı düzeydedir (Golbidi et al., 2011; Houldsworth et al., 2015; Pazdro and Burgess, 2010).

Oksidan/Antioksidan Statü Parametreleri

Çeşitli hastalıkların patofizyolojisini anlamak için dinamik ve güçlü araçlar olan biyomarkerlar, hastalıkların taranması, tanısı, prognozu ve monitorizasyonu için geniş bir klinik uygulama yelpazesi sunarlar (Mayeux, 2004). Total Antioksidan Statü (TAS) ve Total Oksidan Statü (TOS) oksidatif stres parametreleri olarak kullanılan önemli biyomarkerlardır (Wu et al., 2017).

TOS, vücudun genel oksidasyon durumunu öngörmek için kullanılmaktadır (Erel, 2005). TAS ise gıdalarda, plazma/serumda ve diğer vücut sıvılarında bulunan tüm antioksidanların kümülatif antioksidan kapasitesini gösteren bir parametre olup (Ghiselli et al., 2000; Nomiyama et al., 2003; Wang et al., 2012), vücudun toplam antioksidan durumunu belirlemek için kullanılmaktadır (Erel, 2004). TAS ile, bilinen ve bilinmeyen antioksidanların kapasitesi ve birbirleriyle olan sinerjistik etkileşimleri değerlendirilebilmekte, böylece oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge hakkında fikir edinilebilmektedir (Serafini and Del Rio, 2004).

2.2.1. Diyabette Oksidatif Stres

Hiperglisemi durumunda, glukoz oto-oksidasyonu, poliol (polyol) yolağı, prostonoid sentezi ve protein glikasyonu gibi pek çok biyokimyasal yolak uyarılmakta ve sonuçta serbest radikallerin üretimi artmaktadır (Giugliano et al., 1996). Diyabette glukozun oto-oksidasyonu, polyol yolağı aracılığıyla substrat akışında artma ve NADPH seviyelerinde azalma, ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşumu ve endotel hücreleri gibi hücresel

hedeflerle etkileşim gibi nedenlerden kaynaklanan ROS'lar, oksidatif strese ve LDL oksidasyonuna (ox-LDL) neden olabilir (Ellis and Triggle, 2003; Pannirselvam et al., 2003). Mitokondrinin bir ROS kaynağı olduğu bilinmektedir. Nitekim, yüksek glukoz maruz bırakılan endotel hücrelerinde oksidatif fosforilasyonun kenetsizlenmesi (uncoupling), hiperglisemi ile oluşan sekelleri önlemektedir (Nishikawa et al., 2000a, 2000b). Ayrıca Nitrik oksit (NO), mitokondriyal solunumu kontrol etmek için önemli bir tonik inhibitör faktördür ve bu nedenle eNOS aktivitesinde veya NO miktarında azalma, mitokondri tarafından süperoksit (O_2^-) üretiminde bir artışa neden olmaktadır. Özellikle süperoksitin aşırı üretimi, NO biyoyararlanımında ve dolayısıyla NO'nun antiaterojenik etkilerinde bir azalmaya yol açarak zararlı etkiler gösterebilmektedir (Ding and Triggle, 2005).

T2DM'li hastalarda TAS seviyelerindeki azalmanın, diyabetteki vasküler komplikasyonların temel patojenik bir faktörü olarak kabul edilebileceği (Pourvali et al., 2016), yüksek kan glukoz düzeyleri ve düşük TAS düzeylerinin oksidatif stresi arttırabileceği ve/veya şiddetlendirebileceği, stres yolaklarındaki aktivasyonun süperoksit radikallerini (O_2^-) artırarak, lipit oksidasyonunu arttırarak, aterogenezi hızlandırarak ve NO biyoyararlanımını azaltarak vasküler komplikasyonların ilerlemesine neden olabileceği ileri sürülmüştür (Błaszczak et al., 2005). Nitekim, çeşitli çalışmalarda, diyabetik hastalarda sağlıklı gönüllülere göre TAS seviyelerinin önemli ölçüde daha düşük olduğu (Rani and Mythili, 2014) ve plazma antioksidanlarının tükendiği, bu durumun da diyabet ve komplikasyonlarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Karalliedde and Gnudi, 2016). Ağır diyabetik nefropati/kronik böbrek hastalığı olan T2DM'li hastalarda, plazma TAS seviyelerinin azaldığı ve serum malondialdehit seviyelerinin arttığı görülmüş, bu bulgunun bu hastalarda antioksidan savunma sisteminin zayıfladığının ve oksidatif stresin arttığının göstergesi olarak kabul edilebileceği ileri sürülmüştür (Bhatia et al., 2003; Calderón-Salinas et al., 2011). Aynı durum, diyabetik retinopati için de bildirilmiş, aköz hüner TAS düzeylerindeki azalmanın retinopatinin progresyonu ile korele olduğu bildirilmiştir (Beyazyıldız et al., 2013). Ayrıca oksidatif stres sırasında plazmada TAS'ın modifikasyonu ve plazma redoks durumunun diyetsetel modülasyonu ile, oksidatif stresin iyileştirilebileceği ve hastalığın başlamasının/ilerlemesinin geciktirilebileceği ve/veya önlenilebileceği ileri sürülmüştür (Maritim et al., 2003;

Marrazzo et al., 2014; Rani and Mythili, 2014; Serafini and Del Rio, 2004). Bununla birlikte, diyabetik hastalarda kan TAS düzeylerindeki azalma ile serum glukoz düzeyleri, hemoglobin A1c (HbA1c) ve diyabetin süresi arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Ayrıca, TAS düzeyleri ile periferik sinir iletim parametreleri arasında da anlamlı bir korelasyon saptanamamıştır (Dordević et al., 2008). Diğer taraftan yüksek serum TAS düzeylerine sahip bireylerde T2DM riskinin daha düşük olduğu bildirilmesine rağmen (Rahimi et al., 2005; Rani and Mythili, 2014; Tupe et al., 2014), bazı çalışmalarda diyabetli hastalarda plazma TAS düzeylerinin normal sağlıklı insanlara kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmış, bu hastalarda plazma TAS düzeylerinin serbest radikallerin oluşumuna karşı daha fazla koruma sağlamak için arttığı ileri sürülmüştür. Sonuçlar tartışmalı olduğu ve bu etkinin altında yatan mekanizmalar henüz netlik kazanmadığı için bu alanda daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Al-Shebly and Mansour, 2012; Korkmaz et al., 2013; Savu et al., 2012).

Hipergliseminin kendisinin başlı başına sıçanlarda kardiyovasküler sistemde ROS'ta artmaya neden olan direkt bir faktör olduğu gösterilmiştir (Ceriello et al., 2002). Diyabette hipergliseminin neden olduğu süperoksit artışının, doku hasarı ve diyabetik vasküler komplikasyonlarda önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir. Diyabetik nefropatili hastalarda diyabet komplikasyonları olmayanlara kıyasla periferik kan hücrelerinde SOD aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir.

ROS seviyelerindeki artmanın diyabette gözlenen endotel fonksiyon bozukluğunun temelinde yatan önemli bir mekanizma olabileceği bilinmektedir (Kayama et al., 2015). Bu görüş ile uyumlu şekilde diyabetik hayvanların rezistans arterlerinin endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında SOD ile düzelme gösterilmiştir (Diederich et al., 1994; Rodríguez-Mañas et al., 1998). ROS, diyabetik hayvan modelinde vasküler endotelyal hücrelerde endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF) aracılı yanıtları çeşitli yollardan (hücre içi Ca^{+2} mobilizasyonunun inhibisyonu, LDL oksidasyonu, kaveolanın bozulması, K^{+}/Ca^{+2} kanal fonksiyonunun ve/veya ekspresyonunun inhibisyonu) bozabilmektedir (Goto and Kitazono, 2019). Diğer taraftan zıt bir şekilde, diyabetik hayvan modellerinde yapılan çeşitli çalışmalarda, SOD (De Vriese et al., 2000a; Fukao et al., 1997), katalaz (De Vriese et al., 2000a), tempol (Oniki et al., 2013), anjiyotensin reseptör blokörü (Oniki et al., 2013,

2006), vitamin C (De Vriese et al., 2000a), vitamin E (Wigg et al., 2004) ve flavonoid (Leo et al., 2011) gibi antioksidanların bozulmuş EDHF aracılı yanıtlar üzerinde anlamlı bir etkilerinin olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmalarda kullanılan antioksidanlar NO aracılı gevşemeyi anlamlı şekilde düzelttikleri için elde edilen negatif sonuçların, kullanılan antioksidanların ROS'u süpürme/giderme yeteneklerindeki bir eksiklikten kaynaklanma olasılığının oldukça düşük olduğu düşünülmüştür (Leo et al., 2011; Oniki et al., 2013; Wigg et al., 2004, 2001).

2.3. Endotel Doku-Vasküler Reaktivite

Fizyolojik koşullar altında, tüm damarların lümenini kaplayan endotel hücreleri, dolaşımda kan ve vasküler dokular arasında bir arayüz görevi görür ve hümmoral değışiklikleri algılayan ilk vasküler hücreler olarak kabul edilirler (Pandolfi and De Filippis, 2007). Konumları nedeniyle, monosit ve trombosit gibi kan kompartımanında bulunan hücreler ve vasküler düz kas hücreleri ile kompleks bir etkileşim halinde oldukları için, damar homeostazında kritik bir rol oynarlar (Pandolfi and De Filippis, 2007). Endotel hücreler ve vasküler düz kas hücreleri arasındaki iletişim karşılıklı olarak birbirini etkiler ve vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli görevler üstlenirler (Ding and Triggle, 2005).

Endotel fonksiyon, organ banyosu (makro damarlar için) veya tel myograf (mikro damarlar için) sistemlerinde izole kan damarlarının asetilkolin (Ach) gibi endotel bağımlı vazodilatörlerin vasküler tonus üzerindeki gevşeme yanıtlarına bakılarak kolayca ölçülebilmektedir (Mulvany and Halpern, 1977). Ayrıca, mikro damarlarda endotel bağımlı vazodilatörlerin veya akım aracılı gevşemelerin (FMD) basınçlı koşullar altında incelenmesiyle de endotel fonksiyona bakılabilmektedir (Davis and Hill, 1999).

Endotel disfonksiyonu, Ach aracılı endotel bağımlı vazodilatör yanıtlara azalma olarak tanımlanmaktadır. Endotelin vasküler tonusun kontrolü de dahil birçok işlevi olmasına rağmen, Ach'ya verilen gevşeme yanıtlarındaki bu azalma, vasküler disfonksiyonun önemli bir belirtici olarak kabul edilmektedir (De Vriese et al., 2000b; Pannirselvam et al., 2003; Triggle et al., 2003). Endotel bağımlı vazodilatasyondaki azalmanın, uzun süreli takipte, kardiyovasküler komplikasyonların riskini artırdığı bilinmektedir (Halcox et al., 2002). Endotelial disfonksiyonun; adezyon moleküllerinin ekspresyonunun artmasıyla,

trombositlerin ve pıhtılaşma faktörlerinin artması nedeniyle artan inflamasyon sonucu endotel tarafından yeniden bir şekillenme ile, inflamatuvar yanıtların oluştuğu bir dizi patofizyolojik komplikasyonlara neden olduğu bilinmektedir (McLeod et al., 1995). Bu nedenle, endotel disfonksiyonun kilit bir risk faktörü olarak görülmesi ve tedavi seçeneklerinde endotelin hedef bir organ olarak düşünülmesi şaşırtıcı görülmemektedir (Aird, 2004; Andrews et al., 2005; De Vriese et al., 2000b; Pannirselvam et al., 2003; Triggle et al., 2003). Bununla birlikte, endotel heterojen bir yapıya ve maddelere sahip olduğu için, bu alanda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar karmaşık olabilmektedir (Andrews et al., 2005). Endotel disfonksiyonu insanlardan izole edilen damarlarda yukarıda sözü edilen *in vitro* teknikler (organ banyosu-tel/basınç myografi) kullanılarak değerlendirilebilmektedir. Bununla birlikte doku kaynaklarındaki sınırlamalar nedeniyle elde edilen veriler genellikle sadece hastalıklı damarlardaki etkileri göstermektedir, çünkü normal (sağlıklı-hasta olmayan) bir kontrole referansta bulunmak pek mümkün olmamaktadır. Dolayısıyla insanlarda hem invaziv hem de invaziv olmayan *in vivo* tekniklerde kullanılabilmektedir. Bu teknikler arasında intrakoroner ölçümler, pozitron emisyon tomografisi, empedans pletismografi, brakial ultrason ve venöz çalışmalar için dorsal el ven kompliansı bulunmaktadır. İnsanlarda endotelin durumu, aterosklerozun önemli bir belirteci olup, bu teknikler arasında intrakoroner ölçümler altın standardı temsil etmektedir (Anderson, 1999; Verma et al., 2004; Verma and Anderson, 2002).

Endotel hücreler, endotel kaynaklı vazokonstriktör ve vazodilatör faktörlerin salınımı yoluyla vasküler tonus üzerinde etki göstermektedirler (Vanhoutte et al., 2017). Nitrik oksit (NO), prostasiklin (PGI₂), endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF), bradikinin, adrenomedullin, C tipi natriüretik peptit (CNP) vazodilatör faktörleri oluştururken; endotelin-1 (ET-1), anjiyotensin II (Ang II), tromboksan A₂, prostaglandinler, hidrojen peroksit (H₂O₂), reaktif oksijen türleri (ROS) ise vazokonstriktör faktörleri oluşturmaktadır (McGuire et al., 2001; Triggle et al., 2003). ET-1, vazoaktif, inflamatuvar ve profibrojenik özellikler sergileyen, kardiyovasküler hastalıkların bir göstergesi olarak kabul edilen, güçlü bir vazokonstriktör ve mitojenik faktördür (Gagliardini et al., 2015). ET-1, A ve B tipi olmak üzere iki hücre yüzeyi reseptörüne bağlanarak etki göstermektedir. A tipi, vasküler düz kas hücrelerinde lokalize

olup, vazokonstriksiyon ve hücre proliferasyonuna aracılık ederken; B tipi endotelial hücrelerde bulunmakta, prostosiklin ve NO stimülasyonu ile vazodilatatif bir etki göstermektedir (Perico et al., 2008).

Nitrik Oksit (NO)

NO, çok kısa ömürlü, çözünür, kararsız ve yüksek oranda yayılabilen gaz halinde bir moleküldür. NO, bir kalsiyum (Ca^{2+})/kalmödülin bağımlı enzim olan nitrik oksit sentaz (NOS) adı verilen oksidoredüktaz enzim ailesi tarafından L-arjininin L-sitrüline dönüştürülmesiyle endojen olarak sentezlenmektedir (Garthwaite et al., 1988). Aynı zamanda endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak bilinen NO, endotel hücrelerden vasküler düz kas hücrelerine difüze olmakta ve burada siklik guanozin monofosfat (cGMP) seviyelerini artıran guanilat siklaz (GC) enzimini aktive ederek, vasküler düz kaslarda vazodilatör etki göstermektedir (Furchgott and Zawadzki, 1980; Moncada et al., 1989). NO, ilk olarak solüble guanilat siklaz (sGC) enzimini aktive ederek cGMP oluşumunu artırmaktadır. NO aracılı cGMP artışı, farklı proteinleri fosforile eden, cGMP'ye bağımlı protein kinazı (PKG) aktive etmektedir (Arnold et al., 1977). NO etkisi, cGMP'yi nötralize eden fosfodiesteraz enzimi tarafından sonlandırılmaktadır (Kleppisch, 2009).

L-arjinin/NO yolağının en önemli vazodilatör olduğu düşünülmektedir. NO vazodilatör etkisine ilave olarak, endotel hücrelerden salınır ve vasküler geçirgenliği azaltır, vasküler duvar adezyonu ve trombosit agregasyonunu inhibe eder, aterom oluşumunda rol alan proteinlerin ekspresyonunu kontrol eder; bu görevini monosit kemoatraktan protein (MCP-1) ve CD11/CD18, P-selektin, vasküler hücre adezyon molekül-1 (VCAM-1), hücrelerarası adezyon molekülü (ICAM) gibi yüzey adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltarak yapmaktadır. Bunlara ek olarak NO, LDL oksidasyonunu azaltır ve vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederek antiaterojenik etkiler göstermektedir (Li and Förstermann, 2000). NOS'un, endotelial (eNOS), indüklenebilir (iNOS) ve nöronal (nNOS) nitrik oksit sentaz olmak üzere üç izoformu bulunmaktadır. eNOS endotelde, G-protein bağımlı reseptörler üzerinden etki eden bir dizi agonist ve fiziksel uyarılar tarafından aktive edilmektedir (Ding and Triggle, 2005). Endotelde üretilen NO, büyük çaplı kondüktans arterlerde endotel kaynaklı gevşemeye aracılık eden

temel bir vazodilatördür ancak küçük rezistans arterlerde endotel bağımlı gevşeme temel olarak vasküler düz kas hücrelerinin endotel hücre aracılı hiperpolarizasyonu ile sağlanmaktadır (Goto and Kitazono, 2019). N^ω-Nitro-L-Arjinin Metil Ester (L-NAME), L-arjinin analogu ve selektif olmayan NOS enzim inhibitörü/antagonisti olarak bilinmektedir (Víteček et al., 2012).

Endojen NO dışında prussidler ailesinin (demir nitrosilleri) bir üyesi olan Sodyum Nitroprussid (SNP) güçlü bir NO donörüdür ve (Miller and Megson, 2007) vasküler kapasitansı artırarak ve koroner vazodilatasyon yaparak etki göstermektedir. Bu etkilerine ilave olarak, SNP'nin güçlü bir antioksidan olduğu da bilinmektedir (Godínez-Rubí et al., 2013).

Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF)

EDHF, bazı vasküler yataklarda, hücre içi kalsiyum (Ca²⁺) konsantrasyonları arttığında, NO veya diğer vazodilatörlerden farklı olarak oluşan difüze edilebilir maddeler olarak tanımlanmaktadır. Kesin olarak bilinmemekle birlikte bu maddelerin, epoksieikosatrienoik asitler (EETs), potasyum iyonları (K⁺), C tipi natriüretik peptit (CNP), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidrojen sülfür (H₂S) olabileceği düşünülmektedir (Félétou, 2016; Fleming, 2016; Goto et al., 2018). Bu difüze olabilir maddeler genel olarak, düz kas K⁺ kanalları ve/veya Na⁺/K⁺ pompasının aktivasyonu ile hücre membranını hiperpolarize etseler de, spesifik koşullarda belirli vasküler yataklarda EDHF oluşturmak veya düzeyini artırmak için endotelial potasyum kanalları üzerinden de etki gösterebilirler (Muñoz et al., 2017; Sonkusare et al., 2016).

Bununla birlikte vasküler düz kasların çeşitli vazoaktif ajanlara yanıtlarının damar boyutu ve lokalizasyonuna bağlı olarak değişen reseptör yoğunluğu ve endotel sekresyonu farklılıklarına göre değişebildiği ve damar çapındaki azalma ile birlikte hiperpolarizan faktörlerin öneminin arttığı bilinmektedir (Clark and Fuchs, 1997; Hwa et al., 1994; Mulvany and Aalkjaer, 1990; Shimokawa et al., 1996; Umans and Levi, 1995; Wu et al., 1993). Ayrıca EDHF'nin vasküler düz kasları potasyum kanalları üzerinden gevşettiği bilinmekle birlikte, EDHF etkisinde rol oynayan kanalların tipi tam olarak bilinmemekte ve ayrıca türe özgü şekilde değişebilmektedir (Félétou and Vanhoutte, 1999).

Çeşitli maddeler potasyum kanalları üzerindeki blokör etkileri ile EDHF’de dahil olmak üzere bu kanallar üzerinden gerçekleşen vasküler yanıtları modüle edebilmektedir. Örneğin, hem insülin sekresyonu hem de insülin etkisi üzerine etki ederek glukoz kontrolünü sağlayan güçlü bir ikinci nesil sülfonilüre olan glibenklamid (Lebovitz et al., 1977) ATP duyarlı potasyum kanallarının inhibitörüdür (kaynak ekle). 4-Aminopridin (4-AP) ise, voltaj kapılı potasyum kanallarını bloke etmektedir (Rodríguez-Rangel et al., 2020). Bunların yanı sıra, çeşitli toksinler iyon kanallarının fizyolojik ve farmakolojik çalışmalarında uzun süredir kullanılmakta (Hille, 1978; Rodríguez de la Vega et al., 2003; Terlau and Olivera, 2004), iyon kanalları-toksin komplekslerinin protein-ligand etkileşimlerinin incelenmesinde kullanılan ideal sistemler oldukları düşünülmektedir (Chen and Kuyucak, 2009). Bu tür toksinler arasında yer alan ve arı venomunun biyoaktif bileşenlerinden biri olan apamin (Son et al., 2007), küçük kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanallarının selektif blokörüdür (Mourre et al., 1997). Apaminin, terapötik ve biyolojik fonksiyonları incelenmiş (Moreno and Giralt, 2015) ve küçük kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanalları aracılığıyla ateroskleroz, hepatik fibroz gibi çeşitli patofizyolojik olaylarda rol oynayabileceği bildirilmiştir (Kim et al., 2012; Lee et al., 2014). Bir diğer toksin olan karibdotoksin ise büyük ve orta kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive olan K^{+} kanallarının blokörüdür (Miller et al., 1985).

Histamin

Endojen histamin, mast hücreleri ve bazofiller tarafından üretilen, alerjik yanıt, gastrik sekresyonun düzenlenmesi, merkezi sinir sistemi nörotransmisyonu ve kardiyovasküler fonksiyonlarda rol alan, inflamatuvar ve immünolojik bir mediyatördür (Ebeigbe and Talabi, 2014). Bu etkilerini hücre zarı yüzeyinde bulunan, G proteini kenetli H1, H2, H3 ve H4 reseptörleri üzerinden göstermektedir (Rangachari, 1998). Kardiyovasküler sistemde H2 reseptörleri esas olarak vasküler düz kas hücrelerinde lokalize olmuşlardır ve siklik adenozin monofosfat (cAMP) aracılığıyla vazodilatör etki gösterirler. H1 reseptörleri ise temel olarak endotel hücrelerde bulunmaktadır ve NO üzerinden vazodilatör etki oluşturmaktadır. Histaminin, bir dizi vasküler yatakta endotelial NO oluşumunu uyardığı bildirilmiştir (Schoeffter and Godfraind, 1988; Van de Voorde and Leusen, 1983). H3 reseptörleri nörotransmitter modülasyonu (Arrang et al., 1983), sınırlı

etkileri olan H4 reseptörleri ise immünomodulator fonksiyonlar göstermektedir (Smuda and Bryce, 2011).

Bradikinin

Kininler, kallikrein enziminin kininojenler üzerindeki enzimatik etkisinin bir sonucu olarak dokularda ve vücut sıvılarında salınan farmakolojik olarak aktif polipeptitlerdir. Kinin ailesi; bradikinin, kallidin ve metionil-lizil-bradikinininden oluşmaktadır. Kallidin ve metionil-lizil-bradikinin, plazma ve idrarda bulunan aminopeptidazlar tarafından bradikinine dönüştürülmektedir (Britos and Nolly, 1981). Kininler, dolaşımdaki kininazlar tarafından hızla (<15 saniye) inaktive edilmektedirler (Sharma and Kesavarao, 1996). Kininleri inaktive eden kininaz enzimleri, vücuttaki kininlerin fizyolojik fonksiyonlarını düzenlemek için plazmada, endotel hücrelerinde ve dokularda bulunmaktadır. Bu enzimler; kininaz I, kininaz II veya anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) ve enkefalinaz olarak bilinmektedirler (Nakayasu and Nagasawa, 1979).

Bradikinin, vasküler düz kas hücrelerinde, endotel hücrelerde, iskelet ve kalp kasında bulunan vazodilatör bir peptittir (Bhoola et al., 1992; Jaffa et al., 2003; Oza et al., 1990). Bradikinin, B1 ve B2 reseptörleri üzerinden (Cochrane et al., 1973) vazodilatör, natriüretik ve diüretik etkiler göstererek (Bhoola et al., 1992; Takada et al., 1985) kardiyovasküler ve renal fonksiyonları desteklemektedir (N Sharma, 2016). Bradikininin, endotel hücrelerdeki reseptörleri ile etkileşimi, fosfolipaz C yolağını aktive etmekte, inositol 1,4,5-trifosfat (IP3) ve diasilgliserol (DAG) seviyelerinde artışa neden olmaktadır (Farmer and Burch, 1992).

2.4. DM’de Vasküler Reaktivitede Değişiklikler

Diyabetik hastalarda kardiyovasküler komplikasyonların insidansının oldukça yüksek olduğu saptanmıştır (Jarrett, 1989). Söz konusu komplikasyonların bir kısmının, kan damarlarının nörotransmitter ve hormonlara karşı reaktivitesindeki olumsuz değişiklikler ile ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (Wiernsperger, 1994). Çeşitli vazodilatör ajanların; diyabetik hayvanların aort (Cameron and Cotter, 1992; Christ et al., 1994; Durante et al., 1988) ve superior mezenterik arterlerindeki etkilerine (MacLeod, 1985; White and Carrier, 1986) yönelik detaylı çalışmalar bulunmaktadır (Oztürk et al., 1996). Deneysel diyabette vasküler reaktivitedeki değişimler, endotel (Durante et al., 1988; White and

Carrier, 1986) ve düz kas fonksiyonlarındaki bozulmalarla (Oztürk et al., 1996) ilişkilendirilmiş ve diyabete bağlı endotel disfonksiyonun diyabetik sıçan intestinal arterioller, mezenterik rezistans arterleri ve korpus kavernozumlarında endotel bağımlı yanıtlarda değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (Dalaklıoğlu et al., 2014; Lash and Bohlen, 1991; Taylor et al., 1992). Bununla birlikte diyabette vasküler endotelin durumuna ilişkin hala bir belirsizlik söz konusudur; Harris ve MacLeod (Harris and MacLeod, 1988) diyabetik sıçan izole aort ve mezenterik arterlerinin NO'ya kasılma yanıtlarında gözlenen artmanın sadece sağlam bir endotel varlığında gözlendiğini belirtmiş, diğer taraftan White ve Carrier (White and Carrier, 1986), diyabetik sıçanlarda hem endotel varlığında hem de yokluğunda (zedelenmesi durumunda) mezenterik arterlerin vazokonstriktörlere kasılma yanıtlarında artma olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan bu bulguyla tamamen zıt olarak Takiguchi ve ark. diyabetik hayvanlardan elde edilen sıçan perfüze mezenterik vasküler yatakların vazokonstriktör ajanlara yanıtında kontrol grubuna göre azalma olduğunu saptamışlardır (Takiguchi et al., 1989). Diğer bazı çalışmalarda ise diyabetik hayvanlardan elde edilen arterlerin SNP ve salbutamol gibi vazodilatör ajanlara gevşeme yanıtlarının kontrol hayvanlarından belirgin bir farklılık göstermediği bildirilmiştir (Van Buren et al., 1998).

Endotelyal disfonksiyonun uzun süreli diyabetin makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlarının oluşumunda patofizyolojik bir rol oynadığı düşünülmektedir (Domingueti et al., 2016). EDHF, diyabette özellikle mikro damarlarda (küçük rezistans arterlerde) NO bağımlı kontrol bozulduğunda vazomotor tonusun modülasyonunda kritik bir rol oynamaktadır (Félétou, 2016; Garland and Dora, 2017; Goto et al., 2018; Vanhoutte et al., 2017; Yang et al., 2019). Bu nedenle, EDHF etkisindeki bir bozulmanın/azalmanın özellikle retinopati, nefropati ve nöropati gibi diyabetik mikrovasküler komplikasyonların insidansını ve progresyonunu etkilemesi muhtemel görünmektedir. Ayrıca, diyabette EDHF'nin bozulması, periferik vasküler direnci artırmakta ve dolayısıyla arteriyel kan basıncını artırarak, diyabetle ilişkili vasküler komplikasyonların progresyonunu da hızlandırmaktadır (Goto and Kitazono, 2019). Diyabetik vasküler komplikasyonlara ek olarak, diyabetik kardiyomiyopati de diyabetli hastalarda önemli bir mortalite/morbidite sebebidir (Lee et al., 2013). EDHF,

kardiyomiyositler üzerinde de direkt bir etkiye sahiptir ve diyabetik kardiyomiyopatiyi modüle edebileceği bildirilmiştir (Goto and Kitazono, 2019).

T2DM hayvan modellerinde mezenterik (Burnham et al., 2006; Chen et al., 2015; Matsumoto et al., 2017, 2006; Oniki et al., 2006; Schach et al., 2014; van Dieren et al., 2010; Young et al., 2008), koroner (Park et al., 2008), renal (Yin et al., 2017), serebral (Tajbakhsh and Sokoya, 2014) ve penil (Schjørring et al., 2012) arterlerin yanı sıra siyatik sinirin epinöral arterleri de dahil olmak üzere bir dizi vasküler yatakta, EDHF aracılı yanıtların azaldığı bildirilmiştir. Ancak, bazı çalışmalarda, deneysel diyabette EDHF aracılı yanıtların değişmediği (Edgley et al., 2008; Kajikuri et al., 2009), hatta arttığı (Pieper, 1999; Shi et al., 2006) bildirilmiştir. Bu çalışmalar arasındaki farklılıkların kesin nedeni/nedenleri belirsizdir; ancak diyabetin şiddetine ve/veya süresine bağlı olabileceği düşünülmektedir (van den Heuvel et al., 2018). Alternatif olarak, diyabetteki bu değişmemiş ve/veya artmış EDHF aracılı yanıtlar, özellikle belirli durumlarda NO aracılı vazorelaksasyon tehlikeye girdiğinde, genel endotelial fonksiyonu korumak için EDHF'nin upregüle olduğu (arttığı) teorisi ile açıklanabilmektedir (Climent et al., 2014; Yada et al., 2018).

Diyabetik hastalarda ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, bradikininin oluşturan bileşenlerin aktivitelerinin değiştiği gösterilmiştir (Müller-Esterl et al., 1986). Bradikinin reseptör knock-out farelerde yapılan çalışmalarda, yaşa bağlı hiperglisemi, hepatik glukoneogenezde artış, glukoz intoleransı, insülin duyarlılığında azalma ve pankreatik hücrelerde fonksiyon bozuklukları görülmüştür (Carlos C Barros et al., 2012; Carlos Castilho Barros et al., 2012). Hipertansif hastalarda ACE inhibitörlerinin kullanımının, hipoglisemik etkilere neden olduğu gösterildikten sonra bradikinin reseptörleri ile glukoz homeostazi arasındaki ilişki araştırılmıştır (Arauz-Pacheco et al., 1990). Böylece, ACE inhibitörlerinin hipertansiyonda gösterdikleri olumlu etkileri, glukoz homeostazında da gösterebileceği düşünülmüştür (Haffner et al., 1998; Hoffman et al., 2015; Juutilainen et al., 2005; MITCHELL et al., 1990). Bu bağlamda, ACE inhibitörleri aracılığıyla oluşan glisemik etkilerdeki azalmanın, Ang II sentezi ile ilişkili olmadığı ve bu adaptasyonda kininlerin aktif rol oynadığı ortaya çıkmıştır (Rosenthal et al., 1997). Yapılan son

çalışmalardan birinde, bradikininin, glukoz homeostazındaki olumlu etkilerini, B2 reseptörü aracılığıyla, eNOS/NO yolağını aktive ederek oluşturduğu gösterilmiştir (Gregnani et al., 2020). Bradikinin sisteminin T2DM oluşumunda önemli bir role sahip olduğu ve bradikinin yolağına katkıda bulunan ajanların diyabetin önlenmesi açısından önemli/değerli olabilecekleri düşünölmektedir (N Sharma, 2016).

2.5. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS)

RAAS renal, kardiyak ve vasköler fizyolojide önemli görevleri olan nörohormonal bir sistemdir. Arteriyal kan basıncı, su ve hidroelektrolit homeostazından sorumludur (Iusuf et al., 2008; Santos et al., 2000). RAAS'ın temel bileşenlerini; renin, anjiyotensinojen (Ang), anjiyotensin I (Ang I), anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE), anjiyotensin II (Ang II), Anjiyotensin II tip 1 (AT1R) ve tip 2 (AT2R) reseptörleri, anjiyotensin (1-7) (Ang (1-7)), anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2), Mas reseptörü ve yeni enzimler, peptitler ve reseptörler oluşurmaktadır (Santos, 2014).

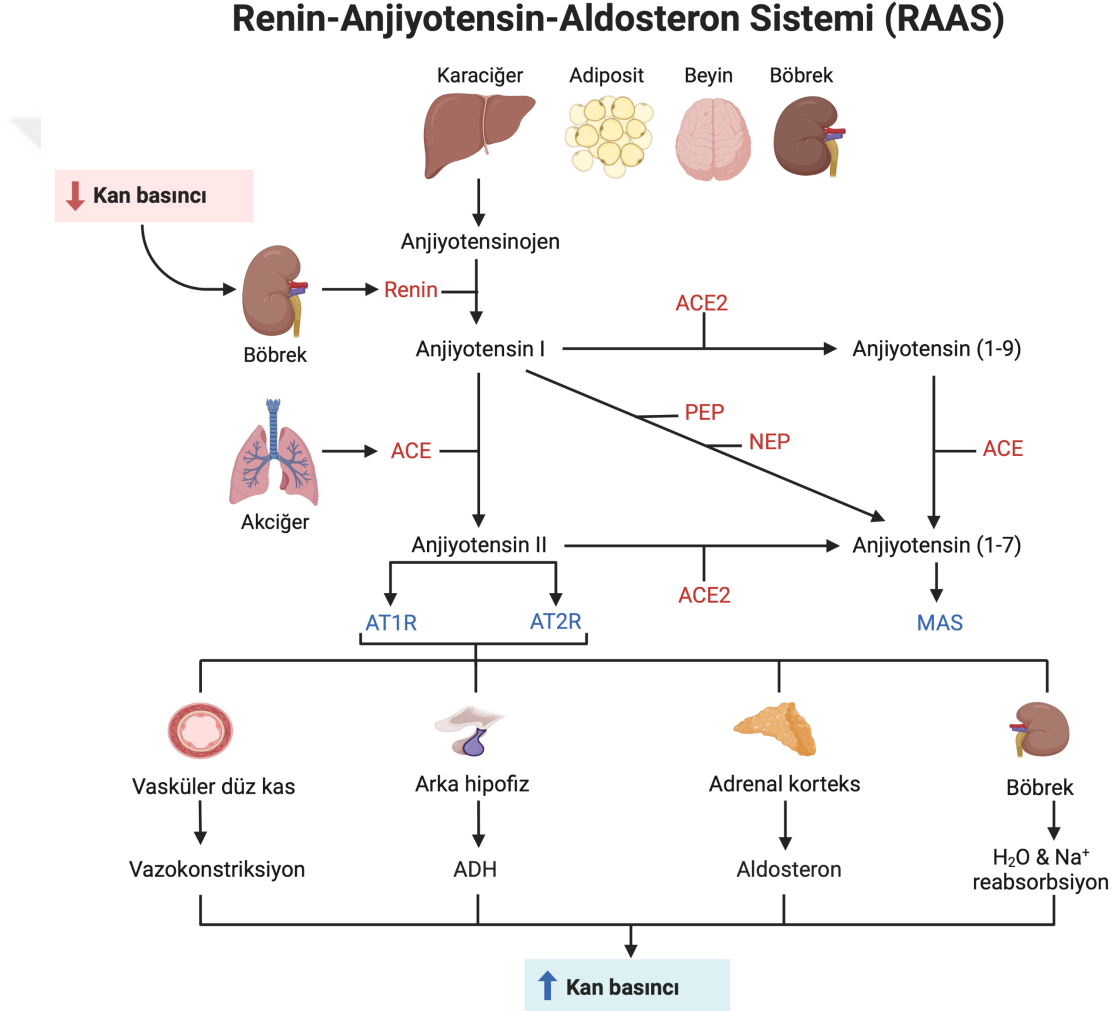
Kan basıncının düşmesi, kan hacminin azalması gibi durumlar RAAS aktivasyonunu tetikler. İlk basamak olarak böbrekteki jukstaglomeröler hücrelerden bir aspartil proteaz olan renin salgılanır (Ames et al., 2019). Renin, kendi enzim substratı olan büyük bir globöler protein olan Ang'yi hidrolize eder (Peach, 1977). Ang, hepatositler, adipositler, beyin ve böbrek hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücre tipleri tarafından üretilmektedir. Karaciğer, normal fizyolojide dolaşımdaki Ang'nin birincil kaynağı olarak kabul edilir (Santos and Ferreira, 2007). Hidroliz sonrasında Ang, bir dekaeptit olan Ang I'e dönüşmektedir (Fountain, John; Lappin, 2021). Takip eden aşamada ise biyolojik olarak inaktif olan Ang I, akciğerden salınan ACE aracılığıyla hidrolize edilerek biyoaktif bir oktapeptit olan Ang II'ye dönüştirölmektedir (Takimoto-Ohnishi and Murakami, 2019). Ang II, RAAS sisteminin temel efektör peptididir (Santos et al., 2000). Bu şekilde üretilen Ang II hücresel etkilerini G protein kenetli reseptörler olan AT1R ve AT2R reseptörleri üzerinden göstermektedir (Ranjit et al., 2021). Yani RAAS sistemi, anjiyotensinlerin çeşitli etkileri ile anjiyotensin peptitlerinin üretimi ve katabolizması üzerinde önemli kontrol ve dengelere sahip, sürekli gelişen bir endokrin sistemdir (Putnam et al., 2012).

RAAS'ın, kan basıncı ve hacminin düzenlenmesi gibi bilinen fizyolojik etkilerine ilave olarak, RAAS aktivitesindeki artmanın çeşitli kardiyovasküler olayların gelişiminde rol oynayan fizyopatolojik süreçlerle de ilişki olduğu saptanmıştır (Ferrario, 2010; Hoogwerf, 2010; Lang and Struthers, 2013; Nguyen Dinh Cat and Touyz, 2011; Putnam et al., 2012; Singh et al., 2010). Hipertansiyon, ateroskleroz, myokard enfarktüsü, patolojik kardiyak yeniden şekillenme (re-modelling), kalp yetmezliği ve metabolik sendrom, RAAS'ın rol oynadığı kardiyovasküler olaylardır (Hoogwerf, 2010; Lang and Struthers, 2013; Putnam et al., 2012). Diğer taraftan başlangıçta sistemik bir şekilde etki gösterdiği düşünülen RAAS'ın sadece böbrek dokusunda lokalize olmadığı, damar sistemi de dahil olmak üzere kalp, pankreas, retina ve beyin gibi farklı dokularda RAAS'ın temel bileşenlerinin sentezlendiği (Crackower et al., 2002; Danser et al., 1994; De Mello and Danser, 2000; Paul et al., 2006, 1993; Wagner et al., 1996) ve lokal RAAS sisteminin bu sistemdeki peptitleri doku düzeyinde otokrin, parakrin veya endokrin etkiler oluşturabilecek düzeylerde ürettiği saptanmıştır (Paul et al., 2006; Ribeiro-Oliveira et al., 2008).

ACE temel olarak bir dipeptidil peptidaz şeklinde fonksiyon göstermektedir (Vickers et al., 2002). ACE inhibitörleri 20 yıldan fazla süredir kardiyovasküler tedavide kullanılmaktadırlar ve birçok faydalı etkileri bulunmaktadır. Bu inhibitörler, koroner arter hastalarında antihipertansif ajan olarak etki gösterirler; endotel disfonksiyonu ve aterosklerozu önleyerek veya tersine çevirerek kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi azaltmaktadırlar (Candido et al., 2002; Komers and Anderson, 2001; MacGregor, 1987; Materson et al., 1993; Materson and Preston, 1994; Neaton et al., 1993; Strawn et al., 2000; Townsend and Holland, 1990). Ayrıca, ACE inhibitörleri kalp yetmezliği olan hastalarda kalp ve böbrek gibi hedef organlarda oluşan hasarı azaltarak hastaların yaşam kalitesini artırmaktadırlar (Laragh et al., 1977; Ondetti et al., 1977; Ruggenenti, 2004; Ruggenenti et al., 2001; Sancho et al., 1976).

İlerleyen yıllar içinde ACE2'nin keşfi ile RAAS'ın geleneksel görünümünde önemli değişiklikler olmuştur (Donoghue et al., 2000; Harmer et al., 2002; Vickers et al., 2002). ACE2, ACE ile yaklaşık %42 homoloji gösteren ve vasküler endotel hücreler ve renal tübüler epitel gibi çeşitli dokularda yüksek oranda eksprese edilen bir monokarboksipeptidazdır (Donoghue et al., 2000; Harmer et al., 2002). ACE2, Ang I ve

Ang II'nin karboksil ucundaki amino asitleri farklı şekilde keserek sırasıyla Ang (1-9) ve Ang (1-7) oluşturmakta ve Ang II düzeylerini düşürmektedir (Donoghue et al., 2000). Sıçanlarda ACE2'nin kardiyak ekspresyonunun artırılması durumunda Ang II'nin neden olduğu kardiyak hipertrofi ve fibroze karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (Huentelman et al., 2005) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS) mekanizması. ACE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim, ACE2: Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2, AT1R: Anjiyotensin II tip 1 reseptör, AT2R: Anjiyotensin II tip 2 reseptör, PEP: Prolil endopeptidaz, NEP: Nötr endopeptidaz, ADH: Antidiüretik hormon.

2.5.1. Anjiyotensin (1-7)

Bir heptapeptit olan (Santos et al., 2000) Ang (1-7)'nin büyük bir kısmının ACE2 aktivitesi ile, az bir kısmının ise Ang (1-9)'un ACE veya prolil endopeptidaz (PEP) ve nötral endopeptidaz (NEP) da dahil olmak üzere çeşitli alternatif enzimlerle hidrolizi yoluyla üretildiği (Chappell et al., 1998; Donoghue et al., 2000; Rice et al., 2004) ve sağlıklı bir insanda dolaşım düzeylerinin 20 pg/ml civarında olduğu bilinmektedir (Vilas-Boas et al., 2009). Kalp, beyin ve böbrek, Ang (1-7)'nin üretildiği ana organlardır (Ferrario et al., 2005). Ayrıca, Ang (1-7) insanlarda kan damarlarının endotel tabakasında da oluşmakta (Santos et al., 1992) ve reseptörü olan Mas burada da bulunmaktadır (Walkyria Oliveira Sampaio et al., 2007a). Diğer türlerde de vasküler duvarda Ang (1-7) oluşumu bildirilmiştir (Santos et al., 2000). Ayrıca, Mas reseptörü farklı türlerin endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde de bulunmaktadır (da Costa Gonçalves et al., 2007; Xu et al., 2008). İntravenöz olarak uygulanan Ang (1-7)'nin insanlarda yarı ömrünün yaklaşık 30 dakika (dk) olduğu (Kono et al., 1986; Petty et al., 2009), tekrarlayan subkutan uygulamada ise yarı ömrünün 29 dk olduğu bildirilmiştir (Rodgers et al., 2006). Ang (1-7) esas olarak akciğerde ACE enzimi ile metabolize edilmektedir (Allred et al., 2000). Ek olarak PEP ve NEP'te, Ang (1-7)'yi peptit segmentlerine indirgeyebilir (Allred et al., 2000). Ang (1-7) etkilerini Ang II reseptörleri (AT1R ve AT2R) aracılığıyla değil, G-proteini ile kenetli Mas reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirmektedir (Rowe et al., 1995; Robson A S Santos et al., 2003). Mas reseptörü ile aktive olan hücre içi sinyal yollarından biri olasılıkla PLA2/AA sinyal yolağıdır (Robson A S Santos et al., 2003). Bu reseptör ile ilişkili bir diğer önemli sinyal yolağı ise eNOS fosforilasyonu, NO salınımının aktive edilmesi, antiatropik etki ve adipogenezisi teşvik etme süreçlerinde kardiyovasküler sistemde etki gösteren PI3K/Akt yolağıdır (Cisternas et al., 2015; Than et al., 2013; Touyz and Schiffrin, 2000).

RAAS sisteminin fonksiyonel ana bileşenlerinden biri olan Ang II hipertansif ve hipertrofik etkiler gösterirken diğer ana bileşen olan Ang (1-7) antihipertansif ve antihipertrofik etkilerle karakterize edilmektedir (Iusuf et al., 2008). Ang (1-7)'in, Ang II'nin vasküler ve proliferatif etkilerine karşı düzenleyici bir rol oynayarak zıt etki gösteren primer bir anjiyotensin olduğu bildirilmiştir (Santos et al., 2000).

Sıçanlarda yapılan çeşitli çalışmalarda, Ang (1-7)'nin direkt ya da Mas reseptörü aracılı etki ile antihipertansif etkiler oluşturduğu (Dobruch et al., 2003; Paula et al., 1995; Schiavone et al., 1988) Ang (1-7) infüzyonunun renal kan akımında (Handa et al., 1996) ve kan basıncında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Iyer et al., 2000). Ayrıca, Ang (1-7)'nin özellikle RAAS'ın böbrekte hidroelektrolit homeostazındaki fizyolojik rolüne katkıda bulunduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Santos et al., 2000). Kronik Ang (1-7) infüzyonunun stent yerleştirilmesinden sonra neointima oluşumunu azaltarak, sıçan karotid arter vasküler düz kas hücrelerinde antiproliferatif etki gösterdiği saptanmıştır (Langeveld et al., 2005). Ayrıca, Ang (1-7)'nin antiproliferatif etkisinin sadece vasküler düz kas hücreleriyle sınırlı olmadığı (Freeman et al., 1996; Sheng-Long et al., 2012), kardiyak fibroblastlar (McCollum et al., 2012) ve tümör hücreleri de (Gallagher, 2004; Wan, 2011) dahil olmak üzere diğer hücre tiplerinde de antiproliferatif etkiler gösterdiği anlaşılmıştır. Ek olarak sıçan kalp yetmezliği modelinde kardiyak fonksiyonu, koroner perfüzyonu ve aort endotel fonksiyonunu koruduğu ve antihipertrofik etki gösterdiği bildirilmiştir (Loot et al., 2002). Ang (1-7)'nin kardiyovasküler sistemde vazodilatör, myokardiyal koruyucu, antiaritmik, antihipertansif, pozitif inotropik ve patolojik kardiyak re-modellingi inhibe edici etkilerine (Iusuf et al., 2008; Santos et al., 2013; Zimmerman and Burns, 2012) ilave olarak insülin direncini azaltarak metabolizma üzerinde de olumlu etkiler oluşturabileceği ileri sürülmüştür (Echeverría-Rodríguez et al., 2014; Giani et al., 2009; Santos et al., 2010).

Bununla birlikte Ang (1-7)'nin kardiyovasküler sistemdeki etkileri konusunda halen çeşitli belirsizlikler de mevcuttur; örneğin, Ang (1-7)'nin düşük konsantrasyonları antiaritmik etkiler oluştururken yüksek konsantrasyonları kardiyak aritmiyi uyarabilmektedir (De Mello et al., 2007; Donoghue, 2003; Neves et al., 1997). Benzer şekilde, Ang (1-7)'nin böbrekte olumlu etkilerini (diüretik, natriüretik, antifibrotik, antiproliferatif) gösteren çalışmalar yanı sıra, zararlı (antidiüretik, proinflamatuvar, profibrotik) etkiler oluşturabileceğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Santos et al., 2013; Zimmerman and Burns, 2012).

Kan damarlarının Ang (1-7)'nin oluşumu (Santos and Campagnole-Santos, 1994) ve biyolojik etkileri (Tallant et al., 1999) açısından önemli bir bölge olduğu görülmektedir.

Normotansif kemirgenlerde, Ang (1-7)'nin periferel dirençte bir azalmaya neden olduğu (Botelho-Santos et al., 2012; Sampaio et al., 2003), aort halkaları (Robson A.S. Santos et al., 2003; Silva et al., 2011) ve çeşitli vasküler alanlarda (Botelho-Santos et al., 2012; Sampaio et al., 2003) vazodilatör etkiler oluşturarak Ang II'nin kasıcı etkisine karşı koruma oluşturduğu bilinmekle birlikte, böbrek damarları üzerindeki etkilerine yönelik çalışmaların sonuçları oldukça çelişkili görünmektedir: Renal vasküler tonus üzerinde etkisinin olmadığını gösteren yayınlar yanı sıra (Simões-e-Silva et al., 1997; van der Wouden et al., 2006), vazokonstriksiyon yaptığını (Ren et al., 2002) ya da vazodilatasyona neden olduğunu (van Rodijnen et al., 2002) bildiren çalışmalar da bulunmaktadır.

Fizyolojik koşullarda lokal olarak üretilebilen ACE2 üretiminin patolojik koşullarda değişiklikler gösterebildiği (Goulter et al., 2004), kardiyovasküler patolojilerde gerek ACE2, gerekse Ang (1-7) düzeylerinin ve aktivitesinin değişebildiği bilinmektedir (Averill et al., 2003; Garabelli et al., 2008). Bu nedenle ACE2'nin kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinde olası olumlu etkileri yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda ACE2'nin kardiyak fonksiyon, hipertansiyon, ateroskleroz ve diğer kardiyovasküler hastalıklarda rolünün olabileceği (Ferreira et al., 2011, 2010; Hernández Prada et al., 2008), ACE2/Ang (1-7)/Mas aksı aktivasyonunun pek çok hayvan modelinde endotel fonksiyon bozukluğunu düzelttiği (Rabelo et al., 2011), Mas eksikliğinin ise ROS üretiminde artmayla birlikte kan basıncında artma ve endotel fonksiyonlarında bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir (Xu et al., 2008). Bu çalışmalarda, Mas reseptör eksikliği ile ilişkili şekilde endotel disfonksiyon oluşması; normotansif ratlara kısa süreli Ang (1-7) infüzyonunun endotel fonksiyon bozukluğunu düzeltmesi (Faria-Silva et al., 2005), çeşitli hayvan türlerinde farklı koşullarda vasküler fonksiyonlarda Mas reseptör aracılı olumlu yanıtların elde edilmesi, Mas reseptör knock-out farelerde hipertansiyonun kötüleşmesi (Rakušan et al., 2010) birbirlerini destekler nitelikte bulunmuştur (Durand et al., 2010; Stegbauer et al., 2011). Ayrıca, knock-out farelerde sistolik gerilimdeki azalma, sol ventrikül boyutlarındaki artma (Santos et al., 2006), endotel fonksiyonda bozulma (Peiró et al., 2007), iskemi sonrası iyileşmede yavaşlama (Castro et al., 2006; Santos et al., 2006) ile ciddi şekilde hasar görmüş bir kalbin varlığı, bu reseptörün kalp sağlığı için önemli olduğunu göstermektedir.

2.6. DM, Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS)

RAAS'ın diyabette önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Lim et al., 2007). ACE2 geni silinmiş farelerde, insülin sinyalinin bozulduğu, hepatik ROS seviyelerinde, oksidatif strese ve karaciğer inflamasyonunda artmayla birlikte hepatik fibroz ve glukoz homeostazında bozulma görüldüğü (Niu et al., 2008), Ang II ve Ang (1-7) aşırı ekspresyonunun ise glisemik kontrol ve insülin duyarlılığı üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu (Bindom et al., 2010; Cao et al., 2016; Österreicher et al., 2009) bildirilmiştir. Dolaşımdaki ACE2 aktivitesinin streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan sıçanlarda ve obez olmayan farelerde arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Riera et al., 2014; Yamaleyeva et al., 2012). Vasküler dokuda RAAS aktivasyonu, vasküler hasar ve inflamasyonu tetiklemekte, bu da vasküler hastalığın patofizyolojisinin ilerlemesine katkıda bulunmaktadır (van Thiel et al., 2015). Bu nedenle RAAS'ın diyabetik vasküler komplikasyonlara yol açan patolojik mekanizmalarda rol alabileceği ileri sürülmüştür (Ola et al., 2017).

2.6.1. DM, Anjiyotensin (1-7)

Ang (1-7)'nin kronik infüzyonu veya transgenik ekspresyonu sonrasında dolaşımdaki konsantrasyonlarının arttığı ve hiperinsülinemi, insülin direnci ve inflamatuvar yanıtlar üzerinde olumlu etkiler gözlemlendiği (Giani et al., 2009; Marcus et al., 2013; Santos et al., 2012), Ang (1-7)/Mas aks aktivasyonunun oksidatif strese karşı koruma sağladığı ve glukoz metabolizmasını iyileştirdiği bildirilmiştir (Liu et al., 2012; Santos, 2014). Ang (1-7) ile tedavinin deneysel çalışmalarda SOD ekspresyonunu artırarak ROS'ta azalma oluşturduğu ve bu şekilde diyabetle oluşan oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (Mordwinkin et al., 2012). Ayrıca, Ang (1-7)'nin diyabetik nefropatili farelerde ROS üretimini baskılayarak yararlı etkiler oluşturduğu bildirilmiştir (Mori et al., 2014).

Diyabetik hayvanlarda Ang II düzeylerinin arttığı, ACE2 ve Ang (1-7) düzeylerinin ise azaldığı bildirilmiştir (Singh et al., 2007; Tikellis et al., 2012). Diyabetik sıçanlarda karotid arterlerin Ang (1-7)'ye gevşeme yanıtlarının bozulduğu (Pernomian et al., 2015), ekzojen Ang (1-7)'nin ise diyabetik sıçanlarda çeşitli vazokonstriktör ve vazodilatör ajanlara vasküler reaktivitede meydana gelen bozulmaları düzelttiği gösterilmiştir (Benter et al., 2007; Faria-Silva et al., 2005; Yousif et al., 2012). Ang (1-7) uygulaması diyabetik

sıçan izole renal arterlerinde noradrenalin (NA), endotelin-1 (ET-1) ve Ang II ile oluşan kasılma yanıtlarında anlamlı azalmalara neden olmaktadır (Benter et al., 2007). Ang (1-7)'nin kasılma yanıtları üzerindeki etkisi, spontan hipertansif diyabetik hayvanlarda vazokonstriktör ajanlara artan yanıtları normale döndürmesi ile de desteklenmektedir (Benter et al., 2008). Ang (1-7)'nin bu tür etkilerinin mekanizmasını anlamaya yönelik çalışmalarda NO biyoyararlanımı ve antioksidan etkisinin ön plana çıktığı görülmektedir; Ang (1-7)'nin diyabetik spontan hipertansif sıçanlarda ve deneysel diyabetik fare modelinde nitrojen oksit aktivitesini baskıladığı (Benter et al., 2008; Moon et al., 2011), nitrojen oksit ile indüklenen renal oksidatif stresi önlediği (Benter et al., 2008) ve Zucker diyabetik yağlı sıçanlarda renal oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (Giani et al., 2012). Ayrıca endojen ACE2/Ang (1-7) aktivasyonu veya ACE2 aşırı ekspresyonunun diyabetik sıçanlarda NO biyoyararlanımını artırarak ve oksidatif stresi inhibe ederek endotel fonksiyonlarını koruduğu gösterilmiş ve ACE2/Ang (1-7) aks aktivasyonunun diyabetik vaskülopatiyeye karşı önemli bir terapötik potansiyel yaklaşım olabileceği bildirilmiştir (Zhang et al., 2015). Diğer taraftan özellikle rezistans arterlerde olmak üzere Ang (1-7)'nin çeşitli vazoaktif ajanlara damar yanıtı üzerinde olumlu etkilerinde NO ve ROS'lara ek olarak siklooksijenaz ürünleri ve EDRF de rolü olabileceği anlaşılmıştır (Fernandes et al., 2001; Oliveira et al., 1999; Paula et al., 1995). Bununla birlikte, insan arterlerinde yüksek glukozun etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, yüksek glukozla maruz kalmanın subkutan arterlerde bradikinin kaynaklı EDHF aracılı gevşemeyi inhibe ederken; mezenterik arterlerde bradikinin kaynaklı EDHF aracılı gevşemeyi arttırdığı gösterilmiştir (MacKenzie et al., 2008). Yüksek glukoz düzeylerinin farklı vasküler yataklarda EDHF aracılı yanıtlar üzerindeki farklı etkisinin çalışılan vasküler yataklar ve kullanılan agonistler temelinde EDHF aracılı etkilerdeki heterojenliğini yansıtabileceği bildirilmiştir (Ding et al., 2005; Goto et al., 2018). Diğer taraftan, diyabetik hayvanlarda RAAS inhibitörlerinin EDHF üzerindeki etkileri araştırıldığında (Hosoya et al., 2010; Matsumoto et al., 2010; Oniki et al., 2013, 2006); Ang II reseptör blokörü (ARB) losartan ile kronik tedavinin diyabetik sıçan mezenterik arterlerinin K^+/Ca^{+2} kanal aktivitelerini artırarak, bozulan EDHF aracılı gevşeme yanıtlarını (Fukao et al., 1997) iyileştirdiği görülmüş (Matsumoto et al., 2010), ancak zıt bir şekilde, diğer bir ARB blokörü olan kandesartan veya kandesartan + SOD mimetik tempol (hem hücre içi hem de hücre dışı süperoksitlerin

temizleyicisi (Oniki et al., 2013)) kombinasyonu ile kronik tedavinin diyabetik sıçan mezenterik arterlerinde, EDHF aracılı gevşeme yanıtlarını iyileştirmediği saptanmıştır (Oniki et al., 2013, 2006). Dolayısıyla RAAS'ın diyabette EDHF aracılı vasküler yanıtlar üzerindeki etkileri halen net olarak bilinmemektedir.

Diğer taraftan, izole organ banyolarında Ang (1-7)'nin izole damarlar üzerindeki bu etkileri dışında, kronik ekzojen Ang (1-7) tedavisinin deneysel diyabetik hayvanlarda vasküler dokuların çeşitli vazodilatör ajanlara yanıtlar üzerindeki etkileri ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmalar relatif olarak çok az sayıda çalışmada ve sınırlı şekilde incelenmiştir; Deneysel diyabetik sıçanlarda bir ACE2 aktivatörü olan XNT (1-[[2-(dimetilamino)etil]amino]-4-(hidroksimetil)-7-[[[(4metilfenil)sulfonyl]oksi]-9H-xantona-9) ile 4 hafta süreli tedavinin izole aort halkalarının endotel fonksiyonlarında düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir. ACE2 aktivatörü XNT ile akut inkübasyon durumunda da izole aort dokusunda gevşeme oluştuğu, gözlenen damar gevşemesine ROS üretiminde azalmanın eşlik ettiği gösterilerek, XNT'nin diyabetik sıçan aortunda endotel fonksiyonu düzeltici etkisinde ROS'ların rolü ortaya konulmuştur (Fraga-Silva et al., 2013). Bir diğer çalışmada ise 4 hafta süreyle Ang (1-7) tedavisinin diyabetik sıçan karotid ve renal arter halkalarının ve perfüze mezenterik yatağının çeşitli vazokonstriktör ve vazodilatör ajanlara yanıtlarında diyabet ile gözlenen bozuklukları önlediği gösterilmiş ancak Ang (1-7)'nin etkilerinde rol oynayan mekanizmalar incelenmemiştir (Benter et al., 2007). Kronik Ang (1-7) tedavisinin diyabet ile indüklenen vazokonstriktör ve vazodilatör ajanlara sırasıyla artmış ve azalmış yanıtlar üzerinde olumlu etkisi, benzer şekilde diyabetik sıçan izole renal arter halkalarında da gösterilmiş ancak bu çalışmada da gözlenen etkinin altında yatan mekanizmalar incelenmemiştir (Benter et al., 2008).

Başka bir çalışmada, diyabet kaynaklı erektil disfonksiyon oluşturulan sıçanlarda, Ang (1-7) uygulamasının p-eNOS/eNOS'u artırarak oksidatif stresi baskıladığı, iNOS düzeylerini azalttığı ve hücre içi kalsiyum düzeylerini azaltarak erektil yanıtları iyileştirdiği bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada, Mas reseptör antagonisti A779 ve Akt antagonisti LY294002 ile tedavinin, iNOS üzerinde Ang (1-7)'nin etkilerini tersine çevirdiğini göstererek, Ang (1-7)'nin Mas/Akt sinyal yolağı aracılığı ile diyabet kaynaklı erektil disfonksiyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (Xu et al., 2022).

Özetle, RAAS sisteminde relatif olarak yeni keşfedilen bir molekül olan Ang (1-7)'nin pek çok deneysel hastalık modelinde endotel fonksiyon bozukluğunu düzelttiği, dolayısıyla çeşitli kardiyovasküler ve metabolik hastalıklarda potansiyel bir terapötik yaklaşım olabileceği anlaşılmıştır. Bu kapsamda, diyabetik vaskülopatiye karşı önemli bir terapötik yaklaşım olabileceği anlaşılan bir sistemin (ACE2/Ang (1-7)/Mas aksı) son ürünü ile yapılacak kronik bir tedavinin çeşitli vazokonstriktör ve vazodilatör ajanlara rezistans arterlerin yanıtları üzerindeki etkisinin ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmaların belirlenmesinin, Ang (1-7)'nin diyabetik hastalarda kardiyovasküler komplikasyonlarına yönelik terapötik potansiyelinin öngörülebilmesi açısından oldukça önemli ve yararlı olacağı düşünülerek bu tez çalışması yapılmıştır. Diyabetteki iyi bilinen oksidan/antioksidan statü değişiklikleri ve bu değişikliklerin endotel fonksiyonları ile olası ilişkileri nedeniyle deneysel diyabet oluşturulan sıçanlardan elde edilen serum ve mezenterik arter örneklerinde sırasıyla sistemik ve lokal TAS ve TOS düzeyleri ölçülmüştür. Kronik anjiyotensin tedavisinin bu parametreler üzerindeki olası etkileri de belirlenmiştir. Çalışmamızın hipotezi deneysel diyabetin sıçanlarda endotel disfonksiyonuna, sistemik ve lokal (mezenterik arter) oksidan/antioksidan statü değişikliklerine ve izole mezenterik arterlerinin vazokonstriktör ve vazodilatör ajanlara yanıtlarında değişikliklere neden olacağı, anjiyotensin (1-7) ile kronik tedavinin ise bu değişiklikler üzerinde olumlu etkiler göstereceğidir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 12 haftalık 250-300 gram (g) ağırlığında Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 60 adet erkek Wistar albino rat (Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Karar No: 779/2018.10.18) kullanıldı. Deney hayvanları, sakrifikasyon gününe kadar, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde, sıcaklık (20-24°C), nem oranı (%65-70) ve ışık kontrollü (12 saat aydınlık/12 saat karanlık) ortamda barındırıldı, standart pelet yem ve çeşme suyu alan hayvanlarda, yiyecek ve su kısıtlaması (ad-libitum şekilde) uygulanmadı.

3.1.1. Deneysel Diyabet Modeli Oluşturma

Deneysel diyabet oluşturulan deney hayvanlarının kan glukoz değerleri, deneysel diyabet oluşturulmadan önce, kuyruk veninden elde edilen kan örneklerinde test stripleri ve glukometre cihazı aracılığı ile ölçüldü (Şekil 3.1), sonra her hayvanın vücut ağırlığına göre, oda ısısında pH 4.5 olan 0,1 M sitrat tamponu içerisinde hazırlanmış 50 mg/kg streptozotosin (STZ) tek doz olacak şekilde intraperitoneal (i.p.) yolla uygulandı. STZ uygulamasını takip eden 48 saat süresince hipoglisemik fazın şiddetini azaltmak için deney hayvanlarının içme suyuna %2 sükroz eklendi. Daha sonrasında çeşme suyuna geçildi. STZ enjeksiyonundan 72 saat ve 7 gün sonra tekrar kuyruk veninden elde edilen kan örneklerinde aynı şekilde kan glukoz ölçümü yapıldı, her iki ölçümde de kan glukoz değeri >250 mg/dl olan deney hayvanları diyabetik kabul edildi. Bu değerlere ulaşamayan deney hayvanları deneyden çıkarıldı ve ötenazi uygulamasına tabi tutuldu.

Deneylerde kullandığımız STZ dozu deneysel diyabet ile ilgili daha önceki TÜBİTAK proje (Proje No:111S212, 114S410) çalışmalarımızda kullandığımız ve sıçanlarda düşük mortalite ile (%10) başarılı bir şekilde diyabet oluşturduğumuz bir dozdur.



Şekil 3.1. Glukometre cihazı ve strip ile kuyruk veninden kan glukoz ölçümü

3.1.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deney hayvanlarına uygulanan enjeksiyon işlemleri Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmamızda dört adet deney grubu oluşturuldu. Başarılı bir şekilde deneysel diyabet oluşturulduğu teyit edilen hayvanlar “DM” ve “DM + Ang (1-7)” olmak üzere rastgele iki gruba ayrıldı. Deneysel diyabet oluşturulmayan diğer hayvanlarda, “Kontrol” ve “Kontrol + Ang (1-7)” olmak üzere rastgele iki gruba ayrıldı. Deney grupları:

1) Kontrol Grubu: Çözücü madde etkisini ve enjeksiyon stresinin etkisini ortadan kaldırmak için, STZ yerine eşdeğer hacimde STZ çözücüsü olan 0.1 M sitrat tamponu i.p. olarak tek doz uygulandı. Çözücü uygulamasından sonra 8 hafta beklendi ve sonra 4 hafta her gün eşdeğer hacimde subkutan (s.k.) Ang (1-7) çözücüsü olan %0,9'luk serum fizyolojik (SF) uygulandı.

2) Kontrol + Ang (1-7) Grubu: Çözücü madde etkisini ve enjeksiyon stresinin etkisini ortadan kaldırmak için, STZ yerine eşdeğer hacimde STZ çözücüsü olan 0.1 M sitrat tamponu i.p. olarak tek doz uygulandı. Çözücü uygulamasından sonra 8 hafta beklendi ve sonra 4 hafta her gün s.k. olarak 576 µg/kg dozunda Ang (1-7) uygulandı.

3) DM Grubu: STZ uygulamasından sonra 8 hafta beklendi. Çözücü madde etkisini ve enjeksiyon stresinin etkisini ortadan kaldırmak için 4 hafta her gün eşdeğer hacimde s.k. Ang (1-7) çözücüsü olan %0,9'luk SF uygulandı.

4) DM + Ang (1-7) Grubu: STZ uygulamasından sonra 8 hafta beklendi ve sonra 4 hafta her gün s.k. olarak 576 µg/kg dozunda Ang (1-7) uygulandı (n=6-10) (Tablo 3.1).

Kronik uygulamalar her gün sabah aynı saatte yapıldı. Çalışmanın başından itibaren geçen süre olan 12. haftanın sonunda eter anestezisi altında hayvanların karın bölgesi açılarak abdominal aortadan biyokimyasal ölçümler için kan örnekleri alındı, takibinde mezenterik arter yatakları izole edilerek alındı ve hayvanlar eksanguinasyon ile sakrifiye edildi. Kronik Ang (1-7) tedavisi için tercih edilen doz (576 µg/kg), Ang (1-7)'nin sıçan izole vasküler dokularda fonksiyonel etkilerine yönelik az sayıda çalışmada fonksiyonel etkiler oluşturduğu gösterilen bir dozdur (Benter et al., 2007).

Tablo 3.1. Deney Grupları

1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup
Kontrol	Kontrol + Ang (1-7)	DM	DM + Ang (1-7)
Tek doz i.p. 0.1 M Sitrat tamponu	Tek doz i.p. 0.1 M Sitrat tamponu	Tek doz i.p. 50 mg/kg STZ	Tek doz i.p. 50 mg/kg STZ
8 hafta sonra			
4 hafta her gün s.k. %0,9 SF	4 hafta her gün s.k. 576 µg/kg Ang (1-7)	4 hafta her gün s.k. %0,9 SF	4 hafta her gün s.k. 576 µg/kg Ang (1-7)

3.1.3. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlığı ve Kan Glukoz Değerleri

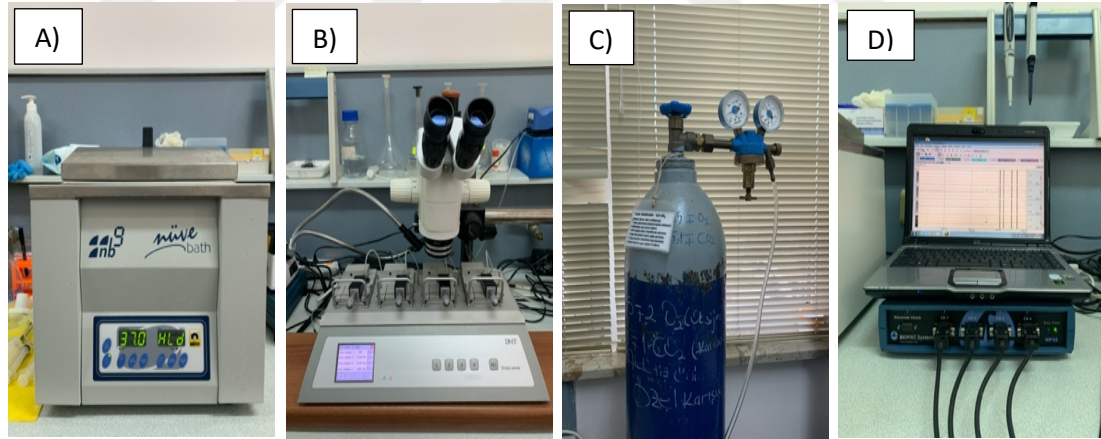
Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları çalışmanın başında (0. gün) yani STZ veya çözücüsünün uygulanmasından hemen önce, kronik uygulamaya geçilmeden hemen önce ve sakrifikasyon öncesi olmak üzere 3 kez ölçüldü ve kaydedildi. Yine kan glukoz değerleri de aynı şekilde, ölçüldü ve kaydedildi. Diyabet olan gruplarda ayrıca ilave ölçümler yapıldı.

3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Deneylerde kullanılan tel myograf sistemi, su banyosu sirkülatörü, bilgisayar tabanlı data toplama sistemi, diseksiyon mikroskobu, hassas terazi, glukometre ve pH metre Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarında (Şekil 3.2), santrifüj cihazı ve spektrofotometre Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında bulunmaktadır (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Deneylerde kullanılan cihazlar

Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	Marka/Model
Tel Myograf Sistemi	Multi Myograph System, 620 M, DMT
Tungsten tel	Radon Medikal
Su banyosu sirkülatörü	Nüve NB 9
Bilgisayar tabanlı data toplama sistemi	Biopack MP 35, Commat Ltd.
Hassas terazi	Radwag AS 220 C/2
Diseksiyon mikroskobu	Zeiss Stemi 2000-C Stereo Microscope 6.5x-50x
pH metre cihazı	WTW İmolab
Glukometre cihazı	Abbott Optium Xceed
Glukometre cihazı için kan glukoz test sribi	Abbott FreeStyle Optium Neo H
Santrifüj cihazı	Nüve
Spektrofotometre	Siemens Viva-E analizörü



Şekil 3.2. Tel myograf sistemi fotoğrafları

A) Su banyosu sirkülatörü, B) Tel myograf cihazı, C) %95 O₂ ve % 5CO₂ içeren gaz karışım tüpü, D) Bilgisayar tabanlı veri toplama sistemi

3.3. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanması

3.3.1. Deney Hayvanlarında Anestezi Oluşturmak İçin Kullanılan Kimyasal Madde

Dietil Eter (Cas 60-29-7, Isolab, Germany)

3.3.2. Deney Hayvanlarında Deneysel Diyabet Oluşturmak İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

Streptozotosin (Cas 18883-66-4, Cayman Chemicals, USA); çözücü sitrat tamponu (Sodyum Sitrat (Cas 6132-04-3, Merck, Germany) ve Sitrik Asit (Cas 77-92-9, Merck, Germany)).

3.3.3. Deney Hayvanlarında Kronik Ekzojen Tedavi İçin Kullanılan Madde

Ang (1-7) (Cas 51833-78-4, Sigma-Aldrich, USA); çözücü distile su.

3.3.4. Tel Myograf Sisteminde *in vitro* Deney Ortamı Oluşturmak İçin Gerekli Krebs Solüsyonunu Hazırlamada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Normal Krebs Solüsyonu

Sodyum klorid (NaCl) 118 (Cas 7647-14-5), Potasyum klorid (KCl) 5 (Cas 7447-40-7), Sodyum hidrojen karbonat (NaHCO₃) 25 (Cas 144-55-8), Potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) 1.0 (Cas 7778-77-0), Magnezyum sülfat (MgSO₄) 1.2 (Cas 10034-99-8), Kalsiyum klorid (CaCl₂) 2.5 (10035-04-8) ve D-glukoz 11.2 (Cas 14431-43-7) mM (Merck, Germany); çözücü distile su.

30, 60 ve 100 mM KCl Krebs Solüsyonu

Bu konsantrasyonlarda KCl içeren Krebs solüsyonları, deneylerde kullanılan Krebs solüsyonlarında planlanan KCl değerlerindeki artmanın NaCl değerlerindeki azalma ile kompanse edilmesi, diğer kimyasalların konsantrasyonlarının ise değiştirilmemesi şeklinde hazırlandı.

30 mM KCl içeren Krebs solüsyonu, normal Krebs solüsyonunun KCl değeri 30 mM, NaCl değeri 93 mM olacak ve diğer kimyasalların konsantrasyonları aynı kalacak şekilde hazırlandı.

3.3.5. Mezenterik Arter Halkalarında Gevşeme Yanıtları Oluşturmak İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

Ach (Cas 60-31-1, Fluorochem, UK); çözücü distile su, SNP (Cas 13755-38-9, Sigma, USA) çözücü distile su, bradikinin (Cas 6846-03-3, Sigma-Aldrich, Switzerland); çözücü asetik asit, histamin (Cas 51-45-6, Sigma-Aldrich, Switzerland); çözücü distile su.

3.3.6. Mezenterik Arter Halkalarında Kasılma Yanıtları Oluşturmak İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

Fenilefrin (Cas 61-76-7, Sigma-Aldrich, Germany) çözücü distile su, ET-1 (Cas 117399-94-7, Cayman Chemicals, USA) çözücü distile su, Ang II (Cas 4474-91-3, Sigma-Aldrich, USA) çözücü distile su, Noradrenalin (Cas 108341-18-0, Sigma-Aldrich, USA).

3.3.7. Mezenterik Arter Halkalarında Endotel Bağımlı Gevşeme Yanıtları Oluşturmak İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

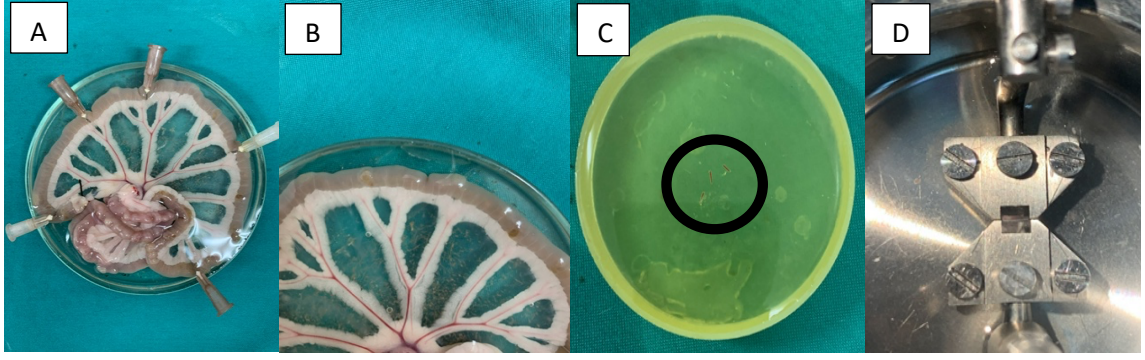
L-NAME (Cas 51298-62-5, Fluorochem, UK) çözücü distile su, indometazin (Cas 53-86-1, TCI, Japan) çözücü DMSO, glibenklamid (Cas 10238-21-8, TCI, Japan) çözücü DMSO, 4-Aminopridin (Cas 504-24-5, Sigma-Aldrich, USA) çözücü distile su, karibdotoksin (Cas 95751-30-7, Sigma-Aldrich, USA), apamin (Cas 24345-16-2, Sigma-Aldrich, Israel) çözücü distile su, SOD (Sigma), katalaz (Sigma-Aldrich, USA)

3.3.8. Tel Myograf Sisteminin Sterilizasyonu İçin Kullanılan Kimyasal Madde

Asetik Asit (Glacial) (Cas 64-19-7, Merck, Germany) %8'lik konsantrasyonu

3.4. Mezenterik Yatak İzole Rezistans Arterlerinde *in vitro* Fonksiyonel Çalışmalar

İn vitro deneyler Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Deney günü ratlara anestezi madde olarak eter verildi ve sonra abdominal bir kesi ile karın boşluğu açıldı. Biyokimyasal ölçümler için abdominal aorttan kan örneklerinin alınımından sonra, mikrodiseksiyon işlemi için süperior mezenterik arterden ince bağırsak duvarına kadar uzanan mezenterik vasküler yatak izole edilerek soğuk Krebs solüsyonu içeren petri kabına yerleştirilip sabitlendi. Diseksiyon mikroskobu altında arter ve ven ayrımı yapıldıktan sonra, mezenterik vasküler yatağın 3. branşları çevre yağ ve bağ dokusundan temizlenerek, yaklaşık 3 mm uzunluğunda küçük rezistans arter halkaları hazırlanarak, 2.2 cm uzunluğunda ve 40 µm kalınlığındaki tungsten teller aracılığı ile 5 ml Krebs solüsyonu ile doldurulmuş tel myograf sistemine asıldı. Tel myografin banyo solüsyonunun ısısı deneye başlamadan önce 37°C olacak şekilde ayarlandı ve deney boyunca aynı ısıda kalacak şekilde kontrol edildi. Krebs solüsyonu aynı zamanda pH'sı 7.4 olacak şekilde %95 O₂ - %5 CO₂ gaz karışımı ile deney boyunca gazlandı (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Sıçan mezenterik yatak izole rezistans arter halkalarının hazırlanma basamakları

A: Süperior mezenterik arterden ince barsak duvarına kadar uzanan mezenterik vasküler yatağın petriye sabitlenmesi, **B:** Mezenterik vasküler yatağın 3. bantlarının belirlenmesi, **C:** Mezenterik arter halkalarının çevre yağ ve bağ dokusundan temizlenmesi, **D:** Mezenterik arter halkalarının tel myograf sistemine asılması

3.4.1. Normalizasyon

Tel myograf düzeneğindeki damarların istirahat gerilimi olan bazal gerilimi bulmadan önce, damarlar 15 dakikalık dinlenme periyoduna alındı. 15 dakikanın ardından, küçük rezistans arterler aktif gerilim gelişimi için çelik teller aracılığı ile radyal bir şekilde bir normalizasyon yazılımı aracılığı ile belirlenen “arterin iç çevresi π ” değerine eşit olan optimal lümen çapına kadar gerildi. Bu normalize edilmiş etkin lümen çapı, damar gevşedikten sonra 100 mmHg transmural basınca maruz bırakıldığında oluşacak damar çapının %90’ına karşılık geleceği düşünülen değerdir (Mulvany and Halpern, 1977). İzometrik gerilim bilgisayar bazlı bir data toplama sistemine bağlı izometrik transdüserler aracılığı ile kaydedildi. Deneylere 1 saatlik bazal gerilim altında dinlenme periyodu sonrasında başladı ve deneyler arasında dokular 60 dk dinlendirildi. Preparatlar deneyler arasında 15 dk süreyle dinlendirilip yıkandı. İlaç konsantrasyonları banyo solüsyonunda oluşan molar (M) konsantrasyonları olarak ifade edildi. Mezenterik arter halkalarında gerçekleştirilen ölçüm parametreleri her bir deney grubunda $n= 6-10$ olacak şekilde gerçekleştirildi.

3.4.2. Vitalizasyon

Bir saatlik dinlenme periyodu sonrasında damarlara ön-uyarılma safhası olan vitalizasyon aşaması uygulandı. Bu işlem için, mezenterik arter halkalarını içeren tel myograf sisteminin bölümleri 5 ml 20 mM Potasyum Klorür (KCl) içeren Krebs solüsyonu ile doldurduktan sonra Phe (10^{-7} M) ilavesi yapıldı. Bu işlem 3 kere art arda tekrarlandı.

Vitalizasyon işleminden sonra damarlar Krebs solüsyonu ile 3 kez yıkanıp, 15 dakikada bir solüsyonun yenilenmesi şartıyla 30 dakikalık ek dinlenme periyoduna geçildi.

3.4.3. Endotel Sağlamlığı

Deneyler endoteli sağlam ve zedeli izole rezistans mezenterik arter halkalarında gerçekleştirildi. Endoteli zedelenmiş halkalar elde etmek için, damar lümeninden geçirilen bir saç teli damar lümeninin iç yüzeyini döşeyen endotel tabakaya sürtüldü. Endotel sağlamlığı 1 saatlik dinlenme periyodu sonrasında Phe (10^{-6} M) ile kasılan dokuların Ach (10^{-6} M) gevşeme yanıtlarına bakılarak test edildi. Ach'a, %60 ve üzeri gevşeme yanıtı veren dokuların endoteli sağlam, gevşeme yanıtı oluşmayan ya da %60'tan düşük gevşeme yanıtı oluşan dokuların endoteli ise zedeli kabul edildi.

3.5. Deney Protokolü

3.5.1. Vazokonstriktör Ajanlarla Oluşan Reseptör Aracılı Kasılma Yanıtları

Dinlenme periyodu sonrası endoteli sağlam ve zedeli izole damar preparatlarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan ET-1 (10^{-11} - 10^{-8} M), Ang II (10^{-9} - 10^{-6} M) ve noradrenalin'e (10^{-8} - 10^{-5} M) kasılma yanıtları kaydedildi.

3.5.2. Reseptörden Bağımsız Vasküler Kasılma Yanıtları

Kronik Ang (1-7) tedavisinin reseptör aracılı kasılma yanıtları dışında, direkt olarak vasküler düz kasın myojenik fonksiyonları üzerinde olası etkisini değerlendirmek için izole damar halkalarında farklı konsantrasyonlarda (30, 60 ve 100 mM) KCl içeren Krebs solüsyonu ile oluşan kasılma yanıtları incelendi.

3.5.3. Çeşitli Vazodilatör Ajanlara Gevşeme Yanıtları

Çeşitli vazodilatör ajanlara gevşeme yanıtlarını değerlendirmek için submaksimal konsantrasyonda Phe (10^{-7} M) ile ön-kasılma oluşturulan mezenterik arter halkalarında kasılma yanıtı plato düzeylere ulaştığında, kümülatif konsantrasyonlarda Ach (10^{-10} - 10^{-5} M), SNP (10^{-10} - 10^{-5} M), bradikinin (10^{-10} - 10^{-5} M) ve histamin'e (10^{-9} - 10^{-4} M) gevşeme yanıtları kaydedildi.

3.5.4. Endotel Bağımlı Gevşemelerde Nitrik Oksidin (NO) Rolü

Dokular yapısal ve indüklenabilir NOS izoformlarının blokörü L-NAME (10^{-4} M) ile 20 dk inkübe edildikten sonra submaksimal konsantrasyonda Phe (10^{-7} M) ile ön-kasılma oluşturuldu. Kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan Ach (10^{-10} - 10^{-5} M) ile konsantrasyon yanıt eğrileri elde edildi.

3.5.5. Endotel Bağımlı Gevşemelerde Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Rolü

Ach ile oluşan endotel bağımlı gevşemelerde, Süperoksit anyonu ve hidrojen peroksitin (H_2O_2) rolünü belirlemek için deney gruplarından elde edilen izole mezenterik arter halkaları, serbest oksidan radikal süpürücüler; SOD (50 U/ml) ve katalaz (200 U/ml) ile 20'şer dk inkübe edildikten sonra, submaksimal konsantrasyonda Phe (10^{-7} M) ile ön-kasılma oluşturuldu. Kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan Ach (10^{-10} - 10^{-5} M) ile oluşan gevşeme yanıtları kaydedildi.

3.5.6. Endotel Bağımlı Gevşemelerde Siklooksijenaz Ürünlerinin Rolü

Vasküler dokular Siklooksijenaz inhibitörü indometazin (10^{-5} M) ile 20 dk inkübe edildikten sonra, submaksimal konsantrasyonda Phe (10^{-7} M) ile ön-kasılma oluşturuldu. Kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan Ach (10^{-10} - 10^{-5} M) ile oluşan gevşeme yanıtları incelendi.

3.5.7. Endotel Bağımlı Gevşemelerde Potasyum Kanallarının Rolü

Deney gruplarında Ach ile oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında ATP-duyarlı (K_{ATP}), voltaja-duyarlı (K_V), büyük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen (BK_{Ca}) ve küçük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen (SK_{Ca}) potasyum kanallarının rollerini incelemek için, izole mezenterik arterler sırasıyla bu kanalların selektif blokörleri olan glibenklamid (10^{-5} M) ile 30 dk, 4-Aminopridin (5 mM) ile 10 dk, karibdotoksin (10^{-7} M) ile 30 dk ve apamin (10^{-7} M) ile 30 dk inkübe edildikten sonra, submaksimal konsantrasyonda Phe (10^{-7} M) ile ön-kasılma oluşturuldu. Kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan Ach (10^{-10} - 10^{-5} M) ile oluşan gevşeme yanıtları kaydedildi.

3.5.8. Endotel Bağımlı Gevşemelerde Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktörün (EDHF) Rolü

Ach ile oluşan gevşeme yanıtlarında EDHF rolünü araştırmak için, 30 mM KCl içeren Krebs solüsyonu ile kasılma yanıtları oluşturulan izole mezenterik arter preparatlarında, kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach'a gevşeme yanıtları 20 dk süre ile L-NAME (10^{-4} M) + indometazin (10^{-5} M) kombinasyonu ile inkübasyon sonrasında incelendi.

Bu şekilde asetilkoline endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında NO, süperoksit, hidrojen peroksit, siklooksijenaz ürünleri, farklı potasyum kanalları ve EDHF'nin rolleri değerlendirildi.

Her deney sonrasında tel myograf sistemi asetik asit ile temizlendi ve bir sonraki deney için hazır hale getirildi. Her deneye başlamadan önce tel myograf sisteminin kalibrasyonu yapıldı ve deney için uygun koşullar sağlandı.

Deneyde kullanılan mezenterik arter halkalarına Tablo 3.3'te gösterilen protokol uygulandı.

Tablo.3.3. Deney protokolü basamakları

Basamaklar	Endoteli Sağlam	Endoteli Zedeli
Kümülatif (10^{-11} - 10^{-8} M) ET-1	+	+
Kümülatif (10^{-9} - 10^{-6} M) Ang II	+	+
Kümülatif (10^{-8} - 10^{-5} M) NA	+	+
30 mM KCl içeren Krebs	+	+
60 mM KCl içeren Krebs	+	+
100 mM KCl içeren Krebs	+	+
10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach	+	+
10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) SNP	+	+
10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Bradikinin	+	+
10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-9} - 10^{-4} M) Histamin	+	+
20 dk 10^{-4} M L-NAME ink. + 10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach	+	-
20 dk 10^{-5} M İndometazin ink. + 10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach	+	-
30 dk 10^{-5} M Glibenklamid ink. + 10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach	+	-
10 dk 5 mM 4-AP ink. + 10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach	+	-
30 dk 10^{-7} M Karibdotoksin ink. + 10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach	+	-
30 dk 10^{-7} M Apamin ink. + 10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach	+	-
20 dk 50 U/ml SOD ink. + 10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach	+	-
20 dk 200 U/ml Katalaz ink. + 10^{-7} M Phe ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach	+	-
20 dk L-NAME + İndometazin ink. + 30 mM KCL Krebs ile ön-kasılma + Kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach	+	-

3.6. Oksidan/Antioksidan Statü Parametreleri için Biyokimyasal Ölçümler

Biyokimyasal ölçümler Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirildi. Lokal (izole mezenterik rezistans arter) ve sistemik (serum) oksidan/antioksidan statü tespiti için sakrifikasyon sırasında abdominal aorttan alınan kan ve izole mezenterik rezistans arter doku örneklerinde Total Oksidan Statü (TOS) (Erel, 2005) ve Total Antioksidan Statü (TAS) (Erel, 2004) düzeyleri Erel tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntemlerle Siemens Viva-E analizöründe gerçekleştirildi. Sakrifikasyon sırasında abdominal aorttan alınan kan örnekleri tüplere toplandı ve $1500 \times g$ 'de 10 dk santrifüj işleminden sonra serum bölümü alındı. Örnekler çalışılacakları güne kadar -80°C saklandı. Mezenterik vasküler yatak örneklerinden ise mezenterik arterler ve perivasküler yağ dokusu ayrılıp, çevre yağ ve bağ dokudan temizlendikten sonra serum fizyolojik ile yıkandı ve çalışılacakları güne kadar -80°C

saklandı. Çalışma gününde, doku örnekleri ¼ oranında pH 7.4 olan PBS buffer kullanılarak otomatik bir homojenizatörde homojenize edildi ve süpernatant kısımları ependorf tüplerde toplandı ve analiz edildi. Doku TAS, TOS düzeyleri, Lowry yöntemi (Lowry et al., 1951) ile ölçülüp doku protein düzeylerine oranlanarak standardizasyon sağlandı.

3.7. İstatiksel Analiz

İzole damarlarda kasılma yanıtları 60 mM KCl ve gevşeme yanıtları submaksimal konsantrasyonda 10^{-7} M Phe ile oluşan gerilimin yüzdesi olarak verilmiştir. Sonuçların istatiksel analizi Graph-Pad programı ile yapıldı. Tüm değerler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Maksimal gevşeme yanıtlarının (E_{max}) %50 sini oluşturan agonist konsantrasyonları EC_{50} değerleri olarak belirlendi. Bu değerler logaritmik konsantrasyon-yanıt eğrilerinin doğrusal kısımlarının regresyon analizi ile belirlendi. Duyarlılık pD_2 ($-\log EC_{50}$) olarak ifade edildi. Sonuçların istatiksel analizi, uygunluğuna göre ANOVA veya Student t-testi kullanılarak yapıldı. ANOVA testi sonrası post-hoc karşılaştırma için Tukey's post-hoc testi uygulandı. $P < 0.05$ 'in altında bulunan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Diyabet gruplarında STZ ile deneysel diyabet oluşturuldu

Deney gruplarının STZ ve çözücü enjeksiyonları öncesinde belirlenen başlangıç vücut ağırlıkları ve kan glukoz düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu. Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında başlangıç kan glukozları sırasıyla 112 ± 9 , 105 ± 8 , 110 ± 15 ve 102 ± 12 mg/dl; vücut ağırlıkları ise yine sırasıyla 260 ± 11 , 267 ± 14 , 248 ± 5 ve 260 ± 9 g olarak ölçüldü. Diyabet indüksiyonu deney hayvanlarının vücut ağırlığı artışında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalmaya, kan glukoz düzeylerinde ise anlamlı bir artmaya neden oldu. 4 hafta süreli kronik Ang (1-7) tedavisi kontrol ve diyabetik hayvanların vücut ağırlığı artışı ve kan glukoz düzeylerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında sakrifikasyon öncesi ortalama kan glukoz (mg/dl) düzeyleri ve vücut ağırlıkları (g).

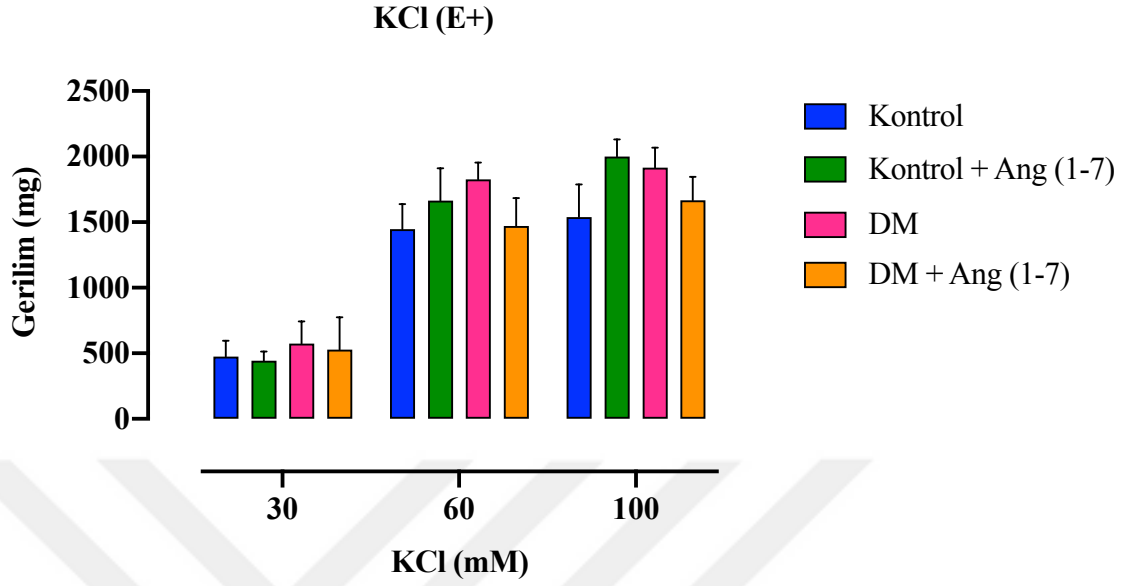
Gruplar	Kan Glukoz (mg/dl)	Vücut Ağırlığı (g)
Kontrol (n=8)	120 ± 5	340 ± 21
Kontrol + Ang (1-7) (n=9)	115 ± 8	325 ± 15
DM (n=7)	$410 \pm 10^*$	$183 \pm 16^*$
DM + Ang (1-7) (n=7)	$397 \pm 12^*$	$196 \pm 20^*$

*p<0.05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

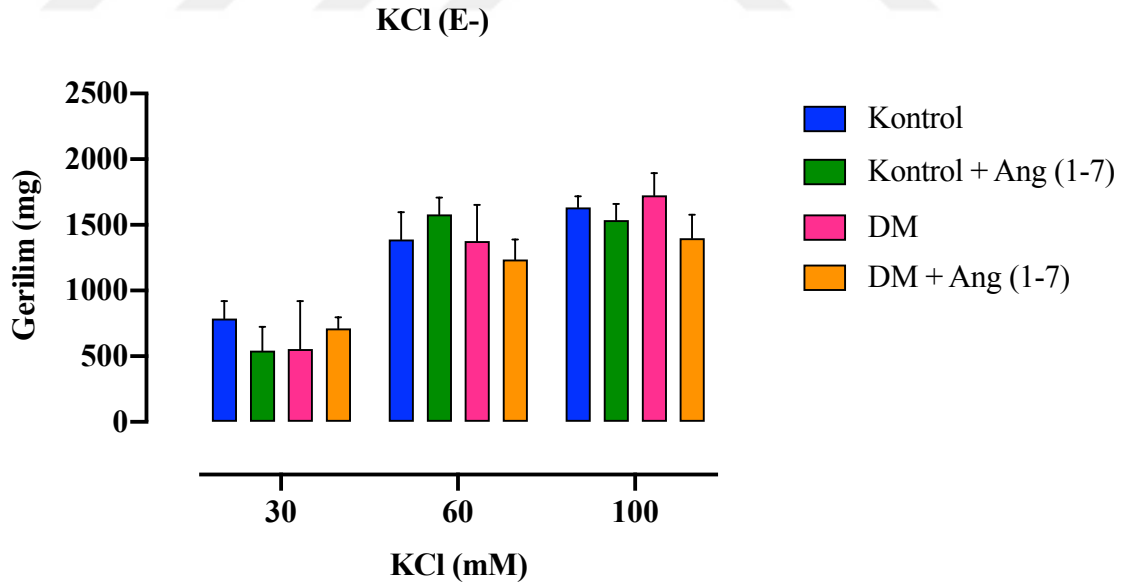
Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus

4.2. KCl İçeren Krebs Solüsyonu ile Oluşan Vasküler Kasılma Yanıtları

Tüm deney gruplarında, endoteli sağlam (E+) ve zedeli (E-) izole mezenterik arter halkalarına farklı konsantrasyonlarda (30, 60 ve 100 mM) KCl içeren Krebs solüsyonu uygulaması ile kasılma yanıtları oluşmuştur. Deney gruplarının farklı konsantrasyonlarda KCl içeren Krebs solüsyonu ile oluşan kasılma yanıtları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.1, Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında 30, 60 ve 100 mM KCl içeren Krebs solüsyonu ile oluşan kasılma yanıtları. n = 6, 8, 8 ve 6, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, KCl: Potasyum klorür, mM: milimolar, mg: miligram.



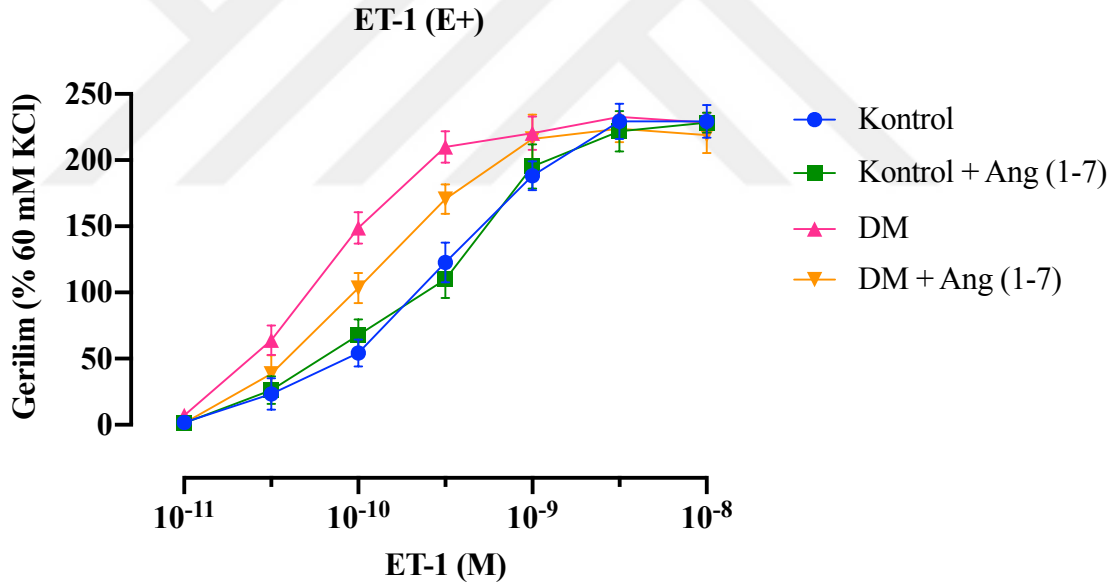
Şekil 4.2. Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında 30, 60 ve 100 mM KCl içeren Krebs solüsyonu ile oluşan kasılma yanıtları. n = 6, 9, 13 ve 10, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, KCl: Potasyum klorür, mM: milimolar, mg: miligram.

4.3. Vazokonstriktör Ajanlara Kasılma Yanıtları

4.3.1. Endotelin-1 (ET-1)

Dinlenme periyodu sonrası, tüm deney gruplarında, endoteli sağlam (E+) ve zedeli (E-) izole mezenterik arter halkalarına vazokonstriktör ajan ET-1 kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-11} - 10^{-8} M) uygulanmıştır.

Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında ET-1'e maksimal kasılma yanıtları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Diyabetik grupların (DM ve DM + Ang (1-7)) ET-1'e duyarlılıklarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. Ang (1-7) tedavisi uygulanan DM grubunun ET-1'e duyarlılığı tedavi uygulanmayan DM grubundan anlamlı olarak düşük bulunmuştur (Şekil 4.3, Tablo 4.2).



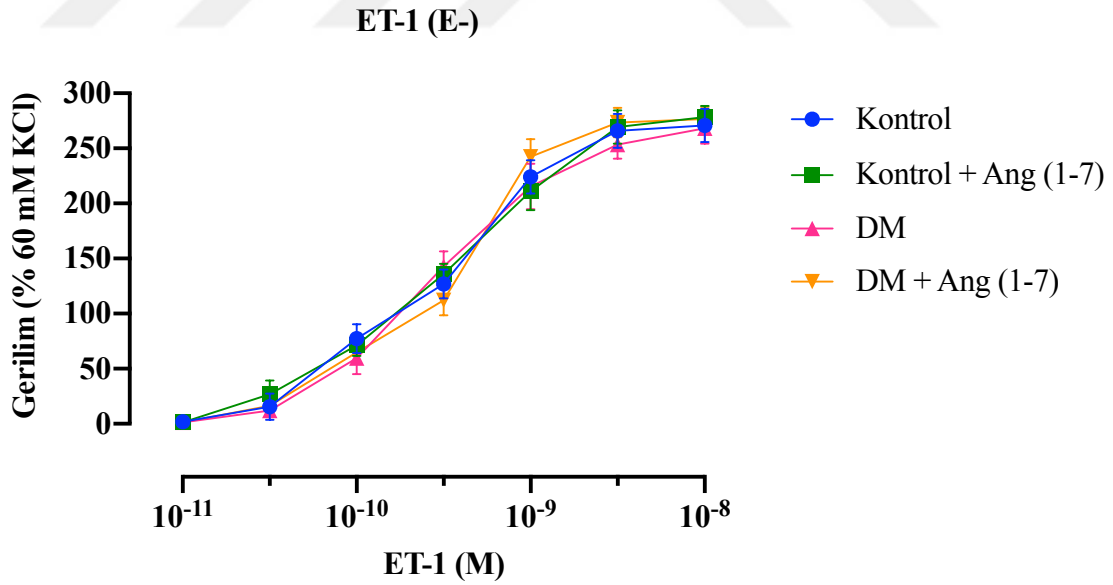
Şekil 4.3. Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-11} - 10^{-8} M) uygulanan ET-1 ile oluşan kasılma yanıtları. Sonuçlar 60 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir. n = 9, 8, 7 ve 7, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. ET-1: Endotelin-1, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, KCl: Potasyum klorür, M: Molar, mM: milimolar.

Tablo 4.2. Deney gruplarında endoteli sağlam (E+) ve endoteli zedeli (E-) izole mezenterik arter halkalarında kümülatif olarak uygulanan ET-1 ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrilerinde pD₂ (-Log EC₅₀) ve maksimum kasılma (E_{max}) değerleri. ET-1: Endotelin-1, DM: Diabetes Mellitus.

	pD ₂		E _{max}	
	E+	E-	E+	E-
Kontrol	9,527 ± 0,031	9,508 ± 0,036	238,9 ± 4,6	285,6 ± 6,7
Kontrol + Ang (1-7)	9,530 ± 0,047	9,468 ± 0,037	240,1 ± 7,0	288,0 ± 7,6
DM	10,25 ± 0,036*	9,529 ± 0,032	230,4 ± 2,5	272,2 ± 5,4
DM + Ang (1-7)	9,981 ± 0,042*#	9,480 ± 0,032	225,9 ± 3,9	285,8 ± 6,1

*: p< 0.001 vs. kontrol, #: p< 0.001 vs. DM, DM: Diabetes Mellitus.

Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında ET-1'e maksimal kasılma yanıtları ve duyarlılık açısından gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 4.4, Tablo 4.2).

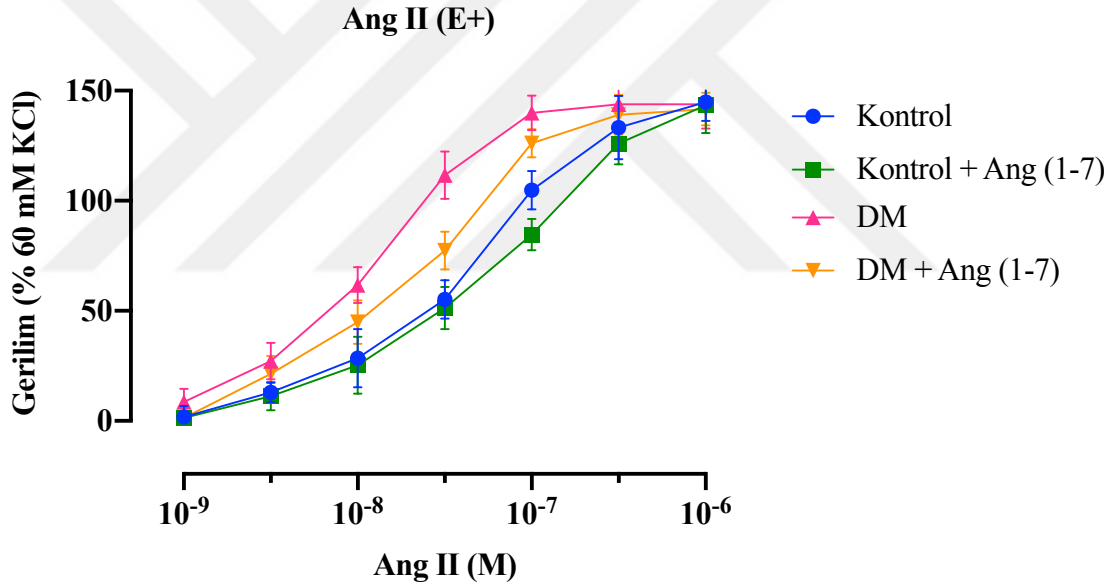


Şekil 4.4. Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10⁻¹¹ - 10⁻⁸ M) uygulanan ET-1 ile oluşan kasılma yanıtları. Sonuçlar 60 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir. n = 9, 9, 7 ve 8, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. ET-1: Endotelin-1, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, KCl: Potasyum klorür, M: Molar, mM: milimolar.

4.3.2. Anjiyotensin II (Ang II)

Dinlenme periyodu sonrası, tüm deney gruplarında, endoteli sağlam (E+) ve zedeli (E-) izole mezenterik arter halkalarına vazokonstriktör ajan Ang II kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanmıştır.

Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında Ang II'ye maksimal kasılma yanıtları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Diyabetik grupların (DM ve DM + Ang (1-7)) Ang II'ye duyarlılıklarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. Ang (1-7) tedavisi uygulanan DM grubunun Ang II'ye duyarlılığı tedavi uygulanmayan DM grubundan anlamlı olarak düşük bulunmuştur (Şekil 4.5, Tablo 4.3).



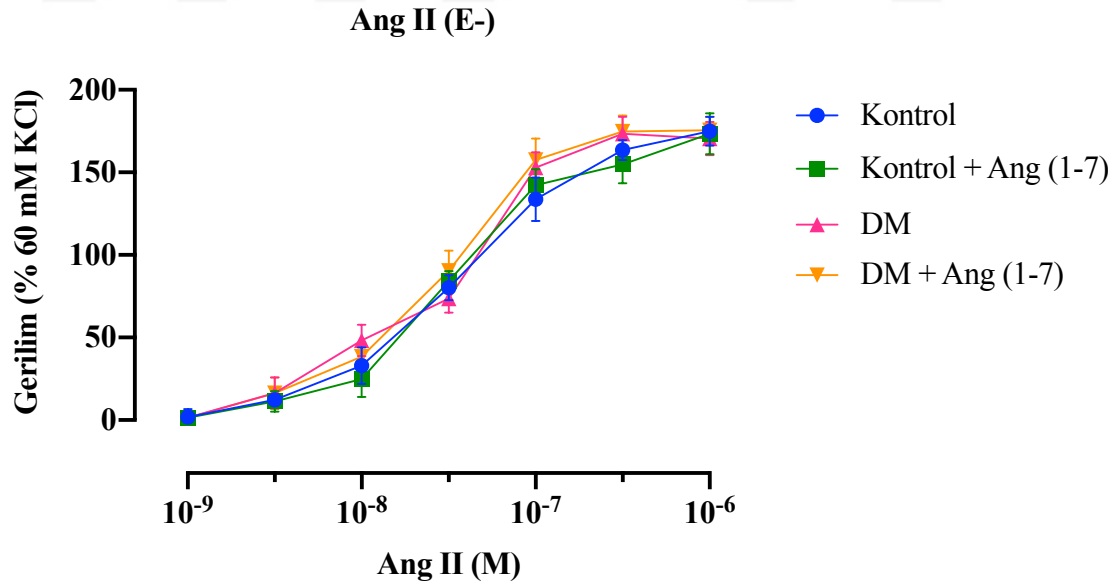
Şekil 4.5. Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan Ang II ile oluşan kasılma yanıtları. Sonuçlar 60 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir. n = 9, 7, 7 ve 8, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang II: Anjiyotensin II, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, KCl: Potasyum klorür, M: Molar, mM: milimolar.

Tablo 4.3. Deney gruplarında endoteli sağlam (E+) ve endoteli zedeli (E-) izole mezenterik arter halkalarında kümülatif olarak uygulanan Ang II ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrilerinde pD₂ (-Log EC₅₀) ve maksimum kasılma (E_{max}) değerleri. DM: Diabetes Mellitus, Ang II: Anjiyotensin II.

	pD ₂		E _{max}	
	E+	E-	E+	E-
Kontrol	7,291 ± 0,04	7,415 ± 0,03	153,7 ± 3,23	183,2 ± 2,29
Kontrol + Ang (1-7)	7,128 ± 0,05	7,474 ± 0,04	153,2 ± 4,07	179,3 ± 3,47
DM	7,931 ± 0,05*	7,478 ± 0,05	150,3 ± 2,51	185,8 ± 4,15
DM + Ang (1-7)	7,623 ± 0,05*#	7,540 ± 0,05	148,4 ± 2,66	188,8 ± 3,80

*: p< 0.001 vs. kontrol, #: p< 0.001 vs. DM, DM: Diabetes Mellitus.

Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında Ang II'ye maksimal kasılma yanıtları ve duyarlılık açısından gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 4.6, Tablo 4.3).

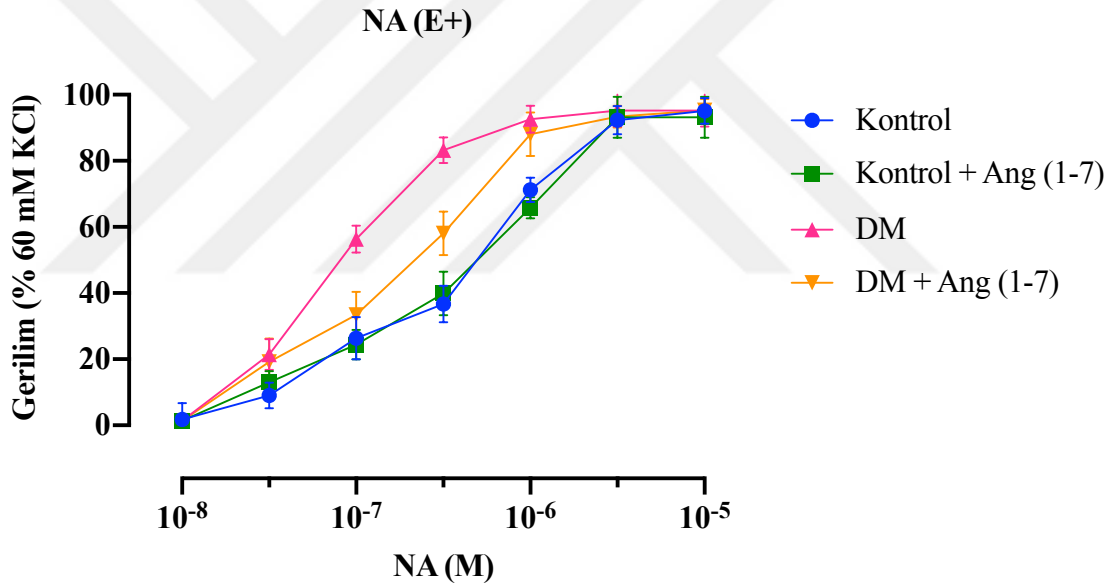


Şekil 4.6. Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-6} M) uygulanan Ang II ile oluşan kasılma yanıtları. Sonuçlar 60 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir. n = 9, 7, 8 ve 7, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang II: Anjiyotensin II, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, KCl: Potasyum klorür, M: Molar, mM: milimolar.

4.3.3. Noradrenalin (NA)

Dinlenme periyodu sonrası, tüm deney gruplarında, endoteli sağlam (E+) ve zedeli (E-) izole mezenterik arter halkalarına vazokonstriktör ajan NA kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-8} - 10^{-5} M) uygulanmıştır.

Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında NA'ya maksimal kasılma yanıtları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Diyabetik grupların (DM ve DM + Ang (1-7)) NA'ya duyarlılıklarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. Ang (1-7) tedavisi uygulanan DM grubunun NA'ya duyarlılığı tedavi uygulanmayan DM grubundan anlamlı olarak düşük bulunmuştur (Şekil 4.7, Tablo 4.4).



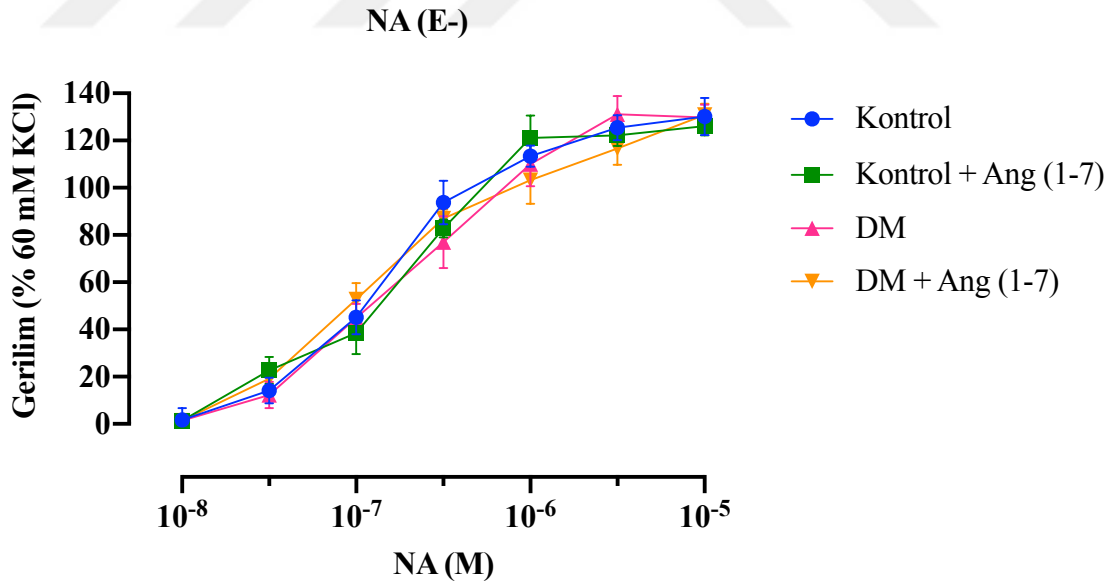
Şekil 4.7. Endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-8} - 10^{-5} M) uygulanan NA ile oluşan kasılma yanıtları. Sonuçlar 60 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir. n = 10, 8, 8 ve 7, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. NA: Noradrenalin, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, KCl: Potasyum klorür, M: Molar, mM: milimolar.

Tablo 4.4. Deney gruplarında endoteli sağlam (E+) ve endoteli zedeli (E-) izole mezenterik arter halkalarında kümülatif olarak uygulanan NA ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrilerinde pD_2 (-Log EC_{50}) ve maksimum kasılma (E_{max}) değerleri. NA: Noradrenalin, DM: Diabetes Mellitus.

	pD_2		E_{max}	
	E+	E-	E+	E-
Kontrol	$6,327 \pm 0,042$	$6,820 \pm 0,031$	$102,0 \pm 2,0$	$128,9 \pm 2,9$
Kontrol + Ang (1-7)	$6,309 \pm 0,050$	$6,709 \pm 0,036$	$100,6 \pm 2,3$	$128,0 \pm 3,4$
DM	$7,245 \pm 0,037^*$	$6,794 \pm 0,047$	$97,88 \pm 1,0$	$136,5 \pm 3,5$
DM + Ang (1-7)	$6,724 \pm 0,050^{* \#}$	$6,878 \pm 0,089$	$99,03 \pm 1,8$	$134,3 \pm 4,4$

*: $p < 0.001$ vs. kontrol, #: $p < 0.001$ vs. DM, DM: Diabetes Mellitus.

Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında NA'ya maksimal kasılma yanıtları ve duyarlılık açısından gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 4.8, Tablo 4.4).



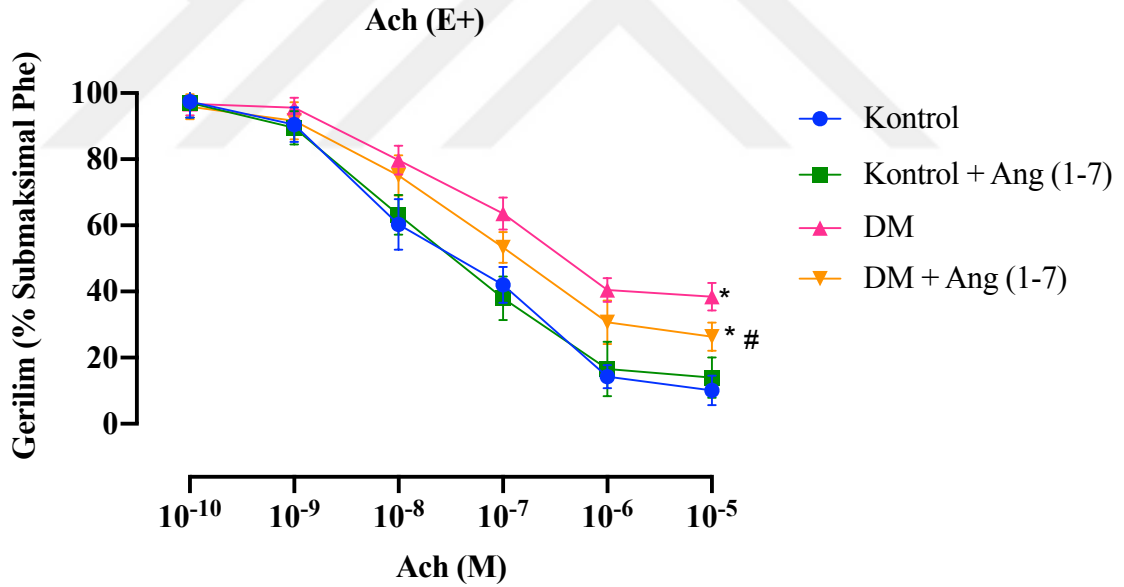
Şekil 4.8. Endoteli zedeli (E-) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-8} - 10^{-5} M) uygulanan NA ile oluşan kasılma yanıtları. Sonuçlar 60 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir. n = 9, 7, 7 ve 8, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. NA: Noradrenalin, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, KCl: Potasyum klorür, M: Molar, mM: milimolar.

4.4. Vazodilatör Ajanlara Gevşeme Yanıtları

4.4.1. Asetilkolin (Ach)

Deney gruplarında submaksimal konsantrasyonda Phe (10^{-7} M) ile kasılma yanıtı elde edilen endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kasılma yanıtı plato düzeylere ulaştıktan sonra kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan (10^{-10} - 10^{-5} M) Ach ile oluşan gevşeme yanıtları incelenmiştir.

Diyabetik grupların (DM ve DM + Ang (1-7)) izole mezenterik arterlerinin Ach'a gevşeme yanıtlarının kontrol gruplarından (Kontrol ve Kontrol + Ang (1-7)) anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür. Kronik Ang (1-7) tedavisi uygulanan DM grubunda (DM + Ang (1-7)) Ach'a gevşeme yanıtları DM grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Şekil 4.9).

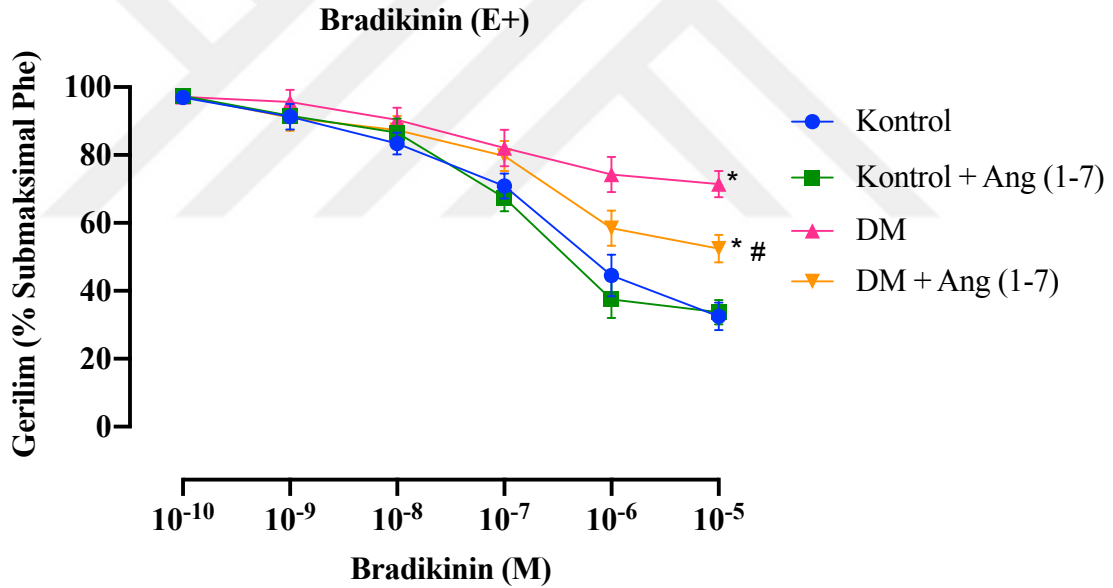


Şekil 4.9. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. *: $p < 0.05$, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, #: $p < 0.05$, DM grubu ile karşılaştırıldığında. $n = 15, 20, 18$ ve 12 , sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, Ach: Asetilkolin, M: Molar.

4.4.2. Bradikinin

Deney gruplarında submaksimal konsantrasyonda Phe (10^{-7} M) ile kasılma yanıtı elde edilen endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kasılma yanıtı plato düzeylere ulaştıktan sonra kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan (10^{-10} - 10^{-5} M) bradikinin ile oluşan gevşeme yanıtları incelenmiştir.

Diyabetik grupların (DM ve DM + Ang (1-7)) izole mezenterik arterlerinin bradikinine gevşeme yanıtları kontrol gruplarından (Kontrol ve Kontrol + Ang (1-7)) anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Kronik Ang (1-7) tedavisi uygulanan DM grubunda (DM + Ang (1-7)) bradikinine gevşeme yanıtları DM grubuna göre anlamlı bir artma göstermiştir (Şekil 4.10).



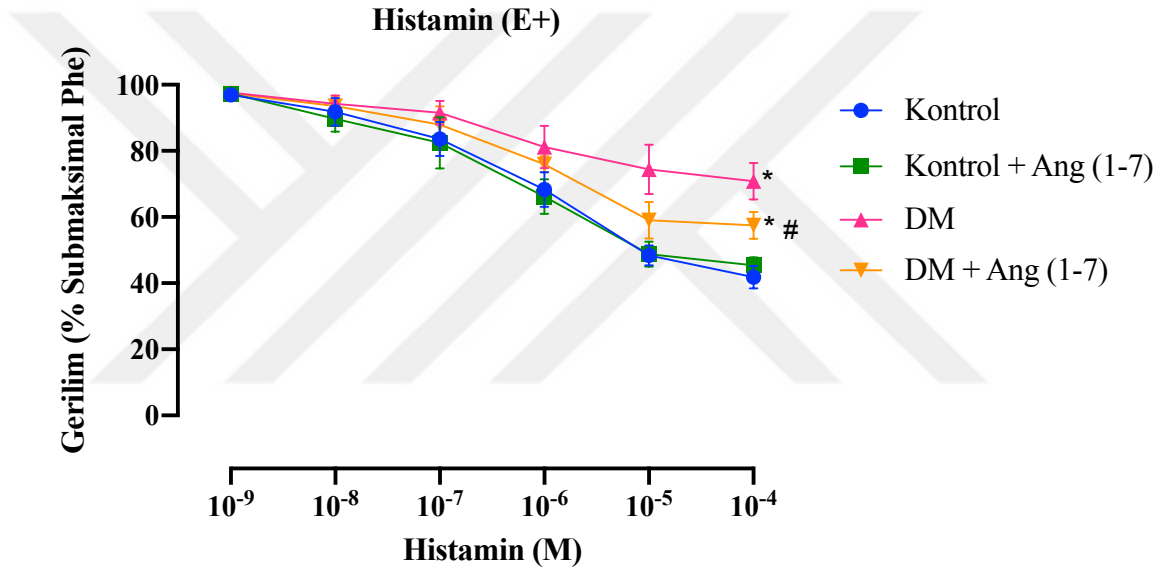
Şekil 4.10. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan bradikinin ile oluşan gevşeme yanıtları. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. *: $p < 0.05$, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, #: $p < 0.05$, DM grubu ile karşılaştırıldığında. $n = 6, 8, 6$ ve 6 , sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, M: Molar.

4.4.3. Histamin

Deney gruplarında submaksimal konsantrasyonda Phe (10^{-7} M) ile kasılma yanıtı elde edilen endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kasılma yanıtı plato düzeylere

ulaştıktan sonra kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan (10^{-9} - 10^{-4} M) histamin ile oluşan gevşeme yanıtları incelenmiştir.

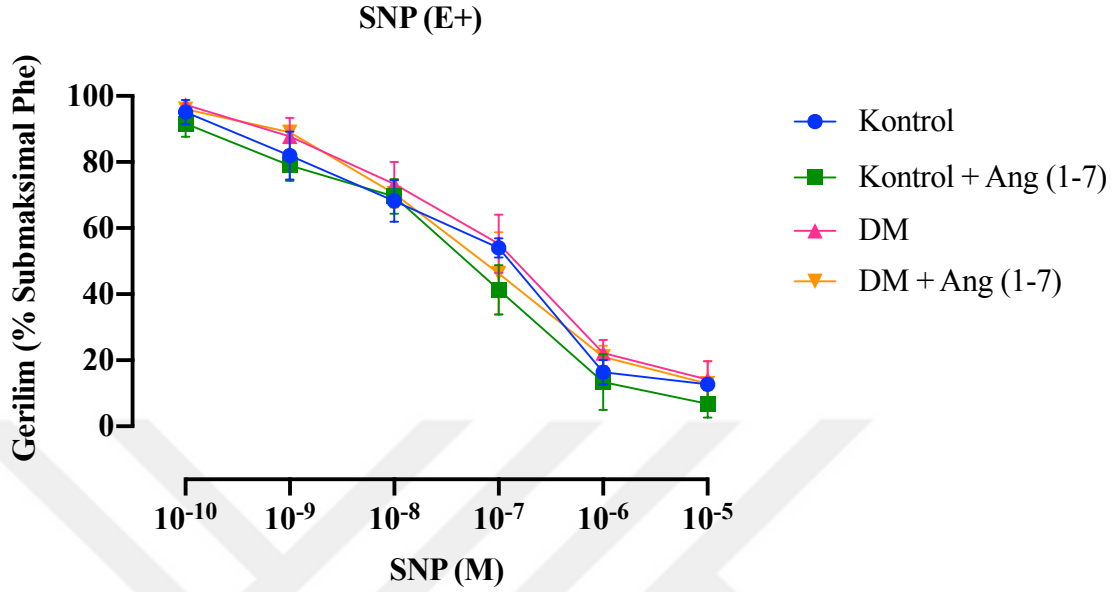
Diyabetik grupların (DM ve DM + Ang (1-7)) izole mezenterik arterlerinin histamine gevşeme yanıtları kontrol gruplarından (Kontrol ve Kontrol + Ang (1-7)) anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Kronik Ang (1-7) tedavisi uygulanan DM grubunda (DM + Ang (1-7)) histamine gevşeme yanıtları DM grubuna göre anlamlı bir artma göstermiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-9} - 10^{-4} M) uygulanan histamin ile oluşan gevşeme yanıtları. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. *: $p < 0.05$, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, #: $p < 0.05$, DM grubu ile karşılaştırıldığında. $n = 8, 8, 6$ ve 6 , sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, M: Molar.

4.4.4. Sodyum Nitroprussid (SNP)

Deney gruplarında submaksimal konsantrasyonda Phe (10^{-7} M) ile kasılma yanıtı elde edilen endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kasılma yanıtı plato düzeylere ulaştıktan sonra kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan (10^{-10} - 10^{-5} M) SNP ile oluşan gevşeme yanıtları incelenmiştir. İzole mezenterik arter halkalarının SNP'ye gevşeme yanıtlarında deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.12).

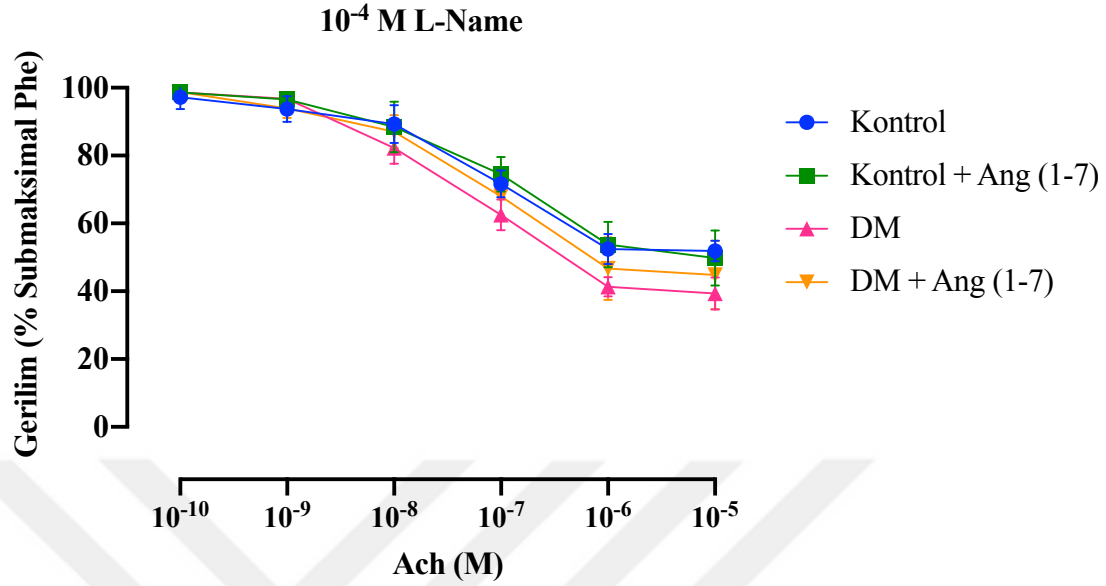


Şekil 4.12. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan SNP ile oluşan gevşeme yanıtları. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. n = 6, 8, 6 ve 8, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. SNP: Sodyum Nitroprussid, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, M: Molar.

4.5. İnhibitörler Varlığında Asetilkoline (Ach) Vasküler Yanıtlar

4.5.1. N^o-Nitro-L-Arginin Metil Ester (L-NAME)

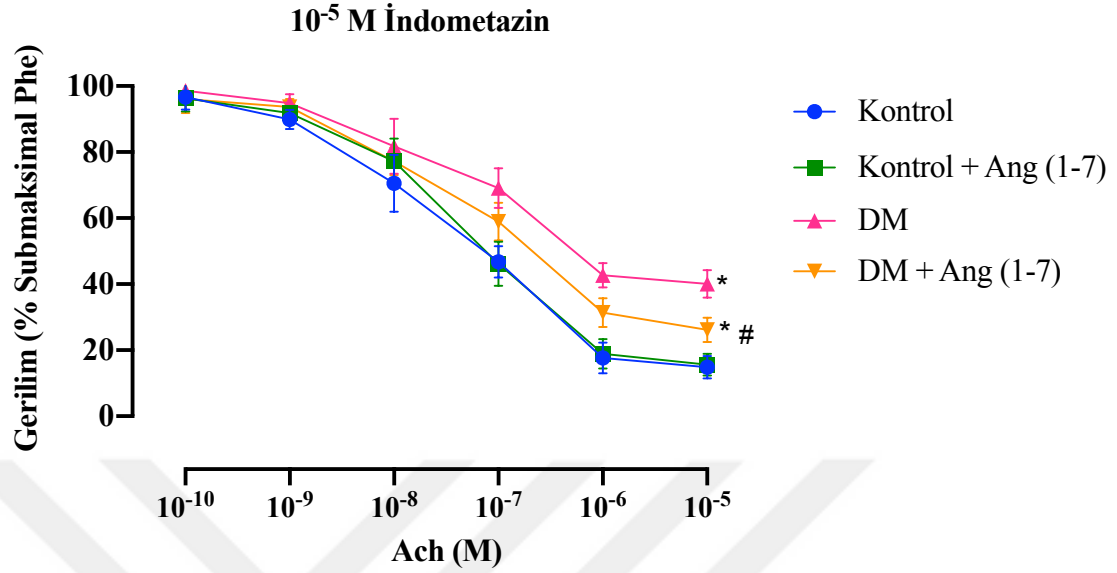
Yapısal ve indüklenabilir NOS izoformlarının blokörü L-NAME (10^{-4} M) ile 20 dk inkübasyon, DM grubunun Ach'a gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Kontrol, Kontrol + Ang (1-7) ve DM + Ang (1-7) gruplarının vasküler gevşeme yanıtlarında L-NAME inkübasyonu sonrasında anlamlı azalmalar meydana gelmiş, tüm grupların Ach'a gevşeme yanıtlarının benzer düzeyde olduğu görülmüştür (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10^{-4} M L-NAME ile 20 dk inkübasyonun etkisi. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. n = 6, 9, 9 ve 6, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. L-NAME: N^ω-Nitro-L-Arginin Metil Ester, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, Ach: Asetilkolin, M: Molar.

4.5.2. İndometazin

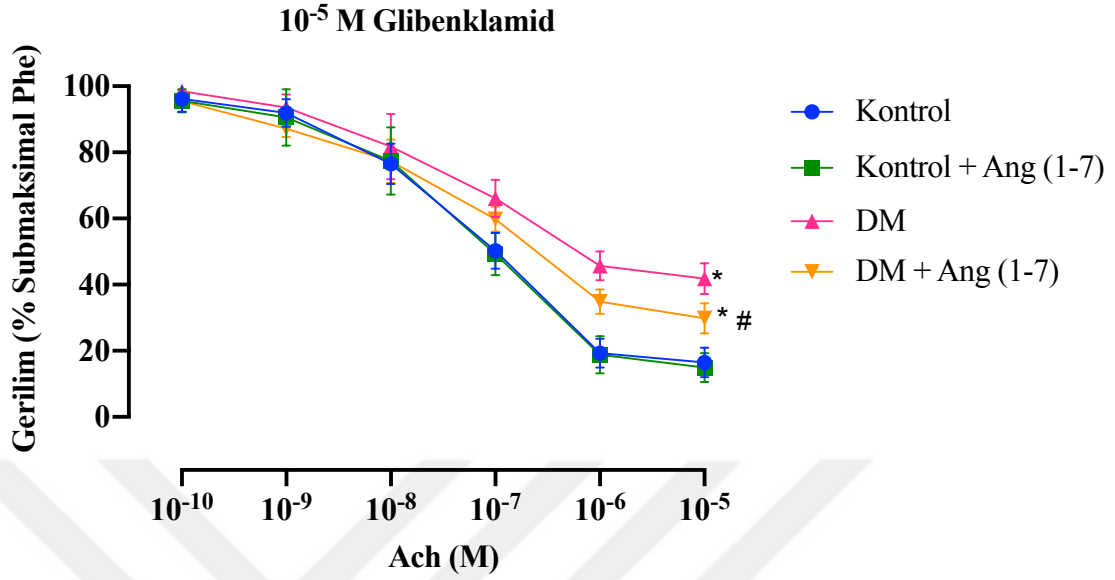
Siklooksijenaz inhibitörü 10^{-5} M indometazin ile 20 dk inkübasyon sonrası, submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında, kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach'a gevşeme yanıtlarının tüm deney gruplarında indometazin inkübasyonu olmaksızın elde edilen gevşeme yanıtları ile oldukça benzer olduğu, indometazinin kontrol ve diyabetik hayvanlardan elde edilen izole mezenterik arterlerin Ach'a gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Submaksimal konsantrasyonda (10⁻⁷ M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10⁻¹⁰-10⁻⁵ M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10⁻⁵ M indometazin ile 20 dk inkübasyonun etkisi. Sonuçlar submaksimal Phe (10⁻⁷ M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. *: p<0.05, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, #: p<0.05, DM grubu ile karşılaştırıldığında. n = 9, 9, 9 ve 6, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, Ach: Asetilkolin, M: Molar.

4.5.3. Glibenklamid

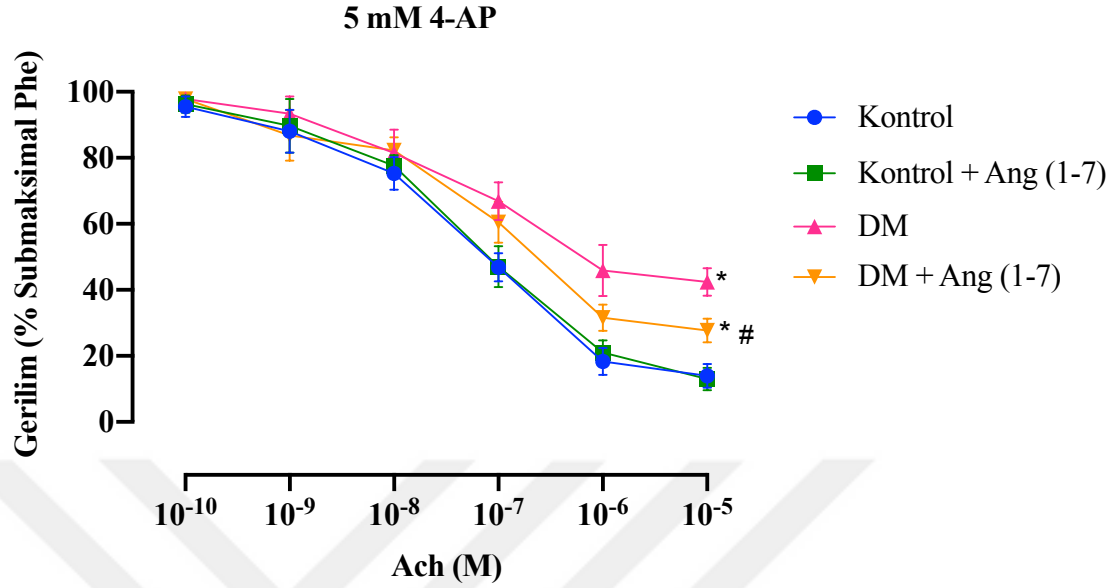
ATP-duyarlı potasyum (K_{ATP}) kanal blokörü glibenklamid (10⁻⁵ M) ile 30 dk inkübasyon sonrası, submaksimal konsantrasyonda (10⁻⁷ M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında, kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda (10⁻¹⁰ - 10⁻⁵ M) uygulanan Ach'a gevşeme yanıtlarının tüm deney gruplarında glibenklamid inkübasyonu olmaksızın elde edilen gevşeme yanıtlarına benzer olduğu, kontrol ve diyabetik hayvanlardan elde edilen izole mezenterik arterlerin Ach'a gevşeme yanıtlarının glibenklamid inkübasyonu ile anlamlı bir şekilde değişmediği saptanmıştır (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Submaksimal konsantrasyonda (10⁻⁷ M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10⁻¹⁰ - 10⁻⁵ M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10⁻⁵ M glibenklamid ile 30 dk inkübasyonun etkisi. Sonuçlar submaksimal Phe (10⁻⁷ M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. *: p<0.05, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, #: p<0.05, DM grubu ile karşılaştırıldığında. n = 8, 9, 9 ve 6, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, Ach: Asetilkolin, M: Molar.

4.5.4. 4-Aminopridin (4-AP)

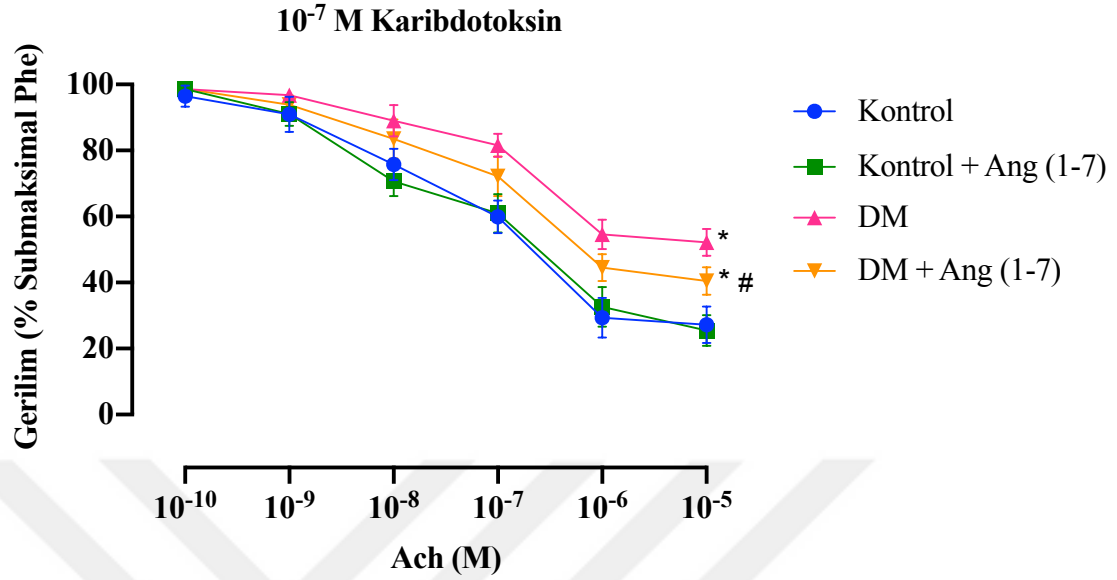
Voltaja-duyarlı potasyum (K_V) kanal blokörü 4-AP (5 mM) ile 10 dk inkübasyon sonrası, submaksimal konsantrasyonda (10⁻⁷ M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında, kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda (10⁻¹⁰ - 10⁻⁵ M) uygulanan Ach'ya konsantrasyon yanıt eğrilerinin, 4-AP inkübasyonu olmadan elde edilen yanıt eğrileri ile oldukça benzer olduğu, 4-AP inkübasyonunun deney gruplarında Ach'a gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı saptanmıştır (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 5 mM 4-AP ile 10 dk inkübasyonun etkisi. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. *: $p < 0.05$, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, #: $p < 0.05$, DM grubu ile karşılaştırıldığında. $n = 8, 6, 12$ ve 6 , sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. 4-AP: 4-Aminopridin, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, Ach: Asetilkolin, M: Molar, mM: milimolar.

4.5.5. Karibdotoksin

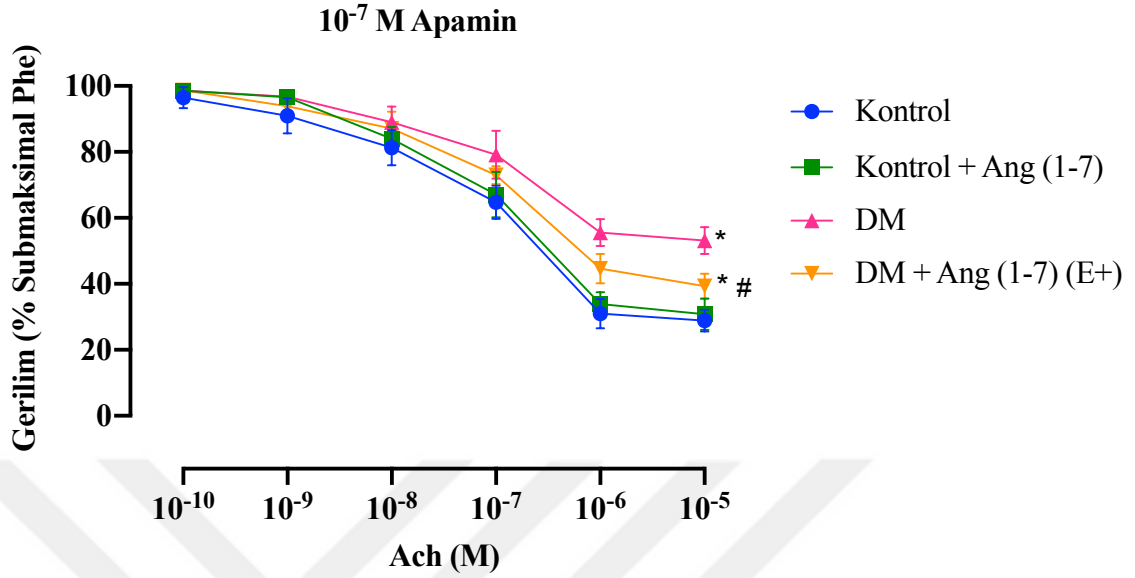
Büyük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum (BK_{Ca}) kanal blokörü (10^{-7} M) karibdotoksin ile 30 dk inkübasyon sonrası, submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında, kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach'ya konsantrasyon yanıt eğrilerinin, tüm gruplarda anlamlı olarak azaldığı, karibdotoksin inkübasyonu olmadan elde edilen yanıt eğrileri ile karşılaştırıldığında kontrol ve diyabetik gruplarda Ach'a gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmaların benzer düzeyde olduğu saptanmıştır (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10^{-7} M karibdotoksin ile 30 dk inkübasyonun etkisi. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. *: $p < 0.05$, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, #: $p < 0.05$, DM grubu ile karşılaştırıldığında. $n = 9, 9, 9$ ve 6 , sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, Ach: Asetilkolin, M: Molar.

4.5.6. Apamin

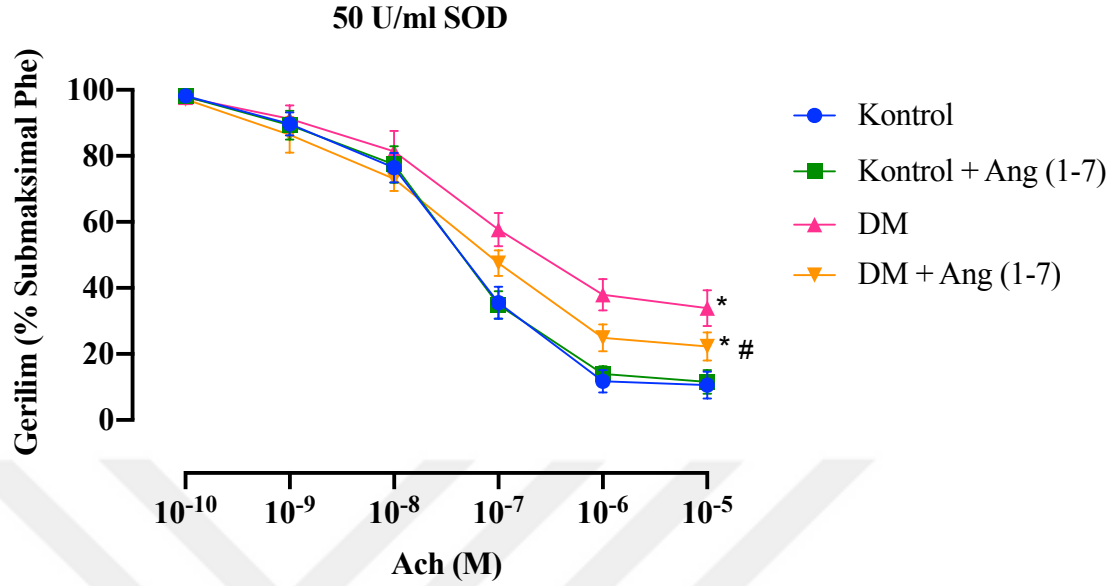
Küçük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum (SK_{Ca}) kanal blokörü (10^{-7} M) apamin ile 30 dk inkübasyon sonrası, submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında, kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach'ya konsantrasyon yanıt eğrilerinin, tüm gruplarda anlamlı olarak azaldığı, apamin inkübasyonu olmadan elde edilen yanıt eğrileri ile karşılaştırıldığında kontrol ve diyabetik gruplarda Ach'a gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmaların benzer düzeyde olduğu saptanmıştır (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10^{-7} M apamin ile 30 dk inkübasyonun etkisi. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. *: $p < 0.05$, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, #: $p < 0.05$, DM grubu ile karşılaştırıldığında. $n = 9, 9, 9$ ve 6 , sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, Ach: Asetilkolin, M: Molar.

4.5.7. Süperoksit Dismutaz (SOD)

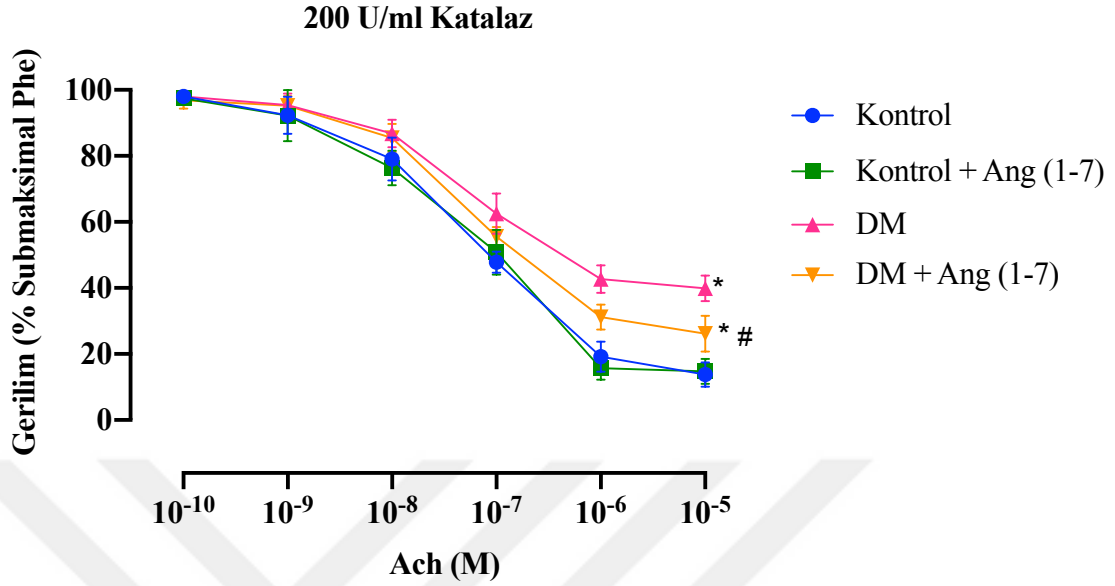
50 U/ml SOD ile 20 dk inkübasyon sonrası, submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında, kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach'a gevşeme yanıtlarının diyabetik gruplarda (DM ve DM +Ang (1-7)) anlamlı artmalar gösterdiği, kontrol gruplarında ise (Kontrol ve Kontrol + Ang (1-7)) SOD inkübasyonu olmaksızın elde edilen gevşeme yanıtlarıyla kıyaslandığında anlamlı bir değişiklik olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 50 U/ml SOD ile 20 dk inkübasyonun etkisi. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. *: $p < 0.05$, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, #: $p < 0.05$, DM grubu ile karşılaştırıldığında. $n = 6, 9, 6$ ve 6 , sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. SOD: Süperoksit dismutaz, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, Ach: Asetilkolin, M: Molar, U/ml: Ünite/mililitre.

4.5.8. Katalaz

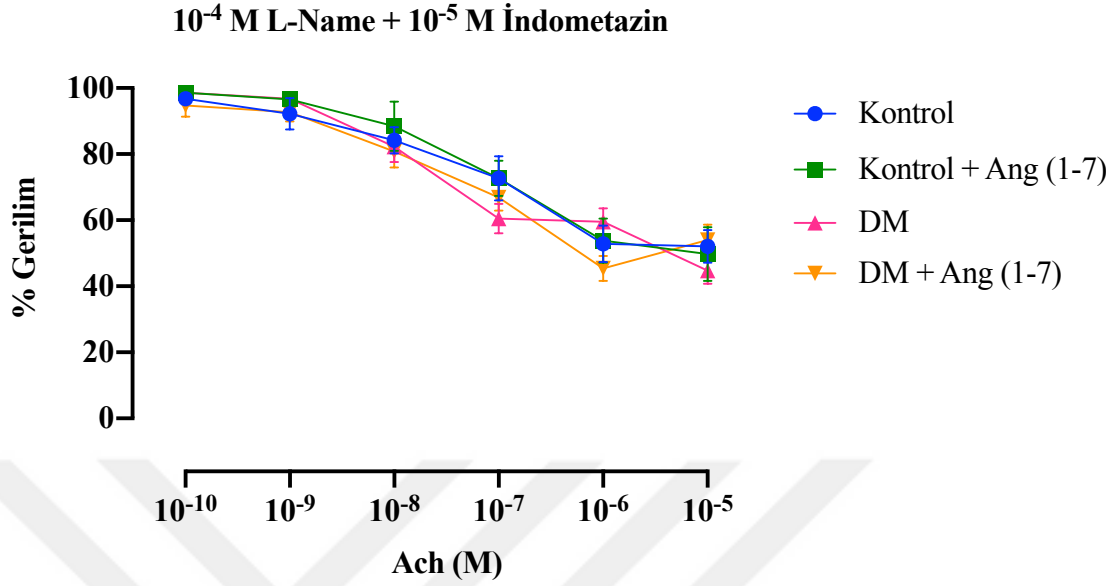
200 U/ml katalaz ile 20 dk inkübasyon sonrası, submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında, kasılma yanıtının platoya gelmesini takiben kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach'ya konsantrasyon yanıt eğrilerinin, katalaz inkübasyonu olmadan elde edilen yanıt eğrileri ile oldukça benzer olduğu, katalaz inkübasyonunun deney gruplarında Ach'a gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı saptanmıştır (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Submaksimal konsantrasyonda (10^{-7} M) Phe ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 200 U/ml katalaz ile 20 dk inkübasyonun etkisi. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. *: $p < 0.05$, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, #: $p < 0.05$, DM grubu ile karşılaştırıldığında. $n = 6, 9, 9$ ve 6 , sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, Ach: Asetilkolin, M: Molar, U/ml: Ünite/mililitre.

4.6. L-NAME ve İndometazin ile İnkübasyon Durumunda KCl Kontraksiyonları Üzerinde Ach'nın Gevşetici Etkisi

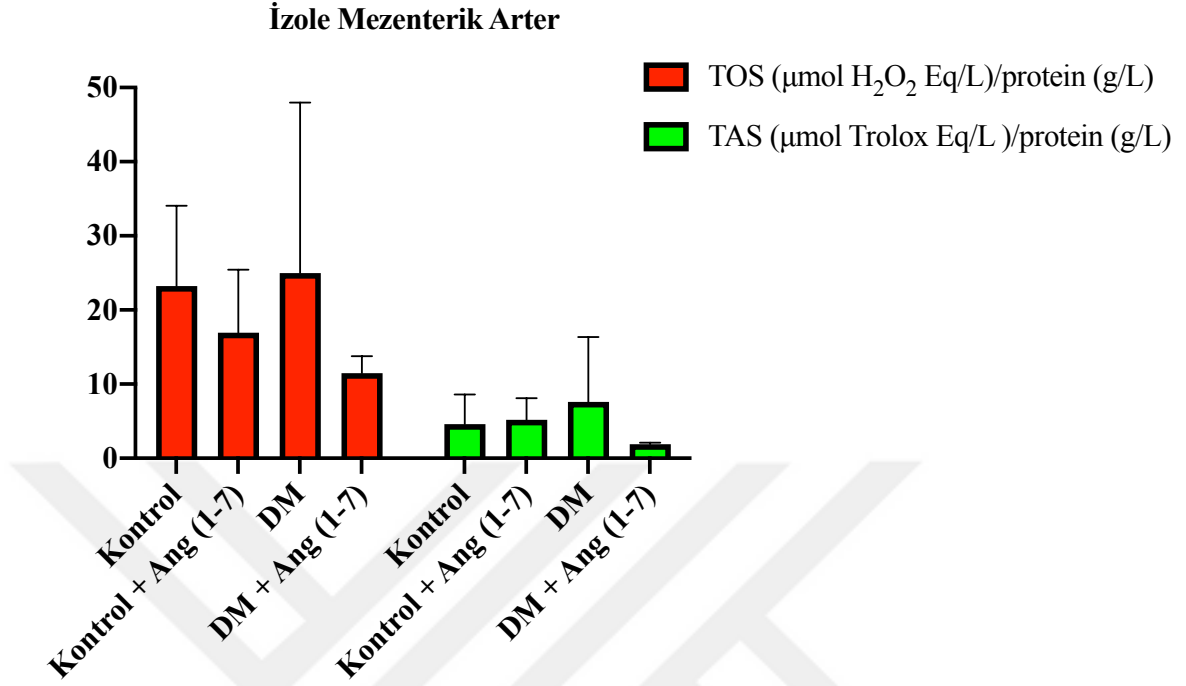
İzole mezenterik arterlerde (10^{-4} M) L-NAME ve (10^{-5} M) indometazin kombinasyonu ile 20 dk inkübasyon sonrasında, 30 mM KCl içeren Krebs solüsyonu ile oluşturulan kasılma yanıtları sonrasında vasküler preparatlara kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile elde edilen gevşeme yanıtlarının tüm deney gruplarında benzer düzeylerde oldukları, gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.21).



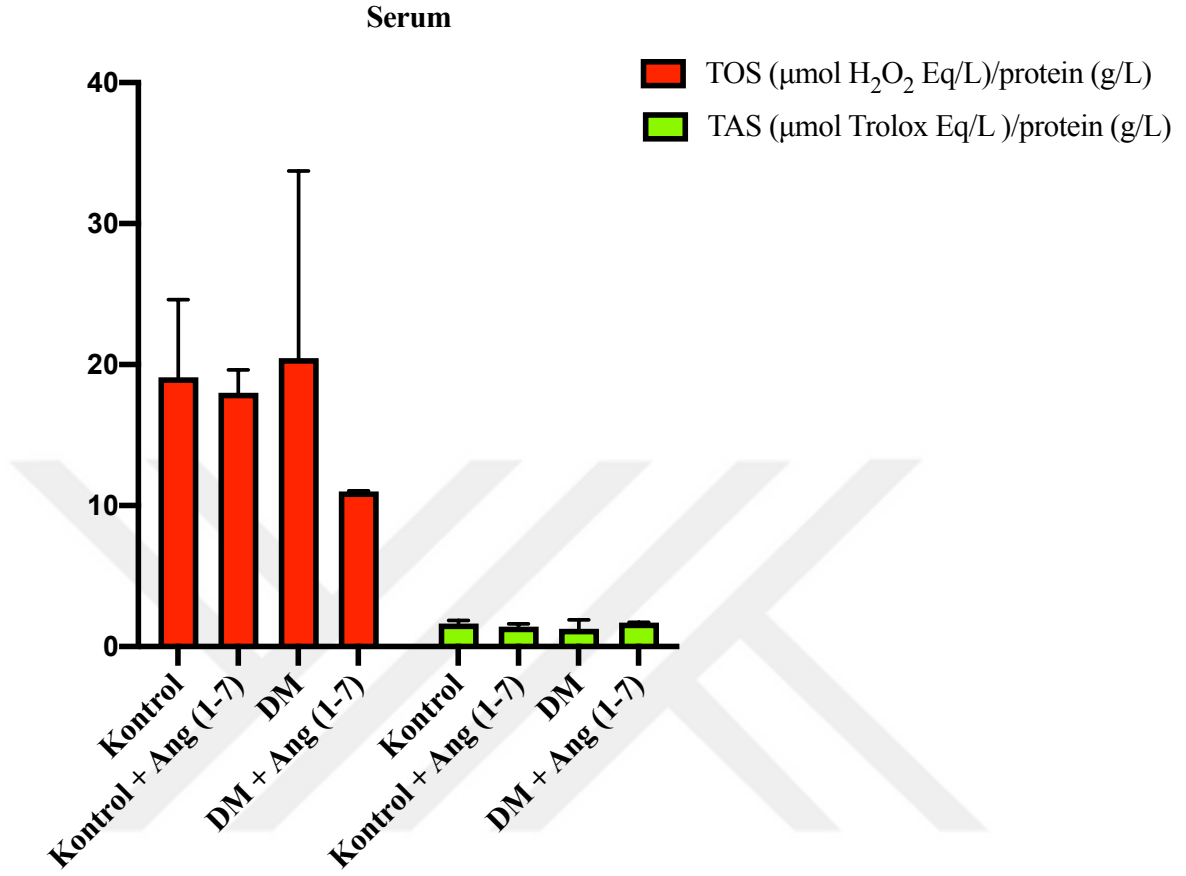
Şekil 4.21. 30 mM KCl içeren Krebs solüsyonu ile ön-kasılma oluşturulan endoteli sağlam (E+) mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulanan Ach ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde 10^{-4} M L-NAME ve 10^{-5} M indometazin ile 20 dk inkübasyonun etkisi. Sonuçlar submaksimal Phe (10^{-7} M) ile oluşan maksimum kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir. n = 9, 6, 6 ve 6, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında tüm konsantrasyonlar için. L-NAME: N^ω-Nitro-L-Arginin Metil Ester, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, Phe: Fenilefrin, Ach: Asetilkolin, M: Molar.

4.7. Deney Gruplarında Sistemik ve Lokal Oksidan Statü

Kontrol (Kontrol ve Kontrol + Ang (1-7)) ve diyabetik (DM ve DM + Ang (1-7)) hayvanlardan elde edilen serum (sistemik) ve izole mezenterik arter (lokal) örneklerinde yapılan ölçümlerde TOS ve TAS düzeylerinin benzer olduğu, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.22, Şekil 4.23).



Şekil 4.22. İzole mezenterik arter TOS ve TAS değerleri. n = 10, 7, 7 ve 6, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında, sırasıyla TOS ve TAS için. TOS: Total oksidan durum, TAS: Total antioksidan durum, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, μmol : mikromol, g/L: gram/litre, Eq/L: Ekvalean/litre.



Şekil 4.23. Serum TOS ve TAS değerleri. n = 10, 7, 7 ve 6, sırasıyla Kontrol, Kontrol + Ang (1-7), DM ve DM + Ang (1-7) gruplarında, sırasıyla TOS ve TAS için. TOS: Total oksidan durum, TAS: Total antioksidan durum, Ang (1-7): Anjiyotensin (1-7), DM: Diabetes Mellitus, μmol : mikromol, g/L: gram/litre, Eq/L: Ekvolan/litre.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda deney protokolünde belirlediğimiz şekilde gerçekleştirilen STZ uygulaması ile sıçanlarda başarılı bir şekilde diyabet oluşturulmuştur; STZ uygulanan sıçanların deney sürecinde kontrol grubundaki hayvanlara göre vücut ağırlığı artışlarının anlamlı olarak daha düşük olması ve kan şekerlerinde gözlenen oldukça anlamlı yükselmeler diyabet gruplarındaki hayvanlarda deneysel diyabetin başarılı bir şekilde oluşturulduğuna işaret eden bulgulardır (Tablo 4.1). Aynı gruplardaki hayvanlarda gözlenen poliüri, polidipsi ve diyare gibi sıklıkla diyabet ile ilişkilendirilen semptomların mevcudiyeti bu tespiti daha da desteklemektedir.

Her ne kadar noradrenerjik ajanların membran potansiyelinde değişiklik oluşturarak plazma membran potansiyelini değiştirebildikleri ve bunun sonucunda voltaja bağımlı kalsiyum kanallarını açarak ekstraselüler kalsiyumun hücre içine girişine izin verdikleri bilinmekte ise de, yüksek potasyum konsantrasyonları kullanılarak hücre membranının depolarizasyonu ile indüklenen düz kas kontraksiyonları temel olarak voltaj bağımlı kanallardan hücre içine kalsiyum akışı ile gerçekleşir (Himpens et al., 1995). Yüksek KCl konsantrasyonları ile ligandan bağımsız şekilde gerçekleşen bu vasküler kasılma yanıtları, çeşitli patolojik durumlarda vasküler reaktivitede gözlenen değişikliklerde ligand bağımlı ve ligand bağımsız mekanizmaların rolünü incelemek ve karşılaştırmak açısından önemlidir. Çalışmamızda deneysel diyabet oluşturulan hayvanlardan elde edilen izole vasküler dokularda yüksek KCl konsantrasyonları ile oluşturulan kasılma yanıtlarının kontrol grubundan elde edilen dokularda gözlenen yanıtlarla benzer olduğu görülmüş, her üç konsantrasyonda da gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.1). Damar endotelinin sağlam olup olmaması yüksek KCl konsantrasyonlarına farklı deney gruplarının kontraktıl yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 4.2). Bu bulgular, deneysel diyabette çeşitli endojen vazokonstriktör ajanlara izole rezistans arterlerin kasılma yanıtlarında gözlenen anlamlı değişikliklerin, ligand spesifik bir şekilde geliştiğine işaret etmektedir. Düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda KCl ile oluşturulan ligand bağımsız kasılma yanıtlarında deney grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemesi gerek deneysel diyabetin gerekse diyabetik ve kontrol hayvanlarda Ang (1-7) ile uzun süreli tedavinin, izole mezenterik arterlerin düz kaslarının kasılma

fonksiyonlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığını, dolayısıyla diyabet sürecinde, en azından izole rezistans arterlerde, vasküler düz kas fonksiyonları ile ilgili mekanizmalarının korunduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda deneysel diyabetin ve kronik Ang (1-7) tedavisinin izole rezistans arterlerin kan basıncının düzenlenmesi ile ilgili endojen vazokonstriktör ajanlar üzerinde etkisini belirlemek amacı ile endoteli sağlam ve zedeli mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda uygulanan ET-1, NA ve Ang II'ye kasılma yanıtları incelenmiş ve diyabetik hayvanlardan elde edilen endoteli sağlam rezistans damar halkalarının her 3 kasıcı ajana duyarlılığının kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek olduğu, endoteli zedeli halkaların duyarlılıkları açısından diyabetik ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır. Deney gruplarındaki hayvanların 4 hafta süre ile Ang (1-7) ile tedavisi, diyabetik hayvanların endoteli sağlam izole mezenterik arter halkalarında vazokonstriktör ajanlara duyarlılıkta gözlenen artmayı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde geri döndürmüş, endoteli zedeli halkalarda ise anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Kontrol grubunda ise Ang (1-7) tedavisi ile endoteli sağlam veya zedeli damarların incelenen vazokonstriktörlere duyarlılığında anlamlı bir değişiklik oluşmamıştır (Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Tablo 4.2, Tablo 4.3, Tablo 4.4). Bu bulgular Cipolla ve ark.'nın (1996) T2DM'li insanların rezistans arterlerinde bildirdikleri NA'nın kasıcı etkisine duyarlılık artışı ile uyumludur. Her ne kadar bizim çalışmamızda endoteli sağlam halkaların vazokonstriktör ajanlara yanıtları NOS blokörü L-NAME varlığında incelenmemişse de, Cipolla ve ark.'nın çalışmasında gerek endoteli sağlam rezistans halkaların L-NAME ile inkübasyonu, gerekse endotelin zedelenmesi durumunda diyabetik rezistans arterlerin NA duyarlılığındaki artmanın, bizim çalışmamızda endoteli zedeli izole mezenterik arter preparatlarında gözlediğimiz gibi, kaybolduğunu bildirmişlerdir (Cipolla et al., 1996). Diyabetik insanlardan elde edilen rezistans arterleri dışında, diyabetik hastalarda yapılan *in vivo* çalışmalarda (Beretta-Piccoli and Weidmann, 1981) ve deneysel diyabet oluşturulan hayvanlardan elde edilen izole vasküler preparatlarda da (Jackson and Carrier, 1981; Owen and Carrier, 1980; White and Carrier, 1988) bizim çalışmamızdaki bulgularla benzer şekilde adrenerjik agonistlere duyarlılıkta artma bildirilmiştir. Diğer taraftan çalışmamızda NA'ya ek olarak diyabetik hayvanların izole mezenterik arterlerinde diğer endojen kasıcılar olan ET-1 ve

Ang II'ye duyarlılıkta artma bulgusu, Benter ve ark.'nın (2007) STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların çeşitli vasküler preparatlarında gerçekleştirdiği çalışmada elde edilen bulgularla da desteklenmektedir; Benter ve ark.'nın çalışmasında diyabetik hayvanların mezenterik yataklarında belirli konsantrasyonlarda uygulanan NA ve ET-1'e, izole koroner arterlerinde ET-1 ve Ang-II'ye, izole renal arterlerinde ise NA, ET-1 ve Ang-II'ye kasılma yanıtlarının kontrole göre anlamlı olarak yüksek oldukları, Ang (1-7) tedavisinin diyabetik hayvanların vasküler preparatlarında vazokonstriktör ajanlara duyarlılıkta gözlenen artmayı geri döndürdüğü gösterilmiştir (Benter et al., 2007).

Diyabette vasküler reaktivitedeki değişikliklere aracılık eden mekanizmalar tam olarak bilinmemekle birlikte endotel fonksiyon bozukluğunun diyabetin ortak bir özelliği olduğu (Brunner et al., 2005; Feener and King, 2001), dolayısıyla diyabetik hayvanlarda vazokonstriktör ajanlara kasılma yanıtlarında gözlenen bozukluklarda bozulan NO sentezinin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Benter et al., 2007).

Çalışmamızda deneysel diyabetin izole rezistans arterlerin endotel bağımlı fonksiyonel yanıtları üzerindeki etkisini incelemek amacı ile kontrol ve diyabetik hayvanlardan elde edilen endoteli sağlam izole mezenterik arterlerin endotel-bağımlı gevşetici ajanlar olan Ach, bradikinin ve histamine gevşeme yanıtları Phe ile ön-kasılma oluşturulan damar halkalarında incelenmiştir. İncelenecek ajanların seçiminde kan basıncının düzenlenmesinde rol oynayan endojen maddeler olması ön planda tutulmuştur. Diyabetik hayvanlardan elde edilen damar preparatlarının her üç endojen endotel-bağımlı gevşetici ajana gevşeme yanıtlarının kontrol DM grubunda anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11). Diyabetik hayvanların mezenterik arterlerinin endotel bağımlı gevşetici ajanlar olan Ach, histamin ve bradikinine gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmanın, bu ajanlar tarafından endojen NO-benzeri gevşetici bir maddenin üretimi ve/veya salınımında oluşturdukları azalma ya da diyabetik hayvanların vasküler düz kaslarının bu gevşetici ajanın etkisine duyarlılığındaki azalmadan kaynaklanabileceği düşünülebilir. Her ne kadar deneysel diyabetin muskarinik reseptör yoğunluğunda değişikliklere neden olduğu bildirilmişse de (Carrier and Aronstam, 1990) mevcut çalışmada izole mezenterik arterlerde muskarinik reseptör yoğunluğu incelenmemiştir. Diğer taraftan çalışmamızda diyabetik hayvanlardan elde edilen damar

preparatlarında Ach'ya gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmaya benzer şekilde histamin ve bradikinine gevşeme yanıtlarında da istatistiksel olarak anlamlı azalmalar gözlenmiştir. Ek olarak endoteli sağlam izole mezenterik arterlerin NOS blokörü L-NAME inkübasyonu kontrol grubu hayvanlarda Ach'ya gevşeme yanıtlarında anlamlı bir azalmaya neden olmuş, diyabetik hayvanlardan elde edilen damarlarda ise Ach'ya gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. L-NAME inkübasyonu sonrası diyabetik ve kontrol hayvanlarından elde edilen damar preparatlarının endotel bağımlı gevşetici ajan olan Ach'ya gevşeme yanıtlarının benzer düzeylerde geliştiği, aradaki anlamlı farkın kaybolduğu saptanmıştır (Şekil 4.13). Diğer taraftan çalışmamız kapsamında endoteli sağlam damarlarda SNP'ye gevşeme yanıtları incelenerek karşılaştırılmıştır. Gerek Ach gerekse SNP, NO-aracılı soluble guanilat siklaz aktivasyonu ile cGMP üretiminde artma ve bunun sonucunda vasküler düz kas gevşemesine neden olmaktadır. Bununla birlikte Ach vasküler endotel hücrelerden NOS aktivasyonu aracılığı ile NO salınımına neden olurken, SNP direkt NO donorü olarak etki göstermekte, dolayısıyla SNP'ye gevşeme yanıtları endotelden bağımsız bir şekilde gelişmektedir (Moncada and Higgs, 1993). Çalışmamızda SNP'ye gevşeme yanıtlarında diyabetik ve kontrol grubu hayvanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu bulgu da diyabetik hayvanlarda endotel bağımlı gevşetici endojen maddeler olan Ach, bradikinin ve histamine izole mezenterik damarlarında gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmadan, damar düz kasının NO'e duyarlılığındaki bir azalmadan ziyade, diyabet ile oluşan NO sentez ve/veya salınımındaki azalmanın, bir başka ifade ile endotel fonksiyon bozukluğunun sorumlu olduğuna işaret etmektedir. Bu görüş ile uyumlu şekilde, literatürde yer alan çeşitli çalışmalarda T1DM'li hastalarda yapılan ön-kol perfüzyon çalışmalarında NO aracılı vazodilatasyon da dahil olmak üzere endotel fonksiyonlarında bozulma olduğu gösterilmiş (Calver et al., 1992; Johnstone et al., 1993), diyabetik hayvanların çeşitli dokularında NO sentez ve/veya salınımında bozulma olduğu bildirilmiştir (Benter et al., 2007; Chang and Stevens, 1992; Kaputlu et al., 1999; Martinez-Cuesta et al., 1995).

Deney gruplarından elde edilen izole rezistans arterlerin Ach'e gevşeme yanıtlarının L-NAME inkübasyonu sonrasında kontrol grubunda belirgin şekilde azalırken diyabetik grupta belirgin bir değişiklik göstermemesi ve inkübasyon sonrası kontrol ve diyabetik

hayvanlarda Ach'ya gevşeme yanıtları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalması, diyabette Ach'ya gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmadan büyük ölçüde NO biyoyararlanımındaki azalmanın sorumlu olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte izole rezistans arterlerin Ach'ya gevşeme yanıtlarında EDHF'nin de rol oynayabileceği bilinmektedir. Bununla birlikte, izole vasküler preparatların apamin, karibdotoksin gibi EDHF'den sorumlu olabileceği düşünülen büyük kondüktanslı Ca^{2+} ile aktive olan potasyum kanal blokörü karibdotoksin ve küçük kondüktanslı Ca^{2+} ile aktive olan potasyum kanal blokörü apamin ile inkübasyonunun gerek kontrol gerekse diyabetik hayvanların izole mezenterik arterlerinde Ach'ya gözlenen gevşeme yanıtlarında benzer düzeylerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturduğu, bu ajanlar ile inkübasyon sonrası diyabet ve kontrol grubunda Ach'e gevşeme yanıtları arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın korunduğu gözlenmiştir (Şekil 4.18). Ek olarak gerek kontrol gerekse diyabetik hayvanlardan elde edilen damar preparatlarının NOS blokörü L-NAME ve COX inhibitörü indometazin ile kombine inkübasyonu sonrasında, 30 mM KCl ile depolarizasyon oluşturularak kasılan izole mezenterik rezistans arterlerin Ach'ya gevşeme yanıtları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.21). NOS ve COX blokörü varlığında yüksek KCl ile kasılan damar preparatlarının Ach'ya gevşeme yanıtlarının temel olarak EDHF aracılığı ile gerçekleşebileceği düşünüldüğünde, bu bulgu diyabetik hayvanlarda Ach'ya endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmada EDHF aracılı mekanizmalardaki olası bir değişikliğin anlamlı bir rol oynamadığını, dolayısıyla diyabette rezistans arterlerde EDHF aracılı gevşeme mekanizmalarının büyük ölçüde korunduğunu düşündürmektedir. Nitekim, çalışma bulgularımızla uyumlu olarak, diyabet ve hipertansiyon gibi ROS üretiminin arttığı ve NO biyoyararlanımının azaldığı patolojik durumlarda, EDHF'nin akım aracılı gevşeme ve kan akımını sürdürmek için bir yedek mekanizma şeklinde etki gösterebileceği bildirilmiştir (Triggle et al., 2012). Ek olarak, db/db T2DM farelerin küçük rezistans arterleri ve koroner arterlerinde endotel bağımlı gevşeme yanıtlarındaki azalmaya rağmen EDHF'nin katkısının sürdüğü gösterilmiştir (Pannirselvam et al., 2006, 2002; Park et al., 2008). Diğer taraftan EDHF'nin vasküler düz kas potasyum kanallarını açarak gevşettiği bilinmekle birlikte, bu etkide rol oynayan potasyum kanallarının tam olarak bilinmediği ve ayrıca türe bağımlı olarak değişebildiği bildirilmiştir (Félétou and Vanhoutte, 1999). Bu nedenle

çalışmamızda Ach'ya gevşeme yanıtlarında karibdotoksin ve apamine ek olarak ATP ve voltaj-bağımlı potasyum kanallarının rolü de incelenmiştir. Diyabetik hayvanların izole rezistans arterlerinin glibenklamid ve 4-AP gibi sırasıyla ATP- ve voltaj-bağımlı potasyum kanal inhibitörleri ile inkübasyonu sonrasında Ach'e gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.16). Bu bulgu izole mezenterik arterlerin Ach'ya gevşeme yanıtlarında ve diyabetik hayvanlarda Ach'ya endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmada ATP- ve voltaj-bağımlı potasyum kanallarının ve bu kanalların fonksiyonlarındaki olası değişikliklerin rol oynamadığına işaret etmektedir.

Diyabetik hayvanlardan elde edilen izole mezenterik arter halkalarının endotel bağımlı gevşetici ajanlara yanıtlarında gözlenen azalmanın diyabet sürecinde prostasiklin gibi vazodilatör prostaglandinlerin lokal üretimleri ve/veya biyoyararlanımlarındaki bir azalmaya bağlı olabileceği ve Ang (1-7) tedavisinin kontrol ve diyabetik hayvanlarda COX üzerinde direkt ve/veya indirekt etkiler aracılığı ile vasküler düzeyde vazodilatör prostaglandin üretimi/biyoyararlanımı üzerinde değişiklikler oluşturabileceği düşünülebilir. Nitekim Ang (1-7)'nin NO salınımı yanı sıra prostasiklin gibi vasküler prostasiklin reseptörleri üzerinde otokrin ve parakrin etkiler oluşturarak cAMP'yi artıran vazodilatör prostaglandinlerin salınımına neden olduğu gösterilmiştir (Benter et al., 1995, 1993; Brosnihan et al., 1996; Li et al., 1997; Tallant and Clark, 2003). Bununla birlikte çalışmamızda deney gruplarında vasküler preparatların COX inhibitörü indometazin ile inkübasyonu sonrasında Ach'ya gevşeme yanıtlarında, inkübasyon olmadan elde edilen yanıtlar ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik oluşmadığı görülmüştür (Şekil 4.14). Bu bulgu diyabetik hayvanların izole rezistans arterlerinde endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmada, siklooksijenaz ürünlerinin lokal üretiminde diyabete bağlı gelişebilecek değişikliklerin anlamlı bir rol oynamadığına işaret etmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu bulgu, diyabetik hayvanlarda daha önce gerçekleştirdiğimiz bir çalışmada, endoteli sağlam izole mezenterik arter halkalarında Ach'ya gevşeme yanıtlarının indometazinin inkübasyonu ile değişmemesi bulgusu ile de uyumludur (Akcabag et al., 2021). Diğer taraftan Ang (1-7) tedavisi verilen gruplarda indometazin inkübasyonu sonrasında Ach'ya gevşeme yanıtlarının, inkübasyon olmadan elde edilen yanıtlardan istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemesi ise, gerek kontrol

gerekse diyabetik hayvanlarda 4 hafta süre ile uygulanan Ang (1-7)'nin, izole rezistans arter düzeyinde lokal prostaglandin üretimi ve/veya biyoyararlanımında, bu dokuların endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşturacak düzeyde etkilere neden olmadığına işaret etmektedir.

ACE2 ve MAS reseptörleri damar duvarlarında mevcut olduğu için kalp ve kan damarları Ang (1-7) oluşumu ve etkileri için önemli hedef dokulardır (Ferreira and Santos, 2005). Ang (1-7)'nin bölgesel vazodilatasyonu aktive ederek total periferik rezistansı azalttığı ve intakt hayvanlarda i.v. infüzyonu durumunda arteriyel kan basıncında doza bağımlı bir düşmeye neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca Ang (1-7)'nin farklı hayvan türlerinde *in vivo* ve *in vitro* koşullarda çeşitli arter ve arteriollerde gevşemeye neden olduğu saptanmıştır (Benter et al., 1993; Brosnihan et al., 1998, 1996; Durand et al., 2010; Fernandes et al., 2001; Oliveira et al., 1999; Sampaio et al., 2003). Sıçan izole mezenterik arterleri de dahil olmak üzere Ang (1-7) reseptör aktivasyonunun vasküler dokularda eNOS'u aktive ettiği ve endotel hücrelerden NO salınımını uyardığı, bu şekilde endotel bağımlı ve NO aracılı gevşemeye neden olduğu bilinmektedir (Faria-Silva et al., 2005; Heitsch et al., 2001; Walkyria Oliveira Sampaio et al., 2007b; Wiemer et al., 2002). Dolayısıyla Ang (1-7) ile akut mas reseptör aktivasyonunun bile çeşitli patolojik durumlarda gelişen endotel disfonksiyonunu düzeltebileceği bildirilmiştir (Durand et al., 2010; Lenda et al., 2000; Lombard et al., 2003; Raffai et al., 2011; Zhu et al., 2007). Ayrıca Ang (1-7)'nin yüksek tuzla beslenen sıçanların izole mezenterik arterlerinde Ach'ya gevşeme yanıtında gözlenen azalmayı düzeltmesi ve Ang (1-7)'nin sıçan izole mezenterik arterlerinde oluşturduğu gevşeme yanıtlarının endotel dokunun zedelenmesi ya da L-NAME ile NOS inhibisyonu durumunda gözlenmemesi bulgusu temelinde, endotel bağımlı gevşeme yanıtları üzerindeki olumlu etkisinin NO biyoyararlanımını artırıcı etkisine bağlı olduğu ileri sürülmüştür (Raffai and Lombard, 2016). Dolayısıyla çalışmamızda diyabetik hayvanların izole rezistans arterlerinin Ach'da dahil olmak üzere endotel bağımlı vazodilatör ajanlara gevşeme yanıtları üzerinde 4 hafta süre ile 576 µg/kg s.k. Ang (1-7) tedavisi ile gözlenen olumlu etkilerin, benzer şekilde bu ajanın diyabetik hayvanların izole mezenterik arterlerinde eNOS aktivasyonu aracılığı ile NO salınımını stimüle ederek azalan NO biyoyararlanımını arttırıcı etkilerine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Nitekim Ang (1-7) tedavisi uygulanan diyabetik hayvanlardan elde edilen

izole damar dokularında endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında diyabetik gruplara göre gözlenen artmanın L-NAME inkübasyonu sonucunda kaybolması ve diyabetik hayvanlardaki düzeylere ulaşması bu görüşü daha da desteklemektedir (Şekil 4.13). Ang (1-7) tedavisi uygulanan diyabetik ve kontrol gruplarında izole mezenterik arterlerin endotel bağımsız gevşetici ajan SNP'ye gevşeme yanıtlarının gerek diyabetik gerekse kontrol grubundaki yanıtlardan farklı olmaması, Ang (1-7) tedavisi ile diyabetik hayvanlarda endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında görülen kısmi düzelmenin vasküler düz kasın NO'a duyarlılığında bir değişiklik üzerinden gerçekleşmediğine işaret etmektedir. Bu bulgu ve görüş, Raffai ve Lombard'ın (2016) tuzla beslenen sıçanlarda Ang (1-7)'nin mezenterik arterlerde endotel bağımlı gevşemeyi modüle edici etkilerini inceledikleri çalışmada elde ettikleri benzer sonuçlarla da desteklenmektedir (Raffai and Lombard, 2016).

Ang (1-7) inkübasyonunun çeşitli patolojik durumlarda sıçan mezenterik arterlerinde vasküler oksidan stresi azalttığı (Raffai and Lombard, 2016), spontan hipertansif ratların beyinde SOD aktivitesini artırdığı (Jiang et al., 2013) bilinmektedir. Mas reseptöründen yoksun farelerin aortunda SOD ve katalaz aktivitelerinin baskılandığı (Xu et al., 2008) ve Ang (1-7)'nin diyabetik sıçanların böbreklerinde SOD ve katalaz aktivitesini düzelttiği (Giani et al., 2012) gösterilmiştir. İnsan aort endotel hücreleri ve sıçan aortunda yapılan çalışmalarda ise Ang (1-7)'nin Ang II ile indüklenen NAD(P)H oksidaz aktivasyonunu önleyerek, NAD(P)H oksidaz kaynaklı süperoksit üretimini azalttığı bildirilmiştir (Polizio et al., 2007; Walkyria O Sampaio et al., 2007). Ang (1-7)'nin oksidan stres üzerindeki bu etkileri temelinde, yüksek tuzla beslenme durumunda, diyabette olduğu gibi damar duvarında oksidatif aktivitenin artabileceği ileri sürülmüş ve artan süperoksit radikallerine bağlı NO yıkımı nedeni ile NO biyoyararlanımının azalabileceği, dolayısıyla bu hayvanlarda Ang (1-7) ile mas reseptör aktivasyonu ile endotel bağımlı NO aracılı vasküler gevşeme yanıtlarında gözlenen olumlu etkilerin, Ang (1-7)'nin antioksidan defans mekanizmalarını aktive etmesi veya süperoksit üretimini azaltması veya her ikisi sonucu gelişebileceği ileri sürülmüştür (Raffai and Lombard, 2016). ROS'ların kardiyovasküler hastalıklar da dahil olmak üzere pek çok patolojik durumda rol oynadığı bilinmektedir (Halliwell, 1993; Lounsbury et al., 2000). Diyabette oksidatif strese artma olduğu ve artan ROS üretiminin diyabette gözlenen endotel fonksiyon bozukluğuna

aracılık eden önemli mekanizmalardan biri olduğu gösterilmiştir. Diyabet dışında hipergliseminin kendisinin de kardiyovasküler sistemde ROS üretimini arttırdığı bilinmektedir (Giugliano et al., 1996). Bu nedenle çalışmamızda kontrol ve diyabetik hayvanlarda sistemik (serum) ve lokal (izole mezenterik arter) oksidan statü parametreleri ve 4 hafta süre ile 576 µg/kg dozda s.k. olarak uygulanan Ang (1-7) tedavisinin bu parametreler üzerinde oluşturduğu değişiklikler incelenmiş ve diyabetik hayvanlarda endotel bağımlı gevşemelerde gözlenen değişikliklerde ROS'ların rolünün belirlenmesi ve olası değişikliklerin sistemik ve lokal oksidan statü parametreleri ve Ang (1-7) tedavisinin bu parametreler üzerinde oluşturduğu değişikliklerle ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Diyabetik hayvanların serum ve izole mezenterik arter TOS düzeylerinde kontrol grubuna göre bir miktar artma eğilimi görülmekle birlikte gözlenen bu farklılık özellikle diyabetik grupta elde edilen düzeylerdeki yüksek varyasyon nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı bir düzeye ulaşmamıştır. Dört hafta süre ile 576 µg/kg dozda Ang (1-7) tedavisi gerek kontrol gerekse diyabetik hayvanlarda serum ve mezenterik arter TOS düzeylerinde bir miktar azalmaya neden olmuş ancak gözlenen azalmalar yine diyabetik grupta gözlenen yüksek varyasyon nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Diğer taraftan deney gruplarının serum TAS düzeylerinin benzer olduğu saptanmış ancak diyabetik hayvanların mezenterik arterlerinde TAS düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte kontrol grubundan belirli ölçüde yüksek olduğu görülmüştür. TAS düzeylerindeki bu farkın olasılıkla diyabette artan oksidatif strese kompanse edilebilir bir yanıtı temsil edebileceği düşünülmüştür. İlginç olarak Ang (1-7) tedavisinin istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte kontrol grubuna kıyasla diyabetik hayvanlarda izole mezenterik arter TAS düzeylerinde azalma yapma eğiliminde olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.22, Şekil 4.23). Deney gruplarında TOS ve TAS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadığı için, söz konusu parametrelerin izole rezistans arterlerin endotel bağımlı gevşemelerinde saptanan değişikliklerle ilişkisine yönelik bir değerlendirme yapılamamıştır. Ayrıca yukarıda yer alan tüm tartışmanın yorum düzeyinde olduğu ve daha fazla sayıda deney hayvanında yapılacak ileri deneylerle konunun netleştirilebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Diğer taraftan çalışmamızda izole mezenterik arterlerin süperoksit anyonlarını süpüren bir enzim olan SOD ile inkübasyonu diyabetik hayvanlar ve Ang (1-7) uygulanan diyabetik hayvanlardan elde edilen izole mezenterik arterlerin Ach'ya bozulan gevşeme yanıtlarında düzelmeye neden olurken, kontrol grubu ve Ang (1-7) tedavisi uygulanan kontrol grubundaki hayvanlardan elde edilen damarlarda benzer bir etki göstermemiş, Ach'ya gevşeme yanıtlarında ilave bir gevşetici etki oluşturmamıştır (Şekil 4.19). Dokuların bir diğer ROS olan H_2O_2 'i parçalayan katalaz ile inkübasyonu ise deney gruplarında Ach'e gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 4.20). Bu bulgular diyabetik hayvanlarda Ach'ya endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında gözlenen bozulmada serbest oksijen radikallerinin rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda diyabetik hayvanların izole mezenterik arterlerinde Ach'ya gevşeme yanıtlarında gözlenen olumlu etkilere benzer şekilde, SOD'un farklı patolojik durumlarda rezistans arterlerin endotel bağımlı gevşeme yanıtları üzerinde düzeltici etkisi başka araştırmalarla da gösterilmiştir (Diederich et al., 1994; Rodríguez-Mañas et al., 1998).

H_2O_2 vasküler endotel hücreleri ve düz kas hücreleri dahil olmak üzere pek çok farklı hücre türünde süperoksit radikallerinin SOD tarafından enzimatik dönüşümü ile üretilen radikal olmayan bir ROS olup (Halliwell et al., 2000) insan ve hayvanlarda primer bir EDHF olabileceği ileri sürülmüştür (Matoba and Shimokawa, 2003). Bununla birlikte H_2O_2 'nin vasküler yatak, tür ve deney koşullarına göre hem bir vazodilatör hem de vazokonstriktör şeklinde etki gösterebileceği (Matoba and Shimokawa, 2003; Rhoades et al., 1990; Rodríguez-Martínez et al., 1998; Rogers et al., 2006; Rubanyi and Vanhoutte, 1986), ek olarak geçici bir kasılmayı takiben gevşeme şeklinde bifazik vasküler yanıtlarda oluşturabileceği bilinmektedir (Rhoades et al., 1990). Ayrıca H_2O_2 'ye maruz kalan damar düz kaslarında gözlenen yanıtların mekanizmaları da tam olarak anlaşılamamakla birlikte, COX yolağı aktivasyonu (Iida and Katusic, 2000; Rodríguez-Martínez et al., 1998), farklı potasyum kanalları (Iida and Katusic, 2000; Lacza et al., 2002; Matoba et al., 2000; Rogers et al., 2006; Thengchaisri and Kuo, 2003) ve fosfolipaz A2 (Rao et al., 1995; Yang et al., 1998) aktivasyonu gibi mekanizmalar yanı sıra, NO salıverilmesi sonucu düz kasta cGMP birikiminde artma gibi mekanizmaları da içerebileceği anlaşılmaktadır (Yang et al., 1999; Zembowicz et al., 1993).

Diğer taraftan H_2O_2 fare izole aortu ve küçük mezenterik arterleri gibi vasküler dokularda gevşeme yanıtları oluşturmakta ve H_2O_2 ile oluşan gevşeme yanıtları katalaz ile nerdeyse tamamen bloke edilmektedir (Ellis et al., 2003; Iida and Katusic, 2000; Rabelo et al., 2003; Rubanyi and Vanhoutte, 1986). Dolayısıyla çalışmamızda vasküler dokuların SOD ile inkübasyonu sonrası diyabetik grupta Ach'ya gevşeme yanıtında gözlenen artmada, diyabetik hayvanların damarlarında yüksek düzeyde olması beklenen süperoksit radikalının SOD tarafından H_2O_2 'ye dönüşümüne bağlı olabileceği, katalaz inkübasyonu durumunda ise yüksek H_2O_2 düzeylerine bağlı potansiyel ilave bir gevşetici etkinin ortadan kalkabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda diyabetik gruptan elde edilen izole mezenterik arterlerin endotel bağımlı gevşetici ajan Ach'ye gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmanın damar dokusunda eNOS ekspresyon ve aktivitesi incelemeleri ile ve L-NAME inkübasyonuna ek olarak soluble guanilat siklaz inhibitörü bir ajan ile inkübasyon yapılarak teyid edilmemesi; L-NAME ile gözlenen inhibitör etkisinin L-Arginin inkübasyonu ile kısmen ya da tamamen geri dönüp dönmediğinin belirlenmemesi, Ach'a gevşeme yanıtlarında EDHF'nin rolünü incelemeye yönelik deneylerde yüksek kondüktanslı Ca^{2+} ile aktive olan potasyum kanal blokörü karibdotoksin ve küçük kondüktanslı Ca^{2+} ile aktive olan potasyum kanal blokörü apamin inkübasyonlarına ek olarak karibdotoksin + apamin kombinasyonunun etkisinin incelenmemesi, benzer şekilde Ach'ya gevşeme yanıtlarındaki azalmada ROS'un rolünü belirlemeye yönelik deneylerde, SOD ve katalaz ile inkübasyonlara ilave olarak SOD + katalaz inkübasyonunun etkisinin belirlenmemesi, 4 hafta süre ile Ang (1-7) tedavisi öncesi ve sonrasında deney gruplarında sistemik Ang (1-7) düzeylerinin belirlenmemesi temel olarak sınırlı araştırma projesi bütçesinden kaynaklanan önemli kısıtlamalar olarak karşımıza çıkmaktadır. Mevcut kısıtlılıkların konuya ilişkin ileri çalışmalarda giderilebileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak, çalışmamızda STZ ile deneysel diyabet oluşturulan hayvanlardan elde edilen izole rezistans arterlerin ET-1, NA ve Ang II gibi endojen vazokonstriktörlere duyarlılıklarında artma, Ach, bradikinin ve histamin gibi endotel bağımlı vazodilatör ajanlara gevşeme yanıtlarında ise anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. Diyabetik hayvanların izole rezistans arterlerinde endotel bağımlı gevşetici ajanlara yanıtlarda

gözlenen azalmadan diyabetik süreçte rezistans arter düzeyinde gelişen NO biyoyararlanımındaki azalma ve serbest oksijen radikallerindeki artmanın sorumlu oldukları anlaşılmıştır. Dört hafta süre ile uygulanan Ang (1-7) tedavisi kontrol ve diyabetik hayvanlarda sistemik (serum) ve lokal vasküler (izole mezenterik arter) TAS ve TOS düzeylerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamakla birlikte, diyabetik hayvanların izole rezistans arterlerinin endojen vazokonstriktörlere kasılma yanıtları ve endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında anlamlı düzelmelere neden olmuş, gözlenen bu olumlu etkilerde kronik Ang (1-7) tedavisinin izole rezistans arter düzeyinde NO biyoyararlanımı ve serbest oksijen radikal üretimi oluşumu üzerindeki olumlu etkilerinden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. Mevcut sonuçlar temelinde Ang (1-7)'nin diyabetin izole rezistans arterlerde potansiyel olumsuz etkilerine karşı koymaya yönelik terapötik yaklaşımlar arasında önemli bir yere sahip olabileceği, bu alanda yapılacak ileri çalışmalarla Ang (1-7)'nin diyabet tedavisinde yerinin netleştirilebileceği düşünülmüştür.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

STZ ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanlardan elde edilen izole mezenterik arter halkalarının endojen vazokonstriktör ajanlar olan ET-1, Ang II ve NA'ya duyarlılıklarında kontrol grubuna göre artma saptandı. Aynı damarların endotel-bağımlı gevşetici endojen ajanlar olan Ach, Bradikinin ve Histamine vasküler yanıtlarının ise kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olduğu gözlemlendi. Diğer taraftan deney gruplarının endotelden bağımsız gevşeme yapan NO donörü SNP'ye gevşeme yanıtları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Diyabetik hayvanların izole rezistans arterlerinin endojen vazoaktif maddelere yanıtlarında gözlenen bu değişikliklerin mekanizmasını anlamaya yönelik deneylerde; damar dokularının NOS blokörü L-NAME ile inkübe edilmesi durumunda kontrol gruplarının Ach'ya gevşeme yanıtlarının anlamlı şekilde azalması, diyabetik grupların yanıtlarında ise anlamlı bir değişiklik olmaması, diyabetik gruplarda endotel bağımlı ajanlara gevşeme yanıtlarında NO biyoyararlanımındaki bir azalmanın sorumlu olduğuna işaret etmektedir. Gerek diyabetik gerekse kontrol grubu hayvanların izole mezenterik arterlerinde EDHF aracılı gevşemelerden sorumlu olduğu bilinen kalsiyumla aktive edilen potasyum kanal inhibitörleri olan apamin ve karibdotoksin inkübasyonları sonrası Ach'ya gevşeme yanıtlarının benzer düzeyde azalması, ayrıca 30 mM KCl ile kasılan damar preparatlarında L-NAME ve COX inhibitörü indometazin inkübasyonu sonrası Ach'ya gevşeme yanıtlarının diyabetik ve kontrol gruplarında benzer düzeylerde olması, deneysel diyabet gelişimi sürecinde izole rezistans arterlerin endotel bağımlı gevşeme yanıtlarına aracılık eden EDHF-temelli mekanizmaların korunduğunu göstermektedir.

Diyabetik ve kontrol gruplarından elde edilen izole mezenterik arter halkalarının sırasıyla ATP- ve voltaja-duyarlı potasyum kanal blokörleri olan glibenklamid ve 4-AP ile ve ayrıca COX inhibitörü indometazin ile inkübasyonları sonrasında, endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşmaması, diyabet sürecinde bu yanıtlarda gelişen değişikliklerde ATP- ve voltaja-duyarlı potasyum kanalları ve COX ürünlerinin rol oynamadığına işaret etmektedir.

Diyabetik ve kontrol grup hayvanların izole mezenterik arterlerinin süperoksit radikal süpürücü SOD ile inkübasyonu diyabetik grupların Ach'ya gevşeme yanıtlarında anlamlı bir artmaya neden olurken, kontrol grubunda anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. SOD ile gözlenen etkilerin aksine dokuların katalaz ile inkübasyonu kontrol ve diyabet gruplarının endotel bağımlı gevşeme yanıtları üzerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Deney gruplarında lokal (izole mezenterik arter) ve sistemik (serum) oksidan/antioksidan statü parametreleri olan TOS ve TAS düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, bu bulgular diyabetik grupların Ach'ya gevşeme yanıtlarında gözlenen azalmada özellikle süperoksit radikal düzeylerindeki bir artmanın rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

RAAS sistemi tarafından üretilen ve Ang II'nin çeşitli zararlı etkilerine karşı dengeleyici/koruyucu bir rol oynadığı bilinen endojen bir peptit olan Ang (1-7) ile 4 hafta süreli parenteral tedavi, diyabetik hayvanların endojen vazoaktif ajanlara yanıtlarında deneysel diyabet sonucu gelişen bozulmalar üzerinde anlamlı değişiklikler oluşturmuş, söz konusu yanıtları kontrol gruplarında kaydedilen düzeylere doğru kaydırmıştır. Ang (1-7) tedavisi ile gözlenen olumlu etkilerin, söz konusu peptidin kronik uygulaması ile endotel fonksiyon ve/veya diyabette arttığı bilinen oksidatif stres üzerinde gelişebilecek ve rezistans arterlerde NO biyoyaralanımını arttırabilecek mekanizmalar aracılığıyla olabileceği düşünülmüştür.

Diyabete bağlı kardiyovasküler morbidite ve mortalite oldukça yüksek sıklıkta görülmekte ve önemli bir sağlık problemi oluşturmaktadır. Deneysel diyabet modelinde izole rezistans arter düzeyinde çalışma kapsamında Ang (1-7) tedavisi ile elde ettiğimiz olumlu sonuçlar, Ang (1-7)'nin diyabetin kardiyovasküler komplikasyonlarına karşı önemli yeni bir terapötik yaklaşımı temsil edebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte klinik-öncesi düzeyde deneysel diyabet modelinde izole rezistans arterlerde elde edilen bu olumlu sonuçların daha ileri çalışmalarla desteklenmesi ve geliştirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021, 2021. . Diabetes Care 44, S15–S33. <https://doi.org/10.2337/dc21-S002>

9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes—2021, 2021. . Diabetes Care 44, S111–S124. <https://doi.org/10.2337/dc21-S009>

Abdulah, D.M., Hassan, A.B., Saadi, F.S., Mohammed, A.H., 2018. Impacts of self-management education on glycaemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetes Metab. Syndr. 12, 969–975. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.06.007>

Aggarwal, A., Pathak, S., Goyal, R., 2022. Clinical and economic outcomes of continuous glucose monitoring system (CGMS) in patients with diabetes mellitus: A systematic literature review. Diabetes Res. Clin. Pract. 186, 109825. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2022.109825>

Ahmed, A.M., 2002. History of diabetes mellitus. Saudi Med. J. 23, 373–8.

Aird, W.C., 2004. Endothelium as an organ system. Crit. Care Med. 32, S271–S279. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000129669.21649.40>

Akcabag, E., Bayram, Z., Kucukcetin, I.O., Uzun, G., Ozdem, S., Ozdem, S.S., 2021. Functional effects of visfatin in isolated rat mesenteric small resistance arteries. Eur. J. Pharmacol. 908, 174333. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174333>

Al-Shebly, M.M., Mansour, M.A., 2012. Evaluation of oxidative stress and antioxidant status in diabetic and hypertensive women during labor. Oxid. Med. Cell. Longev. 2012, 329743. <https://doi.org/10.1155/2012/329743>

Allred, A.J., Diz, D.I., Ferrario, C.M., Chappell, M.C., 2000. Pathways for angiotensin-(1–7) metabolism in pulmonary and renal tissues. Am. J. Physiol. Physiol. 279, F841–F850. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.2000.279.5.F841>

Alzaid, A.A., 1996. Microalbuminuria in patients with NIDDM: an overview. *Diabetes Care* 19, 79–89. <https://doi.org/10.2337/diacare.19.1.79>

American Diabetes Association, 2022. Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes [WWW Document]. *Diabetes Care*. <https://doi.org/10.2337/dc22-Sint>

American Diabetes Association, 2011. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 34 Suppl 1, S62-9. <https://doi.org/10.2337/dc11-S062>

Ames, M.K., Atkins, C.E., Pitt, B., 2019. The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression. *J. Vet. Intern. Med.* 33, 363–382. <https://doi.org/10.1111/jvim.15454>

Anderson, T.J., 1999. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. *J. Am. Coll. Cardiol.* 34, 631–8. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(99\)00259-4](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(99)00259-4)

Andrews, K.L., Pannirselvam, M., Anderson, T.J., Jenkins, A.J., Trigg, C.R., Hill, M.A., 2005. The vascular endothelium in diabetes: a practical target for drug treatment? *Expert Opin. Ther. Targets* 9, 101–117. <https://doi.org/10.1517/14728222.9.1.101>

Arauz-Pacheco, C., Ramirez, L.C., Rios, J.M., Raskin, P., 1990. Hypoglycemia induced by angiotensin-converting enzyme inhibitors in patients with non-insulin-dependent diabetes receiving sulfonylurea therapy. *Am. J. Med.* 89, 811–3. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(90\)90227-5](https://doi.org/10.1016/0002-9343(90)90227-5)

Arnold, W.P., Mittal, C.K., Katsuki, S., Murad, F., 1977. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 74, 3203–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.8.3203>

Arrang, J.M., Garbarg, M., Schwartz, J.C., 1983. Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H3) of histamine receptor. *Nature* 302, 832–7. <https://doi.org/10.1038/302832a0>

Artasensi, A., Pedretti, A., Vistoli, G., Fumagalli, L., 2020. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Multi-Target Drugs. *Molecules* 25. <https://doi.org/10.3390/molecules25081987>

Aslan, M., Sabuncu, T., Kocyigit, A., Celik, H., Selek, S., 2007. Relationship between total oxidant status and severity of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 17, 734–740. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2006.08.005>

Averill, D.B., Ishiyama, Y., Chappell, M.C., Ferrario, C.M., 2003. Cardiac angiotensin-(1-7) in ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 108, 2141–6. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000092888.63239.54>

Bajpai, A., Verma, A.K., Srivastava, M., Srivastava, R., 2014. Oxidative stress and major depression. *J. Clin. Diagn. Res.* 8, CC04-7. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/10258.5292>

Banerjee, M., Vats, P., 2014. Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in Type 2 diabetes mellitus. *Redox Biol.* 2, 170–7. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.001>

Barquera, S., Pedroza-Tobías, A., Medina, C., Hernández-Barrera, L., Bibbins-Domingo, K., Lozano, R., Moran, A.E., 2015. Global Overview of the Epidemiology of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Arch. Med. Res.* 46, 328–338. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2015.06.006>

Barros, Carlos Castilho, Haro, A., Russo, F.J., Schadock, I., Almeida, S.S., Reis, F.C., Moraes, M.R., Haidar, A., Hirata, A.E., Mori, M., Bacurau, R.F.P., Würtele, M., Bader, M., Pesquero, J.B., Araujo, R.C., 2012. Bradykinin inhibits hepatic gluconeogenesis in obese mice. *Lab. Invest.* 92, 1419–27. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2012.105>

Barros, Carlos C, Haro, A., Russo, F.J.V.P., Schadock, I., Almeida, S.S., Ribeiro, R.A., Vanzela, E.C., Lanzoni, V.P., Barros, F.C., Moraes, M.R., Mori, M.A., Bacurau, R.F.P., Wurtele, M., Boschero, A.C., Carneiro, E.M., Bader, M., Pesquero, J.B., Araujo, R.C., 2012. Altered glucose homeostasis and hepatic function in obese mice deficient for both kinin receptor genes. *PLoS One* 7, e40573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040573>

Beckman, J.A., Paneni, F., Cosentino, F., Creager, M.A., 2013. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part II. *Eur. Heart J.* 34, 2444–52. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/eh142>

- Benter, I.F., Diz, D.I., Ferrario, C.M., 1993. Cardiovascular actions of angiotensin(1-7). Peptides 14, 679–84. [https://doi.org/10.1016/0196-9781\(93\)90097-z](https://doi.org/10.1016/0196-9781(93)90097-z)
- Benter, I.F., Ferrario, C.M., Morris, M., Diz, D.I., 1995. Antihypertensive actions of angiotensin-(1-7) in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 269, H313-9. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1995.269.1.H313>
- Benter, I.F., Yousif, M.H.M., Cojocel, C., Al-Maghrebi, M., Diz, D.I., 2007. Angiotensin-(1-7) prevents diabetes-induced cardiovascular dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 292, H666-72. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00372.2006>
- Benter, I.F., Yousif, M.H.M., Dhaunsi, G.S., Kaur, J., Chappell, M.C., Diz, D.I., 2008. Angiotensin-(1-7) prevents activation of NADPH oxidase and renal vascular dysfunction in diabetic hypertensive rats. *Am. J. Nephrol.* 28, 25–33. <https://doi.org/10.1159/000108758>
- Beretta-Piccoli, C., Weidmann, P., 1981. Exaggerated pressor responsiveness to norepinephrine in nonazotemic diabetes mellitus. *Am. J. Med.* 71, 829–35. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(81\)90375-2](https://doi.org/10.1016/0002-9343(81)90375-2)
- Berry, C.E., Hare, J.M., 2004. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J. Physiol.* 555, 589–606. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.055913>
- Bettencourt-Silva, R., Aguiar, B., Sá-Araújo, V., Barreira, R., Guedes, V., Marques Ribeiro, M.J., Carvalho, D., Östlundh, L., Paulo, M.S., 2019. Diabetes-related symptoms, acute complications and management of diabetes mellitus of patients who are receiving palliative care: a protocol for a systematic review. *BMJ Open* 9, e028604. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-028604>
- Beyazyıldız, E., Cankaya, A.B., Ergan, E., Anayol, M.A., Ozdamar, Y., Sezer, S., Tırış, M.H., Yılmazbaş, P., Oztürk, F., 2013. Changes of total antioxidant capacity and total oxidant status of aqueous humor in diabetes patients and correlations with diabetic retinopathy. *Int. J. Ophthalmol.* 6, 531–6. <https://doi.org/10.3980/j.issn.2222-3959.2013.04.23>

- Bhatia, S., Shukla, R., Venkata Madhu, S., Kaur Gambhir, J., Madhava Prabhu, K., 2003. Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide end products in patients of type 2 diabetes mellitus with nephropathy. *Clin. Biochem.* 36, 557–62. [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(03\)00094-8](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(03)00094-8)
- Bhatt, S., Nagappa, A.N., Patil, C.R., 2020. Role of oxidative stress in depression. *Drug Discov. Today* 25, 1270–1276. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.05.001>
- Bhoola, K.D., Figueroa, C.D., Worthy, K., 1992. Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases. *Pharmacol. Rev.* 44, 1–80.
- Bhutani, J., Bhutani, S., 2014. Worldwide burden of diabetes. *Indian J. Endocrinol. Metab.* 18, 868–70. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.141388>
- Bindom, S.M., Hans, C.P., Xia, H., Boulares, A.H., Lazartigues, E., 2010. Angiotensin I-converting enzyme type 2 (ACE2) gene therapy improves glycemic control in diabetic mice. *Diabetes* 59, 2540–8. <https://doi.org/10.2337/db09-0782>
- Błaszczak, R., Kujawski, K., Kedziora-Kornatowska, K., Kornatowski, T., Kedziora, J., Szadujkis-Szadurski, L., Markuszewski, L., Rysz, J., Ertel, D., Olszewski, R., 2005. [The total antioxidant capacity and low-molecular antioxidant concentration in plasma of type-2 diabetes patients with different stage of metabolic compensation and concomitant diabetic nephropathy]. *Pol. Merkur. Lekarski* 18, 29–32.
- Booth, G.L., Kapral, M.K., Fung, K., Tu, J. V, 2006. Relation between age and cardiovascular disease in men and women with diabetes compared with non-diabetic people: a population-based retrospective cohort study. *Lancet (London, England)* 368, 29–36. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68967-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68967-8)
- Botelho-Santos, G.A., Bader, M., Alenina, N., Santos, R.A.S., 2012. Altered regional blood flow distribution in Mas-deficient mice. *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* 6, 201–11. <https://doi.org/10.1177/1753944712461164>

Britos, J., Nolly, H., 1981. Kinin-forming enzyme of rat cardiac tissue. Subcellular distribution and biochemical properties. *Hypertension* 3. https://doi.org/10.1161/01.HYP.3.6_Pt_2.II-42

Brosnihan, K.B., Li, P., Ferrario, C.M., 1996. Angiotensin-(1-7) dilates canine coronary arteries through kinins and nitric oxide. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 27, 523–8. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.27.3.523>

Brosnihan, K.B., Li, P., Tallant, E.A., Ferrario, C.M., 1998. Angiotensin-(1-7): a novel vasodilator of the coronary circulation. *Biol. Res.* 31, 227–34.

Brownlee, M., 2005. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 54, 1615–25. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.6.1615>

Brunner, H., Cockcroft, J.R., Deanfield, J., Donald, A., Ferrannini, E., Halcox, J., Kiowski, W., Lüscher, T.F., Mancia, G., Natali, A., Oliver, J.J., Pessina, A.C., Rizzoni, D., Rossi, G.P., Salvetti, A., Spieker, L.E., Taddei, S., Webb, D.J., Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension, 2005. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J. Hypertens.* 23, 233–46. <https://doi.org/10.1097/00004872-200502000-00001>

Burnham, M.P., Johnson, I.T., Weston, A.H., 2006. Impaired small-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel-dependent EDHF responses in Type II diabetic ZDF rats. *Br. J. Pharmacol.* 148, 434–441. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706748>

Calderón-Salinas, J. V, Muñoz-Reyes, E.G., Guerrero-Romero, J.F., Rodríguez-Morán, M., Bracho-Riquelme, R.L., Carrera-Gracia, M.A., Quintanar-Escorza, M.A., 2011. Eryptosis and oxidative damage in type 2 diabetic mellitus patients with chronic kidney disease. *Mol. Cell. Biochem.* 357, 171–9. <https://doi.org/10.1007/s11010-011-0887-1>

Cali, A.M.G., De Oliveira, A.M., Kim, H., Chen, S., Reyes-Mugica, M., Escalera, S., Dziura, J., Taksali, S.E., Kursawe, R., Shaw, M., Savoye, M., Pierpont, B., Constable,

R.T., Caprio, S., 2009. Glucose dysregulation and hepatic steatosis in obese adolescents: Is there a link? *Hepatology* 49, 1896–1903. <https://doi.org/10.1002/hep.22858>

Callaghan, B.C., Price, R.S., Chen, K.S., Feldman, E.L., 2015. The Importance of Rare Subtypes in Diagnosis and Treatment of Peripheral Neuropathy: A Review. *JAMA Neurol.* 72, 1510–8. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.2347>

Calver, A., Collier, J., Vallance, P., 1992. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J. Clin. Invest.* 90, 2548–54. <https://doi.org/10.1172/JCI116149>

Cameron, N.E., Cotter, M.A., 1992. Impaired contraction and relaxation in aorta from streptozotocin-diabetic rats: role of polyol pathway. *Diabetologia* 35, 1011–9. <https://doi.org/10.1007/BF02221675>

Candido, R., Jandeleit-Dahm, K.A., Cao, Z., Nesteroff, S.P., Burns, W.C., Twigg, S.M., Dilley, R.J., Cooper, M.E., Allen, T.J., 2002. Prevention of accelerated atherosclerosis by angiotensin-converting enzyme inhibition in diabetic apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 106, 246–53. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000021122.63813.32>

Cao, X., Yang, F., Shi, T., Yuan, M., Xin, Z., Xie, R., Li, S., Li, H., Yang, J.-K., 2016. Angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin-(1-7)/Mas axis activates Akt signaling to ameliorate hepatic steatosis. *Sci. Rep.* 6, 21592. <https://doi.org/10.1038/srep21592>

Carbone, S., Del Buono, M.G., Ozemek, C., Lavie, C.J., 2019. Obesity, risk of diabetes and role of physical activity, exercise training and cardiorespiratory fitness. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 62, 327–333. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2019.08.004>

Carrier, G.O., Aronstam, R.S., 1990. Increased muscarinic responsiveness and decreased muscarinic receptor content in ileal smooth muscle in diabetes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 254, 445–9.

Castro, C.H., Santos, R.A.S., Ferreira, A.J., Bader, M., Alenina, N., Almeida, A.P., 2006. Effects of genetic deletion of angiotensin-(1-7) receptor Mas on cardiac function during

ischemia/reperfusion in the isolated perfused mouse heart. *Life Sci.* 80, 264–8.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.09.007>

Centers for Disease Control and Prevention, 2011. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Division of Diabetes Translation [WWW Document]. URL <https://www.cdc.gov/diabetes/pubs/pdf/methods11.pdf>

Ceriello, A., Quagliaro, L., D'Amico, M., Di Filippo, C., Marfella, R., Nappo, F., Berrino, L., Rossi, F., Giugliano, D., 2002. Acute hyperglycemia induces nitrotyrosine formation and apoptosis in perfused heart from rat. *Diabetes* 51, 1076–82.
<https://doi.org/10.2337/diabetes.51.4.1076>

Chang, K.S., Stevens, W.C., 1992. Endothelium-dependent increase in vascular sensitivity to phenylephrine in long-term streptozotocin diabetic rat aorta. *Br. J. Pharmacol.* 107, 983–90. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1992.tb13395.x>

Chappell, M.C., Pirro, N.T., Sykes, A., Ferrario, C.M., 1998. Metabolism of angiotensin-(1-7) by angiotensin-converting enzyme. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 31, 362–7. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.31.1.362>

Chen, H., Kold-Petersen, H., Laher, I., Simonsen, U., Aalkjaer, C., 2015. Impaired endothelial calcium signaling is responsible for the defective dilation of mesenteric resistance arteries from db/db mice to acetylcholine. *Eur. J. Pharmacol.* 767, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.09.043>

Chen, P.-C., Kuyucak, S., 2009. Mechanism and energetics of charybdotoxin unbinding from a potassium channel from molecular dynamics simulations. *Biophys. J.* 96, 2577–88. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2008.12.3952>

Chen, Q., Wang, Q., Zhu, J., Xiao, Q., Zhang, L., 2018. Reactive oxygen species: key regulators in vascular health and diseases. *Br. J. Pharmacol.* 175, 1279–1292. <https://doi.org/10.1111/bph.13828>

Christ, G.J., Valcic, M., Gondré, M.C., 1994. Augmentation in the kinetic characteristics of phenylephrine- and 5-hydroxytryptamine-induced contractions in the isolated rat aorta

following eight weeks of STZ-diabetes. *Life Sci.* 55, 807–14.
[https://doi.org/10.1016/0024-3205\(94\)00564-8](https://doi.org/10.1016/0024-3205(94)00564-8)

Cipolla, M.J., Harker, C.T., Porter, J.M., 1996. Endothelial function and adrenergic reactivity in human type-II diabetic resistance arteries. *J. Vasc. Surg.* 23, 940–949.
[https://doi.org/10.1016/S0741-5214\(96\)70261-6](https://doi.org/10.1016/S0741-5214(96)70261-6)

Cisternas, F., Morales, M.G., Meneses, C., Simon, F., Brandan, E., Abrigo, J., Vazquez, Y., Cabello-Verrugio, C., 2015. Angiotensin-(1-7) decreases skeletal muscle atrophy induced by angiotensin II through a Mas receptor-dependent mechanism. *Clin. Sci. (Lond)*. 128, 307–19. <https://doi.org/10.1042/CS20140215>

Clark, S.G., Fuchs, L.C., 1997. Role of nitric oxide and Ca^{++} -dependent K^{+} channels in mediating heterogeneous microvascular responses to acetylcholine in different vascular beds. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 282, 1473–9.

Climent, B., Moreno, L., Martínez, P., Contreras, C., Sánchez, A., Pérez-Vizcaíno, F., García-Sacristán, A., Rivera, L., Prieto, D., 2014. Upregulation of SK3 and IK1 channels contributes to the enhanced endothelial calcium signaling and the preserved coronary relaxation in obese Zucker rats. *PLoS One* 9, e109432.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109432>

Cochrane, C.G., Revak, S.D., Wuepper, K.D., 1973. Activation of Hageman factor in solid and fluid phases. A critical role of kallikrein. *J. Exp. Med.* 138, 1564–83.
<https://doi.org/10.1084/jem.138.6.1564>

Crackower, M.A., Sarao, R., Oudit, G.Y., Yagil, C., Kozieradzki, I., Scanga, S.E., Oliveira-dos-Santos, A.J., da Costa, J., Zhang, L., Pei, Y., Scholey, J., Ferrario, C.M., Manoukian, A.S., Chappell, M.C., Backx, P.H., Yagil, Y., Penninger, J.M., 2002. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature* 417, 822–8. <https://doi.org/10.1038/nature00786>

da Costa Gonçalves, A.C., Leite, R., Fraga-Silva, R.A., Pinheiro, S. V., Reis, A.B., Reis, F.M., Touyz, R.M., Webb, R.C., Alenina, N., Bader, M., Santos, R.A.S., 2007. Evidence that the vasodilator angiotensin-(1–7)-Mas axis plays an important role in erectile

function. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 293, H2588–H2596.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00173.2007>

Dalaklioglu, S., Kuscü, N., Celik-Ozenci, C., Bayram, Z., Nacitarhan, C., Ozdem, S.S., 2014. Chronic treatment with taurine ameliorates diabetes-induced dysfunction of nitric oxide-mediated neurogenic and endothelium-dependent corpus cavernosum relaxation in rats. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 28, 394–404. <https://doi.org/10.1111/fcp.12041>

Danser, A.H., van Kats, J.P., Admiraal, P.J., Derkx, F.H., Lamers, J.M., Verdouw, P.D., Saxena, P.R., Schalekamp, M.A., 1994. Cardiac renin and angiotensins. Uptake from plasma versus in situ synthesis. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 24, 37–48. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.24.1.37>

Davis, M.J., Hill, M.A., 1999. Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response. *Physiol. Rev.* 79, 387–423. <https://doi.org/10.1152/physrev.1999.79.2.387>

De Mello, W.C., Danser, A.H., 2000. Angiotensin II and the heart : on the intracrine renin-angiotensin system. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 35, 1183–8. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.35.6.1183>

De Mello, W.C., Ferrario, C.M., Jessup, J.A., 2007. Beneficial versus harmful effects of Angiotensin (1-7) on impulse propagation and cardiac arrhythmias in the failing heart. *J. Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst.* 8, 74–80. <https://doi.org/10.3317/jraas.2007.015>

De Vriese, A.S., Van de Voorde, J., Blom, H.J., Vanhoutte, P.M., Verbeke, M., Lameire, N.H., 2000a. The impaired renal vasodilator response attributed to endothelium-derived hyperpolarizing factor in streptozotocin--induced diabetic rats is restored by 5-methyltetrahydrofolate. *Diabetologia* 43, 1116–25. <https://doi.org/10.1007/s001250051502>

De Vriese, A.S., Verbeuren, T.J., Van de Voorde, J., Lameire, N.H., Vanhoutte, P.M., 2000b. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br. J. Pharmacol.* 130, 963–74. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703393>

- Deshpande, A.D., Harris-Hayes, M., Schootman, M., 2008. Epidemiology of Diabetes and Diabetes-Related Complications. *Phys. Ther.* 88, 1254–1264. <https://doi.org/10.2522/ptj.20080020>
- DeSisto, C.L., Kim, S.Y., Sharma, A.J., 2014. Prevalence estimates of gestational diabetes mellitus in the United States, Pregnancy Risk Assessment Monitoring System (PRAMS), 2007-2010. *Prev. Chronic Dis.* 11, E104. <https://doi.org/10.5888/pcd11.130415>
- Diederich, D., Skopec, J., Diederich, A., Dai, F.X., 1994. Endothelial dysfunction in mesenteric resistance arteries of diabetic rats: role of free radicals. *Am. J. Physiol.* 266, H1153-61. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.266.3.H1153>
- Ding, H., Hashem, M., Wiehler, W.B., Lau, W., Martin, J., Reid, J., Triggle, C., 2005. Endothelial dysfunction in the streptozotocin-induced diabetic apoE-deficient mouse. *Br. J. Pharmacol.* 146, 1110–8. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706417>
- Ding, H., Triggle, C.R., 2005. Endothelial cell dysfunction and the vascular complications associated with type 2 diabetes: assessing the health of the endothelium. *Vasc. Health Risk Manag.* 1, 55–71. <https://doi.org/10.2147/vhrm.1.1.55.58939>
- Dobrush, J., Paczwa, P., Łoń, S., Khosla, M.C., Szczepańska-Sadowska, E., 2003. Hypotensive function of the brain angiotensin-(1-7) in Sprague Dawley and renin transgenic rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 54, 371–81.
- Domingueti, C.P., Dusse, L.M.S., Carvalho, M. das G., de Sousa, L.P., Gomes, K.B., Fernandes, A.P., 2016. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. *J. Diabetes Complications* 30, 738–745. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2015.12.018>
- Donate-Correa, J., Luis-Rodríguez, D., Martín-Núñez, E., Tagua, V.G., Hernández-Carballo, C., Ferri, C., Rodríguez-Rodríguez, A.E., Mora-Fernández, C., Navarro-González, J.F., 2020. Inflammatory Targets in Diabetic Nephropathy. *J. Clin. Med.* 9. <https://doi.org/10.3390/jcm9020458>

Donoghue, M., 2003. Heart block, ventricular tachycardia, and sudden death in ACE2 transgenic mice with downregulated connexins. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 35, 1043–1053. [https://doi.org/10.1016/S0022-2828\(03\)00177-9](https://doi.org/10.1016/S0022-2828(03)00177-9)

Donoghue, M., Hsieh, F., Baronas, E., Godbout, K., Gosselin, M., Stagliano, N., Donovan, M., Woolf, B., Robison, K., Jeyaseelan, R., Breitbart, R.E., Acton, S., 2000. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ. Res.* 87, E1-9. <https://doi.org/10.1161/01.res.87.5.e1>

Dordević, G., Durić, S., Apostolskit, S., Dordević, V., Zivković, M., 2008. [Total antioxidant blood capacity in patients with type 2 diabetes mellitus and distal symmetrical polyneuropathy]. *Vojnosanit. Pregl.* 65, 663–9. <https://doi.org/10.2298/vsp0809663d>

Đuračková, Z., 2010. Some current insights into oxidative stress. *Physiol. Res.* 59, 459–469. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931844>

Durand, M.J., Raffai, G., Weinberg, B.D., Lombard, J.H., 2010. Angiotensin-(1-7) and low-dose angiotensin II infusion reverse salt-induced endothelial dysfunction via different mechanisms in rat middle cerebral arteries. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 299, H1024–H1033. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00328.2010>

Durante, W., Sen, A.K., Sunahara, F.A., 1988. Impairment of endothelium-dependent relaxation in aortae from spontaneously diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.* 94, 463–8. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1988.tb11548.x>

Ebeigbe, A.B., Talabi, O.O., 2014. Vascular Effects of Histamine. *Niger. J. Physiol. Sci.* 29, 7–10.

Echeverría-Rodríguez, O., Del Valle-Mondragón, L., Hong, E., 2014. Angiotensin 1–7 improves insulin sensitivity by increasing skeletal muscle glucose uptake in vivo. *Peptides* 51, 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.10.022>

Edgley, A.J., Tare, M., Evans, R.G., Skordilis, C., Parkington, H.C., 2008. In vivo regulation of endothelium-dependent vasodilation in the rat renal circulation and the effect

of streptozotocin-induced diabetes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 295, R829-39. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00861.2007>

Eldor, R., DeFronzo, R.A., Abdul-Ghani, M., 2013. In vivo actions of peroxisome proliferator-activated receptors: glycemic control, insulin sensitivity, and insulin secretion. *Diabetes Care* 36 Suppl 2, S162-74. <https://doi.org/10.2337/dcS13-2003>

Ellis, A., Pannirselvam, M., Anderson, T.J., Triggle, C.R., 2003. Catalase has negligible inhibitory effects on endothelium-dependent relaxations in mouse isolated aorta and small mesenteric artery. *Br. J. Pharmacol.* 140, 1193–200. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705549>

Ellis, A., Triggle, C.R., 2003. Endothelium-derived reactive oxygen species: their relationship to endothelium-dependent hyperpolarization and vascular tone. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 81, 1013–28. <https://doi.org/10.1139/y03-106>

Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar, N., Gao, P., Seshasai, S.R.K., Gobin, R., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Ingelsson, E., Lawlor, D.A., Selvin, E., Stampfer, M., Stehouwer, C.D.A., Lewington, S., Pennells, L., Thompson, A., Sattar, N., White, I.R., Ray, K.K., Danesh, J., 2010. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet (London, England)* 375, 2215–22. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60484-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60484-9)

Erel, O., 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin. Biochem.* 38, 1103–11. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008>

Erel, O., 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin. Biochem.* 37, 277–85. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015>

Faria-Silva, R., Duarte, F. V, Santos, R.A.S., 2005. Short-term angiotensin(1-7) receptor MAS stimulation improves endothelial function in normotensive rats. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 46, 948–52. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000174594.17052.33>

Farmer, S.G., Burch, R.M., 1992. Biochemical and molecular pharmacology of kinin receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32, 511–36. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.32.040192.002455>

Feener, E.P., King, G.L., 2001. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: role in cardiovascular disease. *Heart Fail. Monit.* 1, 74–82.

Feingold, K.R., 2000. Oral and Injectable (Non-Insulin) Pharmacological Agents for the Treatment of Type 2 Diabetes, Endotext.

Félétou, M., 2016. Endothelium-Dependent Hyperpolarization and Endothelial Dysfunction. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 67, 373–387. <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000346>

Félétou, M., Vanhoutte, P.M., 1999. The alternative: EDHF. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 31, 15–22. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1998.0840>

Feng, J.-F., Lu, L., Zeng, P., Yang, Y.-H., Luo, J., Yang, Y.-W., Wang, D., 2012. Serum total oxidant/antioxidant status and trace element levels in breast cancer patients. *Int. J. Clin. Oncol.* 17, 575–83. <https://doi.org/10.1007/s10147-011-0327-y>

Fernandes, L., Fortes, Z.B., Nigro, D., Tostes, R.C., Santos, R.A., Catelli De Carvalho, M.H., 2001. Potentiation of bradykinin by angiotensin-(1-7) on arterioles of spontaneously hypertensive rats studied in vivo. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 37, 703–9. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.37.2.703>

Ferrario, C.M., 2010. New Physiological Concepts of the Renin-Angiotensin System From the Investigation of Precursors and Products of Angiotensin I Metabolism. *Hypertension* 55, 445–452. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.145839>

Ferrario, C.M., Trask, A.J., Jessup, J.A., 2005. Advances in biochemical and functional roles of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1–7) in regulation of cardiovascular function. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 289, H2281–H2290. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00618.2005>

Ferreira, A.J., Santos, R.A.S., 2005. Cardiovascular actions of angiotensin-(1-7). *Brazilian J. Med. Biol. Res. = Rev. Bras. Pesqui. medicas e Biol.* 38, 499–507. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2005000400003>

Ferreira, A.J., Santos, R.A.S., Bradford, C.N., Mecca, A.P., Sumners, C., Katovich, M.J., Raizada, M.K., 2010. Therapeutic implications of the vasoprotective axis of the renin-angiotensin system in cardiovascular diseases. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 55, 207–13. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.140145>

Ferreira, A.J., Shenoy, V., Qi, Y., Fraga-Silva, R.A., Santos, R.A.S., Katovich, M.J., Raizada, M.K., 2011. Angiotensin-converting enzyme 2 activation protects against hypertension-induced cardiac fibrosis involving extracellular signal-regulated kinases. *Exp. Physiol.* 96, 287–94. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2010.055277>

Fleming, I., 2016. The factor in EDHF: Cytochrome P450 derived lipid mediators and vascular signaling. *Vascul. Pharmacol.* 86, 31–40. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2016.03.001>

Folli, F., Corradi, D., Fanti, P., Davalli, A., Paez, A., Giaccari, A., Perego, C., Muscogiuri, G., 2011. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus micro- and macrovascular complications: avenues for a mechanistic-based therapeutic approach. *Curr. Diabetes Rev.* 7, 313–24. <https://doi.org/10.2174/157339911797415585>

Forouhi, N.G., Wareham, N.J., 2014. Epidemiology of diabetes. *Medicine (Abingdon)*. 42, 698–702. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2014.09.007>

Forouzanfar, M.H., Alexander, L., Anderson, H.R., Bachman, V.F., Biryukov, S., Brauer, M., Burnett, R., Casey, D., Coates, M.M., Cohen, A., et al., 2015. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 386, 2287–2323. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00128-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00128-2)

Fountain, John; Lappin, S., 2021. Physiology, Renin Angiotensin System.

Fraga-Silva, R.A., Costa-Fraga, F.P., Murça, T.M., Moraes, P.L., Martins Lima, A., Lautner, R.Q., Castro, C.H., Soares, C.M.A., Borges, C.L., Nadu, A.P., Oliveira, M.L., Shenoy, V., Katovich, M.J., Santos, R.A.S., Raizada, M.K., Ferreira, A.J., 2013. Angiotensin-converting enzyme 2 activation improves endothelial function. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 61, 1233–8. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00627>

Freeman, E.J., Chisolm, G.M., Ferrario, C.M., Tallant, E.A., 1996. Angiotensin-(1-7) inhibits vascular smooth muscle cell growth. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 28, 104–8. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.28.1.104>

Fukao, M., Hattori, Y., Kanno, M., Sakuma, I., Kitabatake, A., 1997. Alterations in endothelium-dependent hyperpolarization and relaxation in mesenteric arteries from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.* 121, 1383–91. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701258>

Furchgott, R.F., Zawadzki, J. V, 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288, 373–6. <https://doi.org/10.1038/288373a0>

Gaál, Z., Balogh, I., 2019. Monogenic Forms of Diabetes Mellitus. *Exp. Suppl.* 111, 385–416. https://doi.org/10.1007/978-3-030-25905-1_18

Gagliardini, E., Zoja, C., Benigni, A., 2015. Et and diabetic nephropathy: preclinical and clinical studies. *Semin. Nephrol.* 35, 188–96. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2015.03.003>

Gallagher, P.E., 2004. Inhibition of human lung cancer cell growth by angiotensin-(1-7). *Carcinogenesis* 25, 2045–2052. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgh236>

Gallwitz, B., 2019. Clinical Use of DPP-4 Inhibitors. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00389>

Garabelli, P.J., Modrall, J.G., Penninger, J.M., Ferrario, C.M., Chappell, M.C., 2008. Distinct roles for angiotensin-converting enzyme 2 and carboxypeptidase A in the

processing of angiotensins within the murine heart. *Exp. Physiol.* 93, 613–21. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2007.040246>

Garland, C.J., Dora, K.A., 2017. EDH: endothelium-dependent hyperpolarization and microvascular signalling. *Acta Physiol.* 219, 152–161. <https://doi.org/10.1111/apha.12649>

Garthwaite, J., Charles, S.L., Chess-Williams, R., 1988. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature* 336, 385–8. <https://doi.org/10.1038/336385a0>

Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., Scaccini, C., 2000. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic. Biol. Med.* 29, 1106–14. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(00\)00394-4](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(00)00394-4)

Giani, J.F., Burghi, V., Veiras, L.C., Tomat, A., Muñoz, M.C., Cao, G., Turyn, D., Toblli, J.E., Dominici, F.P., 2012. Angiotensin-(1-7) attenuates diabetic nephropathy in Zucker diabetic fatty rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 302, F1606-15. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00063.2012>

Giani, J.F., Mayer, M.A., Muñoz, M.C., Silberman, E.A., Höcht, C., Taira, C.A., Gironacci, M.M., Turyn, D., Dominici, F.P., 2009. Chronic infusion of angiotensin-(1-7) improves insulin resistance and hypertension induced by a high-fructose diet in rats. *Am. J. Physiol. Metab.* 296, E262–E271. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90678.2008>

Giugliano, D., Ceriello, A., Paolisso, G., 1996. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 19, 257–67. <https://doi.org/10.2337/diacare.19.3.257>

Godínez-Rubí, M., Rojas-Mayorquín, A.E., Ortuño-Sahagún, D., 2013. Nitric oxide donors as neuroprotective agents after an ischemic stroke-related inflammatory reaction. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2013, 297357. <https://doi.org/10.1155/2013/297357>

Golbidi, S., Ebadi, S.A., Laher, I., 2011. Antioxidants in the treatment of diabetes. *Curr. Diabetes Rev.* 7, 106–25. <https://doi.org/10.2174/157339911794940729>

Goodarzi, M.O., 2014. Type 2 Diabetes, in: Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00011-8>

Goto, K., Kitazono, T., 2019. Endothelium-Dependent Hyperpolarization (EDH) in Diabetes: Mechanistic Insights and Therapeutic Implications. *Int. J. Mol. Sci.* 20. <https://doi.org/10.3390/ijms20153737>

Goto, K., Ohtsubo, T., Kitazono, T., 2018. Endothelium-Dependent Hyperpolarization (EDH) in Hypertension: The Role of Endothelial Ion Channels. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 315. <https://doi.org/10.3390/ijms19010315>

Goulter, A.B., Goddard, M.J., Allen, J.C., Clark, K.L., 2004. ACE2 gene expression is up-regulated in the human failing heart. *BMC Med.* 2, 19. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-2-19>

Gregnani, M.F., Hungaro, T.G., Martins-Silva, L., Bader, M., Araujo, R.C., 2020. Bradykinin B2 Receptor Signaling Increases Glucose Uptake and Oxidation: Evidence and Open Questions. *Front. Pharmacol.* 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01162>

Haffner, S.M., Lehto, S., Rönkä, T., Pyörälä, K., Laakso, M., 1998. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 339, 229–34. <https://doi.org/10.1056/NEJM199807233390404>

Halcox, J.P.J., Schenke, W.H., Zalos, G., Mincemoyer, R., Prasad, A., Waclawiw, M.A., Nour, K.R.A., Quyyumi, A.A., 2002. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation* 106, 653–8. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000025404.78001.d8>

Halliwell, B., 1999. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.* 31, 261–72. <https://doi.org/10.1080/10715769900300841>

Halliwell, B., 1993. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* 23 Suppl 1, 118–26. <https://doi.org/10.1159/000216921>

Halliwell, B., Clement, M. V, Long, L.H., 2000. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett.* 486, 10–3. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(00\)02197-9](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)02197-9)

Halliwell, B., Whiteman, M., 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br. J. Pharmacol.* 142, 231–55. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705776>

Handa, R.K., Ferrario, C.M., Strandhoy, J.W., 1996. Renal actions of angiotensin-(1-7): in vivo and in vitro studies. *Am. J. Physiol.* 270, F141-7. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1996.270.1.F141>

Hansen, M., Sonne, D.P., Mikkelsen, K.H., Gluud, L.L., Vilsbøll, T., Knop, F.K., 2017. Bile acid sequestrants for glycemic control in patients with type 2 diabetes: A systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Diabetes Complications* 31, 918–927. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2017.01.011>

Harmer, D., Gilbert, M., Borman, R., Clark, K.L., 2002. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. *FEBS Lett.* 532, 107–10. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(02\)03640-2](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(02)03640-2)

Harris, K.H., MacLeod, K.M., 1988. Influence of the endothelium on contractile responses of arteries from diabetic rats. *Eur. J. Pharmacol.* 153, 55–64. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(88\)90587-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(88)90587-0)

He, L., Sabet, A., Djedjos, S., Miller, R., Sun, X., Hussain, M.A., Radovick, S., Wondisford, F.E., 2009. Metformin and insulin suppress hepatic gluconeogenesis through phosphorylation of CREB binding protein. *Cell* 137, 635–46. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.03.016>

Heitsch, H., Brovkovich, S., Malinski, T., Wiemer, G., 2001. Angiotensin-(1-7)-Stimulated Nitric Oxide and Superoxide Release From Endothelial Cells. *Hypertens.* (Dallas, Tex. 1979) 37, 72–76. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.37.1.72>

Hernández Prada, J.A., Ferreira, A.J., Katovich, M.J., Shenoy, V., Qi, Y., Santos, R.A.S., Castellano, R.K., Lampkins, A.J., Gubala, V., Ostrov, D.A., Raizada, M.K., 2008. Structure-based identification of small-molecule angiotensin-converting enzyme 2 activators as novel antihypertensive agents. *Hypertens.* (Dallas, Tex. 1979) 51, 1312–7. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.108944>

Herrington, W., Lacey, B., Sherliker, P., Armitage, J., Lewington, S., 2016. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease. *Circ. Res.* 118, 535–546. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.307611>

Hille, B., 1978. Ionic channels in excitable membranes. Current problems and biophysical approaches. *Biophys. J.* 22, 283–294. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(78\)85489-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(78)85489-7)

Himpens, B., Missiaen, L., Casteels, R., 1995. Ca²⁺ homeostasis in vascular smooth muscle. *J. Vasc. Res.* 32, 207–19. <https://doi.org/10.1159/000159095>

Hoffman, E.L., VonWald, T., Hansen, K., 2015. The metabolic syndrome. *S. D. Med. Spec No*, 24–8.

Hoogwerf, B.J., 2010. Renin–Angiotensin System Blockade and Cardiovascular and Renal Protection. *Am. J. Cardiol.* 105, 30A–35A. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.10.009>

Hosoya, M., Ohashi, J., Sawada, A., Takaki, A., Shimokawa, H., 2010. Combination therapy with olmesartan and azelnidipine improves EDHF-mediated responses in diabetic apolipoprotein E-deficient mice. *Circ. J.* 74, 798–806. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-09-0862>

Houldsworth, A., Hodgkinson, A., Shaw, S., Millward, A., Demaine, A.G., 2015. Polymorphic differences in the SOD-2 gene may affect the pathogenesis of nephropathy

in patients with diabetes and diabetic complications. *Gene* 569, 41–5. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.04.006>

Huentelman, M.J., Grobe, J.L., Vazquez, J., Stewart, J.M., Mecca, A.P., Katovich, M.J., Ferrario, C.M., Raizada, M.K., 2005. Protection from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis by systemic lentiviral delivery of ACE2 in rats. *Exp. Physiol.* 90, 783–90. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2005.031096>

Hwa, J.J., Ghibaudi, L., Williams, P., Chatterjee, M., 1994. Comparison of acetylcholine-dependent relaxation in large and small arteries of rat mesenteric vascular bed. *Am. J. Physiol.* 266, H952–8. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.266.3.H952>

Iida, Y., Katusic, Z.S., 2000. Mechanisms of cerebral arterial relaxations to hydrogen peroxide. *Stroke* 31, 2224–30. <https://doi.org/10.1161/01.str.31.9.2224>

International Diabetes Federation, 2021a. IDF Diabetes Atlas 10th Edition [WWW Document]. URL <https://diabetesatlas.org/data/en/country/203/tr.html>

International Diabetes Federation, 2021b. IDF Diabetes Atlas 10th Edition [WWW Document]. URL https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf

Iusuf, D., Henning, R.H., van Gilst, W.H., Roks, A.J.M., 2008. Angiotensin-(1–7): Pharmacological properties and pharmacotherapeutic perspectives. *Eur. J. Pharmacol.* 585, 303–312. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.02.090>

Iyer, S.N., Averill, D.B., Chappell, M.C., Yamada, K., Allred, A.J., Ferrario, C.M., 2000. Contribution of angiotensin-(1-7) to blood pressure regulation in salt-depleted hypertensive rats. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 36, 417–22. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.36.3.417>

Jackson, C. V, Carrier, G.O., 1981. Supersensitivity of isolated mesenteric arteries to noradrenaline in the long-term experimental diabetic rat. *J. Auton. Pharmacol.* 1, 399–405. <https://doi.org/10.1111/j.1474-8673.1981.tb00079.x>

Jaffa, A.A., Durazo-Arvizu, R., Zheng, D., Lackland, D.T., Srikanth, S., Garvey, W.T., Schmaier, A.H., DCCT/EDIC Study Group, 2003. Plasma prekallikrein: a risk marker for hypertension and nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes* 52, 1215–21. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.5.1215>

Jarrett, R.J., 1989. Cardiovascular disease and hypertension in diabetes mellitus, in: *Diabetes Metabolism Reviews*. pp. 547–558. <https://doi.org/10.1002/dmr.5610050702>

Jiang, T., Gao, L., Shi, J., Lu, J., Wang, Y., Zhang, Y., 2013. Angiotensin-(1-7) modulates renin-angiotensin system associated with reducing oxidative stress and attenuating neuronal apoptosis in the brain of hypertensive rats. *Pharmacol. Res.* 67, 84–93. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.10.014>

Jin, J., Wang, X., Zhi, X., Meng, D., 2019. Epigenetic regulation in diabetic vascular complications. *J. Mol. Endocrinol.* 63, R103–R115. <https://doi.org/10.1530/JME-19-0170>

Johansen, J.S., Harris, A.K., Rychly, D.J., Ergul, A., 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc. Diabetol.* 4, 5. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-4-5>

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, 2510–6. <https://doi.org/10.1161/01.cir.88.6.2510>

Jordan, A.S., McSharry, D.G., Malhotra, A., 2014. Adult obstructive sleep apnoea. *Lancet* 383, 736–747. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60734-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60734-5)

Juutilainen, A., Lehto, S., Rönnemaa, T., Pyörälä, K., Laakso, M., 2005. Type 2 diabetes as a “coronary heart disease equivalent”: an 18-year prospective population-based study in Finnish subjects. *Diabetes Care* 28, 2901–7. <https://doi.org/10.2337/diacare.28.12.2901>

Kajikuri, J., Watanabe, Y., Ito, Y., Ito, R., Yamamoto, T., Itoh, T., 2009. Characteristic changes in coronary artery at the early hyperglycaemic stage in a rat type 2 diabetes model and the effects of pravastatin. *Br. J. Pharmacol.* 158, 621–32. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00348.x>

- Kakleas, K., Soldatou, A., Karachaliou, F., Karavanaki, K., 2015. Associated autoimmune diseases in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus (T1DM). *Autoimmun. Rev.* 14, 781–97. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.05.002>
- Kang, Q., Yang, C., 2020. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. *Redox Biol.* 37, 101799. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101799>
- Kapalka, G.M., 2010. Substances Involved in Neurotransmission, in: *Nutritional and Herbal Therapies for Children and Adolescents*. Elsevier, pp. 71–99. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374927-7.00004-2>
- Kaputlu, I., Ozdem, S., Sadan, G., Gökalp, O., 1999. Effects of diabetes on non-adrenergic, non-cholinergic relaxation induced by GABA and electrical stimulation in the rat isolated duodenum. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 26, 724–8. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.1999.03118.x>
- Karalliedde, J., Gnudi, L., 2016. Diabetes mellitus, a complex and heterogeneous disease, and the role of insulin resistance as a determinant of diabetic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant* 31, 206–13. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfu405>
- Karamanou, M., Protogerou, A., Tsoucalas, G., Androutsos, G., Poulakou-Rebelakou, E., 2016. Milestones in the history of diabetes mellitus: The main contributors. *World J. Diabetes* 7, 1–7. <https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i1.1>
- Kasap, S., Gönenç, A., Sener, D.E., Hisar, I., 2007. Serum cardiac markers in patients with acute myocardial infarction: oxidative stress, C-reactive protein and N-terminal probrain natriuretic Peptide. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 41, 50–7. <https://doi.org/10.3164/jcbn.2007007>
- Katsoulis, K., Kontakiotis, T., Baltopoulos, G., Kotsovili, A., Legakis, I.N., 2005. Total antioxidant status and severity of community-acquired pneumonia: are they correlated? *Respiration*. 72, 381–7. <https://doi.org/10.1159/000086252>

- Kaur, R., Kaur, M., Singh, J., 2018. Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: molecular insights and therapeutic strategies. *Cardiovasc. Diabetol.* 17, 121. <https://doi.org/10.1186/s12933-018-0763-3>
- Kayama, Y., Raaz, U., Jagger, A., Adam, M., Schellinger, I.N., Sakamoto, M., Suzuki, H., Toyama, K., Spin, J.M., Tsao, P.S., 2015. Diabetic Cardiovascular Disease Induced by Oxidative Stress. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 25234–63. <https://doi.org/10.3390/ijms161025234>
- Kim, S.-J., Park, J.-H., Kim, K.-H., Lee, W.-R., Pak, S.C., Han, S.-M., Park, K.-K., 2012. The Protective Effect of Apamin on LPS/Fat-Induced Atherosclerotic Mice. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* 2012, 305454. <https://doi.org/10.1155/2012/305454>
- Kleppisch, T., 2009. Phosphodiesterases in the central nervous system. *Handb. Exp. Pharmacol.* 71–92. https://doi.org/10.1007/978-3-540-68964-5_5
- Komers, R., Anderson, S., 2001. Treatment of hypertension in diabetic patients with nephropathy. *Curr. Diab. Rep.* 1, 251–60. <https://doi.org/10.1007/s11892-001-0043-5>
- Kono, T., Taniguchi, A., Imura, H., Oseko, F., Khosla, M.C., 1986. Biological activities of angiotensin II-(1-6)-hexapeptide and angiotensin II-(1-7)-heptapeptide in man. *Life Sci.* 38, 1515–9. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(86\)90565-5](https://doi.org/10.1016/0024-3205(86)90565-5)
- Korkmaz, G.G., Konukoglu, D., Kurtulus, E.M., Irmak, H., Bolayirli, M., Uzun, H., 2013. Total antioxidant status and markers of oxidative stress in subjects with normal or impaired glucose regulation (IFG, IGT) in diabetic patients. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 73, 641–9. <https://doi.org/10.3109/00365513.2013.846477>
- Lacza, Z., Puskar, M., Kis, B., Perciaccante, J. V., Miller, A.W., Busija, D.W., 2002. Hydrogen peroxide acts as an EDHF in the piglet pial vasculature in response to bradykinin. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 283, H406–H411. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00007.2002>
- Lakhtakia, R., 2013. The history of diabetes mellitus. *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* 13, 368–70. <https://doi.org/10.12816/0003257>

- Lang, C.C., Struthers, A.D., 2013. Targeting the renin–angiotensin–aldosterone system in heart failure. *Nat. Rev. Cardiol.* 10, 125–134. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2012.196>
- Langeveld, B., van Gilst, W.H., Tio, R.A., Zijlstra, F., Roks, A.J.M., 2005. Angiotensin-(1–7) Attenuates Neointimal Formation After Stent Implantation in the Rat. *Hypertension* 45, 138–141. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000149382.83973.c2>
- Laragh, J.H., Case, D.B., Wallace, J.M., Keim, H., 1977. Blockade of renin or angiotensin for understanding human hypertension: a comparison of propranolol, saralasin and converting enzyme blockade. *Fed. Proc.* 36, 1781–7.
- Lash, J.M., Bohlen, H.G., 1991. Structural and functional origins of suppressed acetylcholine vasodilation in diabetic rat intestinal arterioles. *Circ. Res.* 69, 1259–68. <https://doi.org/10.1161/01.res.69.5.1259>
- Lebovitz, H.E., Feinglos, M.N., Bucholtz, H.K., Lebovitz, F.L., 1977. Potentiation of insulin action: a probable mechanism for the anti-diabetic action of sulfonylurea drugs. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45, 601–4. <https://doi.org/10.1210/jcem-45-3-601>
- Lee, T.-I., Kao, Y.-H., Chen, Y.-C., Huang, J.-H., Hsiao, F.-C., Chen, Y.-J., 2013. Peroxisome proliferator-activated receptors modulate cardiac dysfunction in diabetic cardiomyopathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 100, 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.01.008>
- Lee, W.-R., Kim, K.-H., An, H.-J., Kim, J.-Y., Lee, S.-J., Han, S.-M., Pak, S.C., Park, K., 2014. Apamin inhibits hepatic fibrosis through suppression of transforming growth factor β 1-induced hepatocyte epithelial-mesenchymal transition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 450, 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.05.089>
- Lenda, D.M., Sauls, B.A., Boegehold, M.A., 2000. Reactive oxygen species may contribute to reduced endothelium-dependent dilation in rats fed high salt. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 279, H7–H14. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2000.279.1.H7>

- Leo, C.-H., Hart, J.L., Woodman, O.L., 2011. 3',4'-Dihydroxyflavonol reduces superoxide and improves nitric oxide function in diabetic rat mesenteric arteries. *PLoS One* 6, e20813. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020813>
- Li, H., Förstermann, U., 2000. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J. Pathol.* 190, 244–54. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(200002\)190:3<244::AID-PATH575>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<244::AID-PATH575>3.0.CO;2-8)
- Li, P., Chappell, M.C., Ferrario, C.M., Brosnihan, K.B., 1997. Angiotensin-(1-7) augments bradykinin-induced vasodilation by competing with ACE and releasing nitric oxide. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 29, 394–400. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.29.1.394>
- Li, W., Huang, E., Gao, S., 2017. Type 1 Diabetes Mellitus and Cognitive Impairments: A Systematic Review. *J. Alzheimers. Dis.* 57, 29–36. <https://doi.org/10.3233/JAD-161250>
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P., 2018. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging* 13, 757–772. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>
- Lim, S.-C., Koh, A.F.Y., Goh, S.K., Chua, C.-L., Heng, B.-L., Subramaniam, T., Sum, C.-F., 2007. Angiotensin receptor antagonist vs. angiotensin-converting enzyme inhibitor in Asian subjects with type 2 diabetes and albuminuria - a randomized crossover study. *Diabetes. Obes. Metab.* 9, 477–82. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2006.00623.x>
- Lin, X., Xu, Y., Pan, X., Xu, J., Ding, Y., Sun, X., Song, X., Ren, Y., Shan, P.-F., 2020. Global, regional, and national burden and trend of diabetes in 195 countries and territories: an analysis from 1990 to 2025. *Sci. Rep.* 10, 14790. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71908-9>
- Litwak, L., Goh, S.-Y., Hussein, Z., Malek, R., Prusty, V., Khamseh, M.E., 2013. Prevalence of diabetes complications in people with type 2 diabetes mellitus and its association with baseline characteristics in the multinational Alchieve study. *Diabetol. Metab. Syndr.* 5, 57. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-5-57>

- Liu, C., Lv, X.-H., Li, H.-X., Cao, X., Zhang, F., Wang, L., Yu, M., Yang, J.-K., 2012. Angiotensin-(1-7) suppresses oxidative stress and improves glucose uptake via Mas receptor in adipocytes. *Acta Diabetol.* 49, 291–9. <https://doi.org/10.1007/s00592-011-0348-z>
- Liu, L., Zheng, T., Wang, N., Wang, F., Li, M., Jiang, J., Zhao, R., Li, L., Zhao, W., Zhu, Q., Jia, W., 2009. The manganese superoxide dismutase Val16Ala polymorphism is associated with decreased risk of diabetic nephropathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Mol. Cell. Biochem.* 322, 87–91. <https://doi.org/10.1007/s11010-008-9943-x>
- Liu, M., Hoskins, A., Verma, N., Bers, D.M., Despa, S., Despa, F., 2018. Amylin and diabetic cardiomyopathy – amylin-induced sarcolemmal Ca²⁺ leak is independent of diabetic remodeling of myocardium. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* 1864, 1923–1930. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.10.024>
- Lombard, J.H., Sylvester, F.A., Phillips, S.A., Frisbee, J.C., 2003. High-salt diet impairs vascular relaxation mechanisms in rat middle cerebral arteries. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 284, H1124-33. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00835.2002>
- Loot, A.E., Roks, A.J.M., Henning, R.H., Tio, R.A., Suurmeijer, A.J.H., Boomsma, F., van Gilst, W.H., 2002. Angiotensin-(1-7) attenuates the development of heart failure after myocardial infarction in rats. *Circulation* 105, 1548–50. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000013847.07035.b9>
- Lopez Vicchi, F., Luque, G.M., Brie, B., Nogueira, J.P., Garcia Tornadu, I., Becu-Villalobos, D., 2016. Dopaminergic drugs in type 2 diabetes and glucose homeostasis. *Pharmacol. Res.* 109, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.12.029>
- Lounsbury, K.M., Hu, Q., Ziegelstein, R.C., 2000. Calcium signaling and oxidant stress in the vasculature. *Free Radic. Biol. Med.* 28, 1362–9. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(00\)00222-7](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(00)00222-7)
- Lowry, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–75.

MacGregor, G.A., 1987. The importance of the response of the renin-angiotensin system in determining blood pressure changes with sodium restriction. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 23 Suppl 1, 21S-26S. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1987.tb03119.x>

MacKenzie, A., Cooper, E.J., Dowell, F.J., 2008. Differential effects of glucose on agonist-induced relaxations in human mesenteric and subcutaneous arteries. *Br. J. Pharmacol.* 153, 480–7. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707592>

MacLeod, K.M., 1985. The effect of insulin treatment on changes in vascular reactivity in chronic, experimental diabetes. *Diabetes* 34, 1160–7. <https://doi.org/10.2337/diab.34.11.1160>

Marcus, Y., Shefer, G., Sasson, K., Kohen, F., Limor, R., Pappo, O., Nevo, N., Biton, I., Bach, M., Berkutski, T., Fridkin, M., Benayahu, D., Shechter, Y., Stern, N., 2013. Angiotensin 1-7 as Means to Prevent the Metabolic Syndrome. *Diabetes* 62, 1121–1130. <https://doi.org/10.2337/db12-0792>

Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B., 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 17, 24–38. <https://doi.org/10.1002/jbt.10058>

Marrazzo, G., Barbagallo, I., Galvano, F., Malaguarnera, M., Gazzolo, D., Frigiola, A., D’Orazio, N., Li Volti, G., 2014. Role of dietary and endogenous antioxidants in diabetes. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 1599–616. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.644874>

Martín-Gallán, P., Carrascosa, A., Gussinyé, M., Domínguez, C., 2003. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. *Free Radic. Biol. Med.* 34, 1563–74. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(03\)00185-0](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(03)00185-0)

Martin, L.J., 2008. DNA damage and repair: relevance to mechanisms of neurodegeneration. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 67, 377–87. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31816ff780>

- Martinez-Cuesta, M.A., Massuda, H., Whittle, B.J., Moncada, S., 1995. Impairment of nitrenergic-mediated relaxation of rat isolated duodenum by experimental diabetes. *Br. J. Pharmacol.* 114, 919–24. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1995.tb13291.x>
- Materson, B.J., Preston, R.A., 1994. Angiotensin-converting enzyme inhibitors in hypertension. A dozen years of experience. *Arch. Intern. Med.* 154, 513–23.
- Materson, B.J., Reda, D.J., Cushman, W.C., Massie, B.M., Freis, E.D., Kochar, M.S., Hamburger, R.J., Fye, C., Lakshman, R., Gottdiener, J., 1993. Single-drug therapy for hypertension in men. A comparison of six antihypertensive agents with placebo. The Department of Veterans Affairs Cooperative Study Group on Antihypertensive Agents. *N. Engl. J. Med.* 328, 914–21. <https://doi.org/10.1056/NEJM199304013281303>
- Matoba, T., Shimokawa, H., 2003. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in animals and humans. *J. Pharmacol. Sci.* 92, 1–6. <https://doi.org/10.1254/jphs.92.1>
- Matoba, T., Shimokawa, H., Nakashima, M., Hirakawa, Y., Mukai, Y., Hirano, K., Kanaide, H., Takeshita, A., 2000. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in mice. *J. Clin. Invest.* 106, 1521–30. <https://doi.org/10.1172/JCI10506>
- Matsumoto, T., Ishida, K., Taguchi, K., Kobayashi, T., Kamata, K., 2010. Losartan normalizes endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated relaxation by activating Ca^{2+} -activated K^{+} channels in mesenteric artery from type 2 diabetic GK rat. *J. Pharmacol. Sci.* 112, 299–309. <https://doi.org/10.1254/jphs.09308fp>
- Matsumoto, T., Kobayashi, S., Ando, M., Watanabe, S., Iguchi, M., Taguchi, K., Kobayashi, T., 2017. Impaired endothelium-derived hyperpolarization-type relaxation in superior mesenteric arteries isolated from female Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats. *Eur. J. Pharmacol.* 807, 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.03.062>
- Matsumoto, T., Kobayashi, T., Kamata, K., 2006. Mechanisms underlying the impaired EDHF-type relaxation response in mesenteric arteries from Otsuka Long-Evans

Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Eur. J. Pharmacol.* 538, 132–140.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.04.006>

Mayeux, R., 2004. Biomarkers: potential uses and limitations. *NeuroRx* 1, 182–8.
<https://doi.org/10.1602/neurorx.1.2.182>

Mayo Clinic, 2022. Type 2 Diabetes [WWW Document]. URL
<https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/type-2-diabetes/symptoms-causes/syc-20351193#:~:text=There's no cure for type,diabetes medications or insulin therapy.>

McCollum, L.T., Gallagher, P.E., Ann Tallant, E., 2012. Angiotensin-(1–7) abrogates mitogen-stimulated proliferation of cardiac fibroblasts. *Peptides* 34, 380–388.
<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.01.020>

McGuire, J.J., Ding, H., Triggle, C.R., 2001. Endothelium-derived relaxing factors: a focus on endothelium-derived hyperpolarizing factor(s). *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 79, 443–70.

McLeod, D.S., Lefer, D.J., Merges, C., Lutty, G.A., 1995. Enhanced expression of intracellular adhesion molecule-1 and P-selectin in the diabetic human retina and choroid. *Am. J. Pathol.* 147, 642–53.

Miller, C., Moczydlowski, E., Latorre, R., Phillips, M., 1985. Charybdotoxin, a protein inhibitor of single Ca^{2+} -activated K^{+} channels from mammalian skeletal muscle. *Nature* 313, 316–8. <https://doi.org/10.1038/313316a0>

Miller, M.R., Megson, I.L., 2007. Recent developments in nitric oxide donor drugs. *Br. J. Pharmacol.* 151, 305–21. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707224>

MITCHELL, B.D., STERN, M.P., HAFFNER, S.M., HAZUDA, H.P., PATTERSON, J.K., 1990. RISK FACTORS FOR CARDIOVASCULAR MORTALITY IN MEXICAN AMERICANS AND NON-HISPANIC WHITES. *Am. J. Epidemiol.* 131, 423–433.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115517>

Moncada, S., Higgs, A., 1993. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.* 329, 2002–12. <https://doi.org/10.1056/NEJM199312303292706>

- Moncada, S., Palmer, R.M., Higgs, E.A., 1989. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem. Pharmacol.* 38, 1709–15. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(89\)90403-6](https://doi.org/10.1016/0006-2952(89)90403-6)
- Moon, J.-Y., Tanimoto, M., Gohda, T., Hagiwara, S., Yamazaki, T., Ohara, I., Murakoshi, M., Aoki, T., Ishikawa, Y., Lee, S.-H., Jeong, K.-H., Lee, T.-W., Ihm, C.-G., Lim, S.J., Tomino, Y., 2011. Attenuating effect of angiotensin-(1-7) on angiotensin II-mediated NAD(P)H oxidase activation in type 2 diabetic nephropathy of KK-A(y)/Ta mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 300, F1271-82. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00065.2010>
- Mordwinkin, N.M., Meeks, C.J., Jadhav, S.S., Espinoza, T., Roda, N., DiZerega, G.S., Louie, S.G., Rodgers, K.E., 2012. Angiotensin-(1–7) Administration Reduces Oxidative Stress in Diabetic Bone Marrow. *Endocrinology* 153, 2189–2197. <https://doi.org/10.1210/en.2011-2031>
- Moreno, M., Giralt, E., 2015. Three valuable peptides from bee and wasp venoms for therapeutic and biotechnological use: melittin, apamin and mastoparan. *Toxins (Basel)*. 7, 1126–50. <https://doi.org/10.3390/toxins7041126>
- Mori, J., Patel, V.B., Ramprasath, T., Alrob, O.A., DesAulniers, J., Scholey, J.W., Lopaschuk, G.D., Oudit, G.Y., 2014. Angiotensin 1–7 mediates renoprotection against diabetic nephropathy by reducing oxidative stress, inflammation, and lipotoxicity. *Am. J. Physiol. Physiol.* 306, F812–F821. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00655.2013>
- Mourre, C., Fournier, C., Soumireu-Mourat, B., 1997. Apamin, a blocker of the calcium-activated potassium channel, induces neurodegeneration of Purkinje cells exclusively. *Brain Res.* 778, 405–8. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(97\)01165-7](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(97)01165-7)
- Müller-Esterl, W., Iwanaga, S., Nakanishi, S., 1986. Kininogens revisited. *Trends Biochem. Sci.* 11, 336–339. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(86\)90293-8](https://doi.org/10.1016/0968-0004(86)90293-8)
- Mulvany, M.J., Aalkjaer, C., 1990. Structure and function of small arteries. *Physiol. Rev.* 70, 921–61. <https://doi.org/10.1152/physrev.1990.70.4.921>

Mulvany, M.J., Halpern, W., 1977. Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ. Res.* 41, 19–26. <https://doi.org/10.1161/01.res.41.1.19>

Muñoz, M., López-Oliva, M.E., Pinilla, E., Martínez, M.P., Sánchez, A., Rodríguez, C., García-Sacristán, A., Hernández, M., Rivera, L., Prieto, D., 2017. CYP epoxygenase-derived H₂O₂ is involved in the endothelium-derived hyperpolarization (EDH) and relaxation of intrarenal arteries. *Free Radic. Biol. Med.* 106, 168–183. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.02.031>

N Sharma, J., 2016. The Role of Bradykinin System in Type 2 Diabetes. *J. Diabetes Metab.* 07. <https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000658>

Nakayasu, T., Nagasawa, S., 1979. Studies on human kininogens. I. Isolation, characterization, and cleavage by plasma kallikrein of high molecular weight (HMW)-kininogen. *J. Biochem.* 85, 249–58. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a132318>

Nam, S.M., Lee, M.Y., Koh, J.H., Park, J.H., Shin, J.Y., Shin, Y.G., Koh, S.B., Lee, E.Y., Chung, C.H., 2009. Effects of NADPH oxidase inhibitor on diabetic nephropathy in OLETF rats: The role of reducing oxidative stress in its protective property. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 83, 176–182. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2008.10.007>

Neaton, J.D., Grimm, R.H., Prineas, R.J., Stamler, J., Grandits, G.A., Elmer, P.J., Cutler, J.A., Flack, J.M., Schoenberger, J.A., McDonald, R., 1993. Treatment of Mild Hypertension Study. Final results. Treatment of Mild Hypertension Study Research Group. *JAMA* 270, 713–24.

Neves, L.A.A., Almeida, A.P., Khosla, M.C., Campagnole-Santos, M.J., Santos, R.A.S., 1997. Effect of angiotensin-(1-7) on reperfusion arrhythmias in isolated rat hearts. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 30, 801–809. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X1997000600016>

Nguyen Dinh Cat, A., Touyz, R.M., 2011. A new look at the renin–angiotensin system—Focusing on the vascular system. *Peptides* 32, 2141–2150. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.09.010>

Nishikawa, T., Edelstein, D., Brownlee, M., 2000a. The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney Int. Suppl.* 77, S26–30. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.07705.x>

Nishikawa, T., Edelstein, D., Du, X.L., Yamagishi, S., Matsumura, T., Kaneda, Y., Yorek, M.A., Beebe, D., Oates, P.J., Hammes, H.P., Giardino, I., Brownlee, M., 2000b. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 404, 787–90. <https://doi.org/10.1038/35008121>

Niu, M.-J., Yang, J.-K., Lin, S.-S., Ji, X.-J., Guo, L.-M., 2008. Loss of angiotensin-converting enzyme 2 leads to impaired glucose homeostasis in mice. *Endocrine* 34, 56–61. <https://doi.org/10.1007/s12020-008-9110-x>

Nohl, H., Gille, L., Staniek, K., 2005. Intracellular generation of reactive oxygen species by mitochondria. *Biochem. Pharmacol.* 69, 719–23. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.12.002>

Nomiyama, T., Tanaka, Y., Piao, L., Nagasaka, K., Sakai, K., Ogihara, T., Nakajima, K., Watada, H., Kawamori, R., 2003. The polymorphism of manganese superoxide dismutase is associated with diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients. *J. Hum. Genet.* 48, 138–41. <https://doi.org/10.1007/s100380300021>

Ola, M.S., Alhomida, A.S., Ferrario, C.M., Ahmad, S., 2017. Role of Tissue Renin-angiotensin System and the Chymase/angiotensin-(1-12) Axis in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *Curr. Med. Chem.* 24, 3104–3114. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170407141955>

Oliveira, M.A., Fortes, Z.B., Santos, R.A., Kosla, M.C., De Carvalho, M.H., 1999. Synergistic effect of angiotensin-(1-7) on bradykinin arteriolar dilation in vivo. *Peptides* 20, 1195–201. [https://doi.org/10.1016/s0196-9781\(99\)00123-0](https://doi.org/10.1016/s0196-9781(99)00123-0)

- Ondetti, M.A., Rubin, B., Cushman, D.W., 1977. Design of Specific Inhibitors of Angiotensin-Converting Enzyme: New Class of Orally Active Antihypertensive Agents. *Science* (80-.). 196, 441–444. <https://doi.org/10.1126/science.191908>
- Oniki, H., Fujii, K., Kansui, Y., Goto, K., Iida, M., 2006. Effects of angiotensin II receptor antagonist on impaired endothelium-dependent and endothelium-independent relaxations in type II diabetic rats. *J. Hypertens.* 24, 331–338. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000200518.34980.cc>
- Oniki, H., Goto, K., Fujii, K., Kansui, Y., Murakami, N., Ohtsubo, T., Matsumura, K., Kitazono, T., 2013. Effects of the superoxide dismutase mimetic tempol on impaired endothelium-dependent and endothelium-independent relaxations in type II diabetic rats. *Clin. Exp. Hypertens.* 35, 112–9. <https://doi.org/10.3109/10641963.2012.702829>
- Osterreicher, C.H., Schultheiss, J., Wehler, M., Homann, N., Hellerbrand, C., Künzli, B., Friess, H., Seitz, H.K., Stickel, F., 2007. Genetic polymorphisms of manganese-superoxide dismutase and glutathione-S-transferase in chronic alcoholic pancreatitis. *Mutagenesis* 22, 305–10. <https://doi.org/10.1093/mutage/gem017>
- Österreicher, C.H., Taura, K., De Minicis, S., Seki, E., Penz-Österreicher, M., Kodama, Y., Kluwe, J., Schuster, M., Oudit, G.Y., Penninger, J.M., Brenner, D.A., 2009. Angiotensin-converting-enzyme 2 inhibits liver fibrosis in mice. *Hepatology* 50, 929–938. <https://doi.org/10.1002/hep.23104>
- Owen, M.P., Carrier, G.O., 1980. Calcium dependence of norepinephrine-induced vascular contraction in experimental diabetes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 212, 253–8.
- Oza, N.B., Schwartz, J.H., Goud, H.D., Levinsky, N.G., 1990. Rat aortic smooth muscle cells in culture express kallikrein, kininogen, and bradykininase activity. *J. Clin. Invest.* 85, 597–600. <https://doi.org/10.1172/JCI114479>
- Oztürk, Y., Altan, V.M., Yildizoğlu-Ari, N., 1996. Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol. Rev.* 48, 69–112.

- Padhi, S., Nayak, A.K., Behera, A., 2020. Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. *Biomed. Pharmacother.* 131, 110708. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110708>
- Pandolfi, A., De Filippis, E.A., 2007. Chronic hyperglycemia and nitric oxide bioavailability play a pivotal role in pro-atherogenic vascular modifications. *Genes Nutr.* 2, 195–208. <https://doi.org/10.1007/s12263-007-0050-5>
- Pannirselvam, M., Anderson, T.J., Triggle, C.R., 2003. Endothelial cell dysfunction in type I and II diabetes: The cellular basis for dysfunction. *Drug Dev. Res.* 58, 28–41. <https://doi.org/10.1002/ddr.10127>
- Pannirselvam, M., Ding, H., Anderson, T.J., Triggle, C.R., 2006. Pharmacological characteristics of endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated relaxation of small mesenteric arteries from db/db mice. *Eur. J. Pharmacol.* 551, 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.08.086>
- Pannirselvam, M., Verma, S., Anderson, T.J., Triggle, C.R., 2002. Cellular basis of endothelial dysfunction in small mesenteric arteries from spontaneously diabetic (db/db -/-) mice: role of decreased tetrahydrobiopterin bioavailability. *Br. J. Pharmacol.* 136, 255–63. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704683>
- Park, Y., Capobianco, S., Gao, X., Falck, J.R., Dellsperger, K.C., Zhang, C., 2008. Role of EDHF in type 2 diabetes-induced endothelial dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 295, H1982–8. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01261.2007>
- Partanen, J., Niskanen, L., Lehtinen, J., Mervaala, E., Siitonen, O., Uusitupa, M., 1995. Natural history of peripheral neuropathy in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 333, 89–94. <https://doi.org/10.1056/NEJM1995071333330203>
- Paul, M., Poyan Mehr, A., Kreutz, R., 2006. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol. Rev.* 86, 747–803. <https://doi.org/10.1152/physrev.00036.2005>

- Paul, M., Wagner, J., Dzau, V.J., 1993. Gene expression of the renin-angiotensin system in human tissues. Quantitative analysis by the polymerase chain reaction. *J. Clin. Invest.* 91, 2058–64. <https://doi.org/10.1172/JCI116428>
- Paula, R.D., Lima, C. V, Khosla, M.C., Santos, R.A., 1995. Angiotensin-(1-7) potentiates the hypotensive effect of bradykinin in conscious rats. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 26, 1154–9. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.26.6.1154>
- Pazdro, R., Burgess, J.R., 2010. The role of vitamin E and oxidative stress in diabetes complications. *Mech. Ageing Dev.* 131, 276–86. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2010.03.005>
- Peach, M.J., 1977. Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. *Physiol. Rev.* 57, 313–70. <https://doi.org/10.1152/physrev.1977.57.2.313>
- Peiró, C., Vallejo, S., Gembardt, F., Azcutia, V., Heringer-Walther, S., Rodríguez-Mañas, L., Schultheiss, H.-P., Sánchez-Ferrer, C.F., Walther, T., 2007. Endothelial dysfunction through genetic deletion or inhibition of the G protein-coupled receptor Mas: a new target to improve endothelial function. *J. Hypertens.* 25, 2421–5. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e3282f0143c>
- Perico, N., Benigni, A., Remuzzi, G., 2008. Present and future drug treatments for chronic kidney diseases: evolving targets in renoprotection. *Nat. Rev. Drug Discov.* 7, 936–53. <https://doi.org/10.1038/nrd2685>
- Pernomian, Larissa, Gomes, M.S., Pernomian, Laena, Moreira, R.P., Corrêa, F.M.A., de Oliveira, A.M., 2015. Vasoprotective effects of neurocompensatory response to balloon injury during diabetes involve the improvement of Mas signaling by TGFβ1 activation. *Vascul. Pharmacol.* 64, 36–48. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2015.01.001>
- Petty, W.J., Miller, A.A., McCoy, T.P., Gallagher, P.E., Tallant, E.A., Torti, F.M., 2009. Phase I and Pharmacokinetic Study of Angiotensin-(1-7), an Endogenous Antiangiogenic Hormone. *Clin. Cancer Res.* 15, 7398–7404. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-1957>

- Pieper, G.M., 1999. Enhanced, unaltered and impaired nitric oxide-mediated endothelium-dependent relaxation in experimental diabetes mellitus: importance of disease duration. *Diabetologia* 42, 204–13. <https://doi.org/10.1007/s001250051140>
- Pisoschi, A.M., Negulescu, G.P., 2012. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochem. Anal. Biochem.* 01. <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000106>
- Pisoschi, A.M., Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur. J. Med. Chem.* 97, 55–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
- Politi, C., Ciccacci, C., D’Amato, C., Novelli, G., Borgiani, P., Spallone, V., 2016. Recent advances in exploring the genetic susceptibility to diabetic neuropathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 120, 198–208. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2016.08.006>
- Polizio, A.H., Gironacci, M.M., Tomaro, M.L., Peña, C., 2007. Angiotensin-(1-7) blocks the angiotensin II-stimulated superoxide production. *Pharmacol. Res.* 56, 86–90. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.04.004>
- Polyzos, S.A., Mantzoros, C.S., 2021. Diabetes mellitus: 100 years since the discovery of insulin. *Metabolism*. 118, 154737. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2021.154737>
- Pourvali, K., Abbasi, M., Mottaghi, A., 2016. Role of Superoxide Dismutase 2 Gene Ala16Val Polymorphism and Total Antioxidant Capacity in Diabetes and its Complications. *Avicenna J. Med. Biotechnol.* 8, 48–56.
- Prabodha, L.B.L., Sirisena, N.D., Dissanayake, V.H.W., 2018. Susceptible and Prognostic Genetic Factors Associated with Diabetic Peripheral Neuropathy: A Comprehensive Literature Review. *Int. J. Endocrinol.* 2018, 8641942. <https://doi.org/10.1155/2018/8641942>
- Pricci, F., Leto, G., Amadio, L., Iacobini, C., Cordone, S., Catalano, S., Zicari, A., Sorcini, M., Di Mario, U., Pugliese, G., 2003. Oxidative stress in diabetes-induced endothelial

dysfunction involvement of nitric oxide and protein kinase C. *Free Radic. Biol. Med.* 35, 683–94. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(03\)00401-5](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(03)00401-5)

Priya, G., Kalra, S., Bahendeka, S., Jawad, F., Aye, T.T., Shahjada, S., Sehgal, A., Uloko, A., Ruder, S., Somasundaram, N., Naseri, M.W., Chaudhary, S., 2020. Initiation of basal bolus insulin therapy. *J. Pak. Med. Assoc.* 70, 1462–1467.

Proks, P., Reimann, F., Green, N., Gribble, F., Ashcroft, F., 2002. Sulfonylurea stimulation of insulin secretion. *Diabetes* 51 Suppl 3, S368-76. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.2007.s368>

Putnam, K., Shoemaker, R., Yiannikouris, F., Cassis, L.A., 2012. The renin-angiotensin system: a target of and contributor to dyslipidemias, altered glucose homeostasis, and hypertension of the metabolic syndrome. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 302, H1219-30. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00796.2011>

Rabelo, L.A., Alenina, N., Bader, M., 2011. ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas axis and oxidative stress in cardiovascular disease. *Hypertens. Res.* 34, 154–60. <https://doi.org/10.1038/hr.2010.235>

Rabelo, L.A., Cortes, S.F., Alvarez-Leite, J.I., Lemos, V.S., 2003. Endothelium dysfunction in LDL receptor knockout mice: a role for H₂O₂. *Br. J. Pharmacol.* 138, 1215–20. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705164>

Raffai, G., Durand, M.J., Lombard, J.H., 2011. Acute and chronic angiotensin-(1-7) restores vasodilation and reduces oxidative stress in mesenteric arteries of salt-fed rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 301, H1341-52. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00202.2011>

Raffai, G., Lombard, J.H., 2016. Angiotensin-(1-7) Selectively Induces Relaxation and Modulates Endothelium-Dependent Dilation in Mesenteric Arteries of Salt-Fed Rats. *J. Vasc. Res.* 53, 105–118. <https://doi.org/10.1159/000448714>

Rahimi, R., Nikfar, S., Larijani, B., Abdollahi, M., 2005. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed. Pharmacother.* 59, 365–73. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2005.07.002>

Rakušan, D., Bürgelová, M., Vaněčková, I., Vaňourková, Z., Husková, Z., Škaroupková, P., Mrázová, I., Opočenský, M., Kramer, H.J., Netuka, I., Malý, J., Alenina, N., Bader, M., Santos, R.A.S., Červenka, L., 2010. Knockout of Angiotensin 1–7 Receptor Mas Worsens the Course of Two-Kidney, One-Clip Goldblatt Hypertension: Roles of Nitric Oxide Deficiency and Enhanced Vascular Responsiveness to Angiotensin II. *Kidney Blood Press. Res.* 33, 476–488. <https://doi.org/10.1159/000320689>

Rangachari, P.K., 1998. The fate of released histamine: reception, response and termination. *Yale J. Biol. Med.* 71, 173–82.

Rani, A.J., Mythili, S. V., 2014. Study on total antioxidant status in relation to oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Diagn. Res.* 8, 108–10. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/7603.4121>

Ranjit, A., Khajehpour, S., Aghazadeh-Habashi, A., 2021. Update on Angiotensin II Subtype 2 Receptor: Focus on Peptide and Nonpeptide Agonists. *Mol. Pharmacol.* 99, 469–487. <https://doi.org/10.1124/molpharm.121.000236>

Rao, G.N., Runge, M.S., Alexander, R.W., 1995. Hydrogen peroxide activation of cytosolic phospholipase A2 in vascular smooth muscle cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1265, 67–72. [https://doi.org/10.1016/0167-4889\(95\)91997-z](https://doi.org/10.1016/0167-4889(95)91997-z)

Rao Kondapally Seshasai, S., Kaptoge, S., Thompson, A., Di Angelantonio, E., Gao, P., Sarwar, N., Whincup, P.H., Mukamal, K.J., Gillum, R.F., Holme, I., Njølstad, I., Fletcher, A., Nilsson, P., Lewington, S., Collins, R., Gudnason, V., Thompson, S.G., Sattar, N., Selvin, E., Hu, F.B., Danesh, J., Emerging Risk Factors Collaboration, 2011. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *N. Engl. J. Med.* 364, 829–841. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1008862>

- Ren, Y., Garvin, J.L., Carretero, O.A., 2002. Vasodilator action of angiotensin-(1-7) on isolated rabbit afferent arterioles. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 39, 799–802. <https://doi.org/10.1161/hy0302.104673>
- Rhoades, R.A., Packer, C.S., Roepke, D.A., Jin, N., Meiss, R.A., 1990. Reactive oxygen species alter contractile properties of pulmonary arterial smooth muscle. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 68, 1581–9. <https://doi.org/10.1139/y90-241>
- Ribeiro-Oliveira, A., Nogueira, A.I., Pereira, R.M., Boas, W.W.V., Dos Santos, R.A.S., Simões e Silva, A.C., 2008. The renin-angiotensin system and diabetes: an update. *Vasc. Health Risk Manag.* 4, 787–803.
- Rice, G.I., Thomas, D.A., Grant, P.J., Turner, A.J., Hooper, N.M., 2004. Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ACE), its homologue ACE2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism. *Biochem. J.* 383, 45–51. <https://doi.org/10.1042/BJ20040634>
- Richardson, A., Park, W.G., 2021. Acute pancreatitis and diabetes mellitus: a review. *Korean J. Intern. Med.* 36, 15–24. <https://doi.org/10.3904/kjim.2020.505>
- Riera, M., Márquez, E., Clotet, S., Gimeno, J., Roca-Ho, H., Lloreta, J., Juanpere, N., Batlle, D., Pascual, J., Soler, M.J., 2014. Effect of Insulin on ACE2 Activity and Kidney Function in the Non-Obese Diabetic Mouse. *PLoS One* 9, e84683. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084683>
- Rivas, A.M., Nugent, K., 2021. Hyperglycemia, Insulin, and Insulin Resistance in Sepsis. *Am. J. Med. Sci.* 361, 297–302. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2020.11.007>
- Rodgers, K.E., Ellefson, D.D., Espinoza, T., Hsu, Y., DiZerega, G.S., Mehrian-Shai, R., 2006. Expression of intracellular filament, collagen, and collagenase genes in diabetic and normal skin after injury. *Wound Repair Regen.* 14, 298–305. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2006.00124.x>
- Rodríguez-Mañas, L., Angulo, J., Peiró, C., Llergo, J.L., Sánchez-Ferrer, A., López-Dóriga, P., Sánchez-Ferrer, C.F., 1998. Endothelial dysfunction and metabolic control in

streptozotocin-induced diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.* 123, 1495–502. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701749>

Rodríguez-Martínez, M.A., García-Cohen, E.C., Baena, A.B., González, R., Salaíces, M., Marín, J., 1998. Contractile responses elicited by hydrogen peroxide in aorta from normotensive and hypertensive rats. Endothelial modulation and mechanism involved. *Br. J. Pharmacol.* 125, 1329–35. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702200>

Rodríguez-Rangel, S., Bravin, A.D., Ramos-Torres, K.M., Brugarolas, P., Sánchez-Rodríguez, J.E., 2020. Structure-activity relationship studies of four novel 4-aminopyridine K⁺ channel blockers. *Sci. Rep.* 10, 52. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56245-w>

Rodríguez de la Vega, R.C., Merino, E., Becerril, B., Possani, L.D., 2003. Novel interactions between K⁺ channels and scorpion toxins. *Trends Pharmacol. Sci.* 24, 222–7. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(03\)00080-4](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(03)00080-4)

Rogers, P.A., Dick, G.M., Knudson, J.D., Focardi, M., Bratz, I.N., Swafford, A.N., Saitoh, S.-I., Tune, J.D., Chilian, W.M., 2006. H₂O₂-induced redox-sensitive coronary vasodilation is mediated by 4-aminopyridine-sensitive K⁺ channels. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 291, H2473–82. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00172.2006>

Rosenson, R.S., Chen, Q., Najera, S.D., Krishnan, P., Lee, M.L., Cho, D.J., 2019. Ticagrelor improves blood viscosity-dependent microcirculatory flow in patients with lower extremity arterial disease: the Hema-kinesis clinical trial. *Cardiovasc. Diabetol.* 18, 77. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0882-5>

Rosenthal, T., Erlich, Y., Rosenmann, E., Cohen, A., 1997. Effects of enalapril, losartan, and verapamil on blood pressure and glucose metabolism in the Cohen-Rosenthal diabetic hypertensive rat. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 29, 1260–4. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.29.6.1260>

Rowe, B.P., Saylor, D.L., Speth, R.C., Absher, D.R., 1995. Angiotensin-(1-7) binding at angiotensin II receptors in the rat brain. *Regul. Pept.* 56, 139–46. [https://doi.org/10.1016/0167-0115\(95\)00010-9](https://doi.org/10.1016/0167-0115(95)00010-9)

Rubanyi, G.M., Vanhoutte, P.M., 1986. Oxygen-derived free radicals, endothelium, and responsiveness of vascular smooth muscle. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 250, H815–H821. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1986.250.5.H815>

Ruggenenti, P., 2004. Angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II antagonism in nondiabetic chronic nephropathies. *Semin. Nephrol.* 24, 158–67. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2003.11.002>

Ruggenenti, P., Perna, A., Remuzzi, G., 2001. ACE inhibitors to prevent end-stage renal disease: when to start and why possibly never to stop: a post hoc analysis of the REIN trial results. *Ramipril Efficacy in Nephropathy. J. Am. Soc. Nephrol.* 12, 2832–2837. <https://doi.org/10.1681/ASN.V12122832>

Sampaio, Walkyria O, Henrique de Castro, C., Santos, R.A.S., Schiffrin, E.L., Touyz, R.M., 2007. Angiotensin-(1-7) counterregulates angiotensin II signaling in human endothelial cells. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 50, 1093–8. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.106.084848>

Sampaio, W.O., Nascimento, A.A.S., Santos, R.A.S., 2003. Systemic and regional hemodynamic effects of angiotensin-(1-7) in rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 284, H1985-94. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01145.2002>

Sampaio, Walkyria Oliveira, Souza dos Santos, R.A., Faria-Silva, R., da Mata Machado, L.T., Schiffrin, E.L., Touyz, R.M., 2007a. Angiotensin-(1-7) Through Receptor Mas Mediates Endothelial Nitric Oxide Synthase Activation via Akt-Dependent Pathways. *Hypertension* 49, 185–192. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000251865.35728.2f>

Sampaio, Walkyria Oliveira, Souza dos Santos, R.A., Faria-Silva, R., da Mata Machado, L.T., Schiffrin, E.L., Touyz, R.M., 2007b. Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 49, 185–92. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000251865.35728.2f>

Samsu, N., 2021. Diabetic Nephropathy: Challenges in Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. *Biomed Res. Int.* 2021, 1497449. <https://doi.org/10.1155/2021/1497449>

- Sancho, J., Re, R., Burton, J., Barger, A.C., Haber, E., 1976. The role of the renin-angiotensin-aldosterone system in cardiovascular homeostasis in normal human subjects. *Circulation* 53, 400–405. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.53.3.400>
- Santos, R.A., 2014. Angiotensin-(1–7). *Hypertension* 63, 1138–1147. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01274>
- Santos, R.A., Brosnihan, K.B., Jacobsen, D.W., DiCorleto, P.E., Ferrario, C.M., 1992. Production of angiotensin-(1-7) by human vascular endothelium. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 19, II56-61. https://doi.org/10.1161/01.hyp.19.2_suppl.ii56
- Santos, R.A., Campagnole-Santos, M.J., 1994. Central and peripheral actions of angiotensin-(1-7). *Brazilian J. Med. Biol. Res. = Rev. Bras. Pesqui. medicas e Biol.* 27, 1033–47.
- Santos, R.A., Campagnole-Santos, M.J., Andrade, S.P., 2000. Angiotensin-(1-7): an update. *Regul. Pept.* 91, 45–62. [https://doi.org/10.1016/s0167-0115\(00\)00138-5](https://doi.org/10.1016/s0167-0115(00)00138-5)
- Santos, R.A., Ferreira, A.J., 2007. Angiotensin-(1–7) and the renin–angiotensin system. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 16, 122–128. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e328031f362>
- Santos, R.A.S., Castro, C.H., Gava, E., Pinheiro, S.V.B., Almeida, A.P., Paula, R.D. de, Cruz, J.S., Ramos, A.S., Rosa, K.T., Irigoyen, M.C., Bader, M., Alenina, N., Kitten, G.T., Ferreira, A.J., 2006. Impairment of in vitro and in vivo heart function in angiotensin-(1-7) receptor MAS knockout mice. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 47, 996–1002. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000215289.51180.5c>
- Santos, R.A.S., Ferreira, A.J., Verano-Braga, T., Bader, M., 2013. Angiotensin-converting enzyme 2, angiotensin-(1-7) and Mas: new players of the renin-angiotensin system. *J. Endocrinol.* 216, R1–R17. <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0341>
- Santos, Robson A.S., Haibara, A.S., Campagnole-Santos, M.J., Simões e Silva, A.C., Paula, R.D., Pinheiro, S.V.B., de Fátima Leite, M., Lemos, V.S., Silva, D.M.R., Guerra, M.T., Khosla, M.C., 2003. Characterization of a New Selective Antagonist for

Angiotensin-(1–7), <scpd>-Pro⁷-Angiotensin-(1–7). Hypertension 41, 737–743.
<https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000052947.60363.24>

Santos, Robson A S, Simoes e Silva, A.C., Maric, C., Silva, D.M.R., Machado, R.P., de Buhr, I., Heringer-Walther, S., Pinheiro, S.V.B., Lopes, M.T., Bader, M., Mendes, E.P., Lemos, V.S., Campagnole-Santos, M.J., Schultheiss, H.-P., Speth, R., Walther, T., 2003. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 100, 8258–63. <https://doi.org/10.1073/pnas.1432869100>

Santos, S.H.S., Braga, J.F., Mario, E.G., Pôrto, L.C.J., Rodrigues-Machado, M. da G., Murari, A., Botion, L.M., Alenina, N., Bader, M., Santos, R.A.S., 2010. Improved Lipid and Glucose Metabolism in Transgenic Rats With Increased Circulating Angiotensin-(1-7). Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 30, 953–961.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.200493>

Santos, S.H.S., Fernandes, L.R., Pereira, C.S., Guimarães, A.L.S., de Paula, A.M.B., Campagnole-Santos, M.J., Alvarez-Leite, J.I., Bader, M., Santos, R.A.S., 2012. Increased circulating angiotensin-(1–7) protects white adipose tissue against development of a proinflammatory state stimulated by a high-fat diet. Regul. Pept. 178, 64–70.
<https://doi.org/10.1016/j.regpep.2012.06.009>

Savu, O., Ionescu-Tirgoviste, C., Atanasiu, V., Gaman, L., Papacoea, R., Stoian, I., 2012. Increase in total antioxidant capacity of plasma despite high levels of oxidative stress in uncomplicated type 2 diabetes mellitus. J. Int. Med. Res. 40, 709–16.
<https://doi.org/10.1177/147323001204000235>

Schach, C., Resch, M., Schmid, P.M., Riegger, G.A., Endemann, D.H., 2014. Type 2 diabetes: increased expression and contribution of IK Ca channels to vasodilation in small mesenteric arteries of ZDF rats. Am. J. Physiol. Circ. Physiol. 307, H1093–H1102.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00240.2013>

Scheen, A.J., 2003. Is there a role for alpha-glucosidase inhibitors in the prevention of type 2 diabetes mellitus? Drugs 63, 933–51. <https://doi.org/10.2165/00003495-200363100-00002>

- Schiavone, M.T., Santos, R.A., Brosnihan, K.B., Khosla, M.C., Ferrario, C.M., 1988. Release of vasopressin from the rat hypothalamo-neurohypophyseal system by angiotensin-(1-7) heptapeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 85, 4095–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.11.4095>
- Schjørring, O., Kun, A., Flyvbjerg, A., Kirkeby, H.J., Jensen, J.B., Simonsen, U., 2012. Flow-Evoked Vasodilation Is Blunted in Penile Arteries from Zucker Diabetic Fatty Rats. *J. Sex. Med.* 9, 1789–1800. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2012.02743.x>
- Schmidt, A.M., 2018. Highlighting Diabetes Mellitus: The Epidemic Continues. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 38, e1–e8. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.310221>
- Schoeffter, P., Godfraind, T., 1988. Antihistaminic properties of cicletanine in human isolated coronary arteries. *Drugs Exp. Clin. Res.* 14, 159–65.
- Schroeder, K., Sonnevile, K., 2016. Adolescent Nutrition, in: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, pp. 43–50. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00008-8>
- Scott, L.J., 2012. Repaglinide: a review of its use in type 2 diabetes mellitus. *Drugs* 72, 249–72. <https://doi.org/10.2165/11207600-000000000-00000>
- Serafini, M., Del Rio, D., 2004. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? *Redox Rep.* 9, 145–52. <https://doi.org/10.1179/135100004225004814>
- Shahbazian, H., 2013. World diabetes day; 2013. *J. Ren. Inj. Prev.* 2, 123–4. <https://doi.org/10.12861/jrip.2013.39>
- Sharma, J.N., Kesavarao, U., 1996. Cardiac kallikrein in hypertensive and normotensive rats with and without diabetes. *Immunopharmacology* 33, 341–3. [https://doi.org/10.1016/0162-3109\(96\)00104-x](https://doi.org/10.1016/0162-3109(96)00104-x)
- Sheng-Long, C., Yan-Xin, W., Yi-Yi, H., Ming, F., Jian-Gui, H., Yi-Li, C., Wen-Jing, X., Hong, M., 2012. AVE0991, a Nonpeptide Compound, Attenuates Angiotensin II-Induced Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation via Induction of Heme Oxygenase-1 and

Downregulation of p-38 MAPK Phosphorylation. *Int. J. Hypertens.* 2012, 958298. <https://doi.org/10.1155/2012/958298>

Shi, Y., Ku, D.D., Man, R.Y.K., Vanhoutte, P.M., 2006. Augmented endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated relaxations attenuate endothelial dysfunction in femoral and mesenteric, but not in carotid arteries from type I diabetic rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 318, 276–81. <https://doi.org/10.1124/jpet.105.099739>

Shimokawa, H., Yasutake, H., Fujii, K., Owada, M.K., Nakaike, R., Fukumoto, Y., Takayanagi, T., Nagao, T., Egashira, K., Fujishima, M., Takeshita, A., 1996. The importance of the hyperpolarizing mechanism increases as the vessel size decreases in endothelium-dependent relaxations in rat mesenteric circulation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 28, 703–11. <https://doi.org/10.1097/00005344-199611000-00014>

Silva, D.M.R., Gomes-Filho, A., Olivon, V.C., Santos, T.M.S., Becker, L.K., Santos, R.A.S., Lemos, V.S., 2011. Swimming training improves the vasodilator effect of angiotensin-(1-7) in the aorta of spontaneously hypertensive rat. *J. Appl. Physiol.* 111, 1272–7. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00034.2011>

Simões-e-Silva, A.C., Baracho, N.C., Passaglio, K.T., Santos, R.A., 1997. Renal actions of angiotensin-(1-7). *Brazilian J. Med. Biol. Res. = Rev. Bras. Pesqui. medicas e Biol.* 30, 503–13. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x1997000400012>

Singh, M., Mensah, G.A., Bakris, G., 2010. Pathogenesis and Clinical Physiology of Hypertension. *Cardiol. Clin.* 28, 545–559. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2010.07.001>

Singh, V.P., Le, B., Bhat, V.B., Baker, K.M., Kumar, R., 2007. High-glucose-induced regulation of intracellular ANG II synthesis and nuclear redistribution in cardiac myocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 293, H939-48. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00391.2007>

Smuda, C., Bryce, P.J., 2011. New developments in the use of histamine and histamine receptors. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 11, 94–100. <https://doi.org/10.1007/s11882-010-0163-6>

Solis-Herrera, C., Triplitt, C., Reasner, C., DeFronzo, R.A., Cersosimo, E., 2000. Classification of Diabetes Mellitus, Endotext.

Son, D.J., Lee, J.W., Lee, Y.H., Song, H.S., Lee, C.K., Hong, J.T., 2007. Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. *Pharmacol. Ther.* 115, 246–70. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.04.004>

Sonkusare, S.K., Dalsgaard, T., Bonev, A.D., Nelson, M.T., 2016. Inward rectifier potassium (Kir2.1) channels as end-stage boosters of endothelium-dependent vasodilators. *J. Physiol.* 594, 3271–3285. <https://doi.org/10.1113/JP271652>

Sörensen, B.M., Houben, A.J.H.M., Berendschot, T.T.J.M., Schouten, J.S.A.G., Kroon, A.A., van der Kallen, C.J.H., Henry, R.M.A., Koster, A., Sep, S.J.S., Dagnelie, P.C., Schaper, N.C., Schram, M.T., Stehouwer, C.D.A., 2016. Prediabetes and Type 2 Diabetes Are Associated With Generalized Microvascular Dysfunction. *Circulation* 134, 1339–1352. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023446>

Stegbauer, J., Potthoff, S.A., Quack, I., Mergia, E., Clasen, T., Friedrich, S., Vonend, O., Woznowski, M., Königshausen, E., Sellin, L., Rump, L.C., 2011. Chronic treatment with angiotensin-(1-7) improves renal endothelial dysfunction in apolipoproteinE-deficient mice. *Br. J. Pharmacol.* 163, 974–83. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01295.x>

Strawn, W.B., Dean, R.H., Ferrario, C.M., 2000. Novel mechanisms linking angiotensin II and early atherogenesis. *J. Renin. Angiotensin. Aldosterone. Syst.* 1, 11–7. <https://doi.org/10.3317/jraas.2000.001>

Suh, S., Park, M.K., 2017. Glucocorticoid-Induced Diabetes Mellitus: An Important but Overlooked Problem. *Endocrinol. Metab.* (Seoul, Korea) 32, 180–189. <https://doi.org/10.3803/EnM.2017.32.2.180>

Tabaei, S., Tabae, S.S., 2019. DNA methylation abnormalities in atherosclerosis. *Artif. Cells, Nanomedicine, Biotechnol.* 47, 2031–2041. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1617724>

- Tabák, A.G., Akbaraly, T.N., Batty, G.D., Kivimäki, M., 2014. Depression and type 2 diabetes: a causal association? *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2, 236–245. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(13\)70139-6](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(13)70139-6)
- Tajbakhsh, N., Sokoya, E.M., 2014. Compromised Endothelium-Dependent Hyperpolarization-Mediated Dilations can be Rescued by NS309 in Obese Zucker Rats. *Microcirculation* 21, 747–753. <https://doi.org/10.1111/micc.12157>
- Takada, Y., Skidgel, R.A., Erdös, E.G., 1985. Purification of human urinary prokallikrein. Identification of the site of activation by the metalloproteinase thermolysin. *Biochem. J.* 232, 851–8. <https://doi.org/10.1042/bj2320851>
- Takiguchi, Y., Satoh, N., Hashimoto, H., Nakashima, M., 1989. Reversal effect of thyroxine on altered vascular reactivity in diabetic rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 13, 520–4.
- Takimoto-Ohnishi, E., Murakami, K., 2019. Renin–angiotensin system research: from molecules to the whole body. *J. Physiol. Sci.* 69, 581–587. <https://doi.org/10.1007/s12576-019-00679-4>
- Tallant, E.A., Clark, M.A., 2003. Molecular mechanisms of inhibition of vascular growth by angiotensin-(1-7). *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 42, 574–9. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000090322.55782.30>
- Tallant, E.A., Diz, D.I., Ferrario, C.M., 1999. Antiproliferative Actions of Angiotensin-(1-7) in Vascular Smooth Muscle. *Hypertension* 34, 950–957. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.34.4.950>
- Tan, S.Y., Mei Wong, J.L., Sim, Y.J., Wong, S.S., Mohamed Elhassan, S.A., Tan, S.H., Ling Lim, G.P., Rong Tay, N.W., Annan, N.C., Bhattamisra, S.K., Candasamy, M., 2019. Type 1 and 2 diabetes mellitus: A review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* 13, 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.10.008>

- Tangvarasittichai, S., 2015. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World J. Diabetes* 6, 456–80. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i3.456>
- Tattersall, R.B., 2016. The History of Diabetes Mellitus, in: *Textbook of Diabetes*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp. 1–22. <https://doi.org/10.1002/9781118924853.ch1>
- Taylor, P.D., McCarthy, A.L., Thomas, C.R., Poston, L., 1992. Endothelium-dependent relaxation and noradrenaline sensitivity in mesenteric resistance arteries of streptozotocin-induced diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.* 107, 393–9. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1992.tb12757.x>
- Tentolouris, A., Vlachakis, P., Tzeravini, E., Eleftheriadou, I., Tentolouris, N., 2019. SGLT2 Inhibitors: A Review of Their Antidiabetic and Cardioprotective Effects. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 16, 2965. <https://doi.org/10.3390/ijerph16162965>
- Terlau, H., Olivera, B.M., 2004. Conus venoms: a rich source of novel ion channel-targeted peptides. *Physiol. Rev.* 84, 41–68. <https://doi.org/10.1152/physrev.00020.2003>
- Terzić, R., Cilenšek, I., Zorc Pleskovič, R., Mankoč, S., Milutinović, A., 2017. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-related single nucleotide polymorphisms rs10738760 and rs6921438 are not associated with diabetic retinopathy (DR) in Slovenian patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). *Bosn. J. Basic Med. Sci.* <https://doi.org/10.17305/bjbms.2017.2068>
- Than, A., Leow, M.K.-S., Chen, P., 2013. Control of adipogenesis by the autocrine interplays between angiotensin 1-7/Mas receptor and angiotensin II/AT1 receptor signaling pathways. *J. Biol. Chem.* 288, 15520–31. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.459792>
- Thengchaisri, N., Kuo, L., 2003. Hydrogen peroxide induces endothelium-dependent and -independent coronary arteriolar dilation: role of cyclooxygenase and potassium channels. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 285, H2255–63. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00487.2003>

- Thomas, C.C., Philipson, L.H., 2015. Update on Diabetes Classification. *Med. Clin. North Am.* 99, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2014.08.015>
- Tikellis, C., Pickering, R.J., Tsorotes, D., Huet, O., Chin-Dusting, J., Cooper, M.E., Thomas, M.C., 2012. Activation of the Renin-Angiotensin system mediates the effects of dietary salt intake on atherogenesis in the apolipoprotein E knockout mouse. *Hypertens.* (Dallas, Tex. 1979) 60, 98–105. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.191767>
- Tiwari, B.K., Pandey, K.B., Abidi, A.B., Rizvi, S.I., 2013. Markers of Oxidative Stress during Diabetes Mellitus. *J. biomarkers* 2013, 378790. <https://doi.org/10.1155/2013/378790>
- Touyz, R.M., Schiffrin, E.L., 2000. Signal transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *Pharmacol. Rev.* 52, 639–72.
- Townsend, R.R., Holland, O.B., 1990. Combination of converting enzyme inhibitor with diuretic for the treatment of hypertension. *Arch. Intern. Med.* 150, 1175–83.
- Triggle, C.R., Hollenberg, M., Anderson, T.J., Ding, H., Jiang, Y., Ceroni, L., Wiehler, W.B., Ng, E.S.M., Ellis, A., Andrews, K., McGuire, J.J., Pannirselvam, M., 2003. The endothelium in health and disease--a target for therapeutic intervention. *J. Smooth Muscle Res.* 39, 249–67. <https://doi.org/10.1540/jsmr.39.249>
- Triggle, C.R., Samuel, S.M., Ravishankar, S., Marei, I., Arunachalam, G., Ding, H., 2012. The endothelium: influencing vascular smooth muscle in many ways. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 90, 713–38. <https://doi.org/10.1139/y2012-073>
- Tupe, R.S., Diwan, A.G., Mittal, V.D., Narayanam, P.S., Mahajan, K.B., 2014. Association of plasma proteins at multiple stages of glycation and antioxidant status with erythrocyte oxidative stress in patients with type 2 diabetes. *Br. J. Biomed. Sci.* 71, 93–9; quiz 138. <https://doi.org/10.1080/09674845.2014.11669971>

Türkiye Diyabet Vakfı, 2021. Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi [WWW Document]. URL https://www.turkdiab.org/admin/PICS/webfiles/Diyabet_Tani_ve_Tedavi_Rehberi_2021.pdf

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2020. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Klavuzu [WWW Document]. URL https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/20200625154506-2020tbl_kilavuz86bf012d90.pdf

TÜSEB, 2021. Dünya Diyabet Günü [WWW Document]. URL https://www.tuseb.gov.tr/tuhke/uploads/genel/files/dunya_diyabet_gunu_2021_son.pdf

Umans, J.G., Levi, R., 1995. Nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure. *Annu. Rev. Physiol.* 57, 771–90. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.57.030195.004011>

Vajo, Z., Fawcett, J., Duckworth, W.C., 2001. Recombinant DNA technology in the treatment of diabetes: insulin analogs. *Endocr. Rev.* 22, 706–17. <https://doi.org/10.1210/edrv.22.5.0442>

Van Buren, T., Vleeming, W., Krutzen, M.M., Van de Kuil, T., Gispen, W.H., De Wildt, D.J., 1998. Vascular responses of isolated mesenteric resistance and basilar arteries from short- and long-term diabetic rats. *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 358, 663–70. <https://doi.org/10.1007/pl00005309>

Van de Voorde, J., Leusen, I., 1983. Role of the endothelium in the vasodilator response of rat thoracic aorta to histamine. *Eur. J. Pharmacol.* 87, 113–20. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(83\)90056-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(83)90056-0)

van den Heuvel, M., Sorop, O., van Ditzhuijzen, N.S., de Vries, R., van Duin, R.W.B., Peters, I., van Loon, J.E., de Maat, M.P., van Beusekom, H.M., van der Giessen, W.J., Jan Danser, A.H., Duncker, D.J., 2018. The effect of bioresorbable vascular scaffold implantation on distal coronary endothelial function in dyslipidemic swine with and without diabetes. *Int. J. Cardiol.* 252, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.11.037>

van der Wouden, E.A., Ochodnický, P., van Dokkum, R.P., Roks, A.J., Deelman, L.E., de Zeeuw, D., Henning, R.H., 2006. The role of angiotensin(1-7) in renal vasculature of the rat. *J. Hypertens.* 24, 1971–8. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000244945.42169.c0>

van Dieren, S., Beulens, J.W.J., van der Schouw, Y.T., Grobbee, D.E., Neal, B., 2010. The global burden of diabetes and its complications: an emerging pandemic. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 17 Suppl 1, S3-8. <https://doi.org/10.1097/01.hjr.0000368191.86614.5a>

van Rodijnen, W.F., van Lambalgen, T.A., van Wijhe, M.H., Tangelder, G.-J., Ter Wee, P.M., 2002. Renal microvascular actions of angiotensin II fragments. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 283, F86-92. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00121.2001>

van Thiel, B.S., van der Pluijm, I., te Riet, L., Essers, J., Danser, A.H.J., 2015. The renin-angiotensin system and its involvement in vascular disease. *Eur. J. Pharmacol.* 763, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.090>

Vanhoutte, P.M., Shimokawa, H., Feletou, M., Tang, E.H.C., 2017. Endothelial dysfunction and vascular disease - a 30th anniversary update. *Acta Physiol.* 219, 22–96. <https://doi.org/10.1111/apha.12646>

Verma, S., Anderson, T.J., 2002. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 105, 546–9. <https://doi.org/10.1161/hc0502.104540>

Verma, S., Szmitko, P.E., Anderson, T.J., 2004. Endothelial function: ready for prime time? *Can. J. Cardiol.* 20, 1335–9.

Vickers, C., Hales, P., Kaushik, V., Dick, L., Gavin, J., Tang, J., Godbout, K., Parsons, T., Baronas, E., Hsieh, F., Acton, S., Patane, M., Nichols, A., Tummino, P., 2002. Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase. *J. Biol. Chem.* 277, 14838–43. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200581200>

Vieira, Souto, Sánchez-López, Machado, Severino, Jose, Santini, Fortuna, García, Silva, Souto, 2019. Sugar-Lowering Drugs for Type 2 Diabetes Mellitus and Metabolic

Syndrome—Review of Classical and New Compounds: Part-I. *Pharmaceuticals* 12, 152.
<https://doi.org/10.3390/ph12040152>

Vilas-Boas, W.W., Ribeiro-Oliveira, A., Pereira, R.M., Ribeiro, R. da C., Almeida, J., Nadu, A.P., Simões e Silva, A.C., dos Santos, R.A.S., 2009. Relationship between angiotensin-(1-7) and angiotensin II correlates with hemodynamic changes in human liver cirrhosis. *World J. Gastroenterol.* 15, 2512–9. <https://doi.org/10.3748/wjg.15.2512>

Víteček, J., Lojek, A., Valacchi, G., Kubala, L., 2012. Arginine-Based Inhibitors of Nitric Oxide Synthase: Therapeutic Potential and Challenges. *Mediators Inflamm.* 2012, 1–22.
<https://doi.org/10.1155/2012/318087>

Wagner, J., Jan Danser, A.H., Derkx, F.H., de Jong, T. V, Paul, M., Mullins, J.J., Schalekamp, M.A., Ganten, D., 1996. Demonstration of renin mRNA, angiotensinogen mRNA, and angiotensin converting enzyme mRNA expression in the human eye: evidence for an intraocular renin-angiotensin system. *Br. J. Ophthalmol.* 80, 159–63.
<https://doi.org/10.1136/bjo.80.2.159>

Wan, H., 2011. Angiotensin-(1-7) inhibits the migration and invasion of A549 human lung adenocarcinoma cells through inactivation of the PI3K/Akt and MAPK signaling pathways. *Oncol. Rep.* <https://doi.org/10.3892/or.2011.1554>

Wang, Y., Yang, M., Lee, S.-G., Davis, C.G., Koo, S.I., Chun, O.K., 2012. Dietary total antioxidant capacity is associated with diet and plasma antioxidant status in healthy young adults. *J. Acad. Nutr. Diet.* 112, 1626–35. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2012.06.007>

White, R.E., Carrier, G.O., 1988. Enhanced vascular alpha-adrenergic neuroeffector system in diabetes: importance of calcium. *Am. J. Physiol.* 255, H1036-42.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.1988.255.5.H1036>

White, R.E., Carrier, G.O., 1986. Supersensitivity and endothelium dependency of histamine-induced relaxation in mesenteric arteries isolated from diabetic rats. *Pharmacology* 33, 34–8. <https://doi.org/10.1159/000138197>

Wiemer, G., Dobrucki, L.W., Louka, F.R., Malinski, T., Heitsch, H., 2002. AVE 0991, a nonpeptide mimic of the effects of angiotensin-(1-7) on the endothelium. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 40, 847–52. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.0000037979.53963.8f>

Wiernsperger, N., 1994. Vascular defects in the aetiology of peripheral insulin resistance in diabetes. A critical review of hypotheses and facts. *Diabetes. Metab. Rev.* 10, 287–307. <https://doi.org/10.1002/dmr.5610100305>

Wigg, S.J., Tare, M., Forbes, J., Cooper, M.E., Thomas, M.C., Coleman, H.A., Parkington, H.C., O'Brien, R.C., 2004. Early vitamin E supplementation attenuates diabetes-associated vascular dysfunction and the rise in protein kinase C-beta in mesenteric artery and ameliorates wall stiffness in femoral artery of Wistar rats. *Diabetologia* 47, 1038–46. <https://doi.org/10.1007/s00125-004-1411-x>

Wigg, S.J., Tare, M., Tonta, M.A., O'Brien, R.C., Meredith, I.T., Parkington, H.C., 2001. Comparison of effects of diabetes mellitus on an EDHF-dependent and an EDHF-independent artery. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 281, H232-40. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2001.281.1.H232>

Wohaieb, S.A., Godin, D. V, 1987. Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozocin-induced diabetes in rat. Effects of insulin treatment. *Diabetes* 36, 1014–8. <https://doi.org/10.2337/diab.36.9.1014>

Wong, T.Y., Cheung, C.M.G., Larsen, M., Sharma, S., Simó, R., 2016. Diabetic retinopathy. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2, 16012. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.12>

World Health Organization, 2022. Diabetes [WWW Document]. URL <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>

Wu, C.C., Chen, S.J., Yen, M.H., 1993. Different responses to acetylcholine in the presence of nitric oxide inhibitor in rat aortae and mesenteric arteries. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 20, 405–12. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.1993.tb01717.x>

Wu, H., Patterson, C.C., Zhang, X., Ghani, R.B.A., Magliano, D.J., Boyko, E.J., Ogle, G.D., Luk, A.O.Y., 2022. Worldwide estimates of incidence of type 2 diabetes in children

and adolescents in 2021. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 185, 109785. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2022.109785>

Wu, R., Feng, J., Yang, Y., Dai, C., Lu, A., Li, J., Liao, Y., Xiang, M., Huang, Q., Wang, D., Du, X.-B., 2017. Significance of Serum Total Oxidant/Antioxidant Status in Patients with Colorectal Cancer. *PLoS One* 12, e0170003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170003>

Wynne, K., Devereaux, B., Dornhorst, A., 2019. Diabetes of the exocrine pancreas. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 34, 346–354. <https://doi.org/10.1111/jgh.14451>

Xu, P., Costa-Goncalves, A.C., Todiras, M., Rabelo, L.A., Sampaio, W.O., Moura, M.M., Santos, S.S., Luft, F.C., Bader, M., Gross, V., Alenina, N., Santos, R.A.S., 2008. Endothelial dysfunction and elevated blood pressure in MAS gene-deleted mice. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* 51, 574–80. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.102764>

Xu, Y., Zhang, F., Li, C., Hao, H., Hao, Y., 2022. Angiotensin-(1–7) improves diabetes mellitus-induced erectile dysfunction in rats by regulating nitric oxide synthase levels. *Peptides* 151, 170765. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2022.170765>

Yada, T., Shimokawa, H., Tachibana, H., 2018. Endothelium-dependent hyperpolarization-mediated vasodilatation compensates nitric oxide-mediated endothelial dysfunction during ischemia in diabetes-induced canine coronary collateral microcirculation in vivo. *Microcirculation* 25, e12456. <https://doi.org/10.1111/micc.12456>

Yamaleyeva, L.M., Gilliam-Davis, S., Almeida, I., Brosnihan, K.B., Lindsey, S.H., Chappell, M.C., 2012. Differential regulation of circulating and renal ACE2 and ACE in hypertensive mRen2.Lewis rats with early-onset diabetes. *Am. J. Physiol. Physiol.* 302, F1374–F1384. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00656.2011>

Yang, J.J., Yu, D., Wen, W., Saito, E., Rahman, S., Shu, X.-O., Chen, Y., Gupta, P.C., Gu, D., Tsugane, S., Xiang, Y.-B., Gao, Y.-T., Yuan, J.-M., Tamakoshi, A., Irie, F., Sadakane, A., Tomata, Y., Kanemura, S., Tsuji, I., Matsuo, K., Nagata, C., Chen, C.-J.,

Koh, W.-P., Shin, M.-H., Park, S.K., Wu, P.-E., Qiao, Y.-L., Pednekar, M.S., He, J., Sawada, N., Li, H.-L., Gao, J., Cai, H., Wang, R., Sairenchi, T., Grant, E., Sugawara, Y., Zhang, S., Ito, H., Wada, K., Shen, C.-Y., Pan, W.-H., Ahn, Y.-O., You, S.-L., Fan, J.-H., Yoo, K.-Y., Ashan, H., Chia, K.S., Boffetta, P., Inoue, M., Kang, D., Potter, J.D., Zheng, W., 2019. Association of Diabetes With All-Cause and Cause-Specific Mortality in Asia: A Pooled Analysis of More Than 1 Million Participants. *JAMA Netw. open* 2, e192696. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.2696>

Yang, Z., Zhang, A., Altura, B.T., Altura, B.M., 1999. Hydrogen peroxide-induced endothelium-dependent relaxation of rat aorta involvement of Ca^{2+} and other cellular metabolites. *Gen. Pharmacol.* 33, 325–36. [https://doi.org/10.1016/s0306-3623\(99\)00019-1](https://doi.org/10.1016/s0306-3623(99)00019-1)

Yang, Z.W., Zheng, T., Zhang, A., Altura, B.T., Altura, B.M., 1998. Mechanisms of hydrogen peroxide-induced contraction of rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.* 344, 169–81. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(97\)01576-8](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(97)01576-8)

Yin, D., Wang, Q., Zhou, X., Li, Y., 2017. Endothelial dysfunction in renal arcuate arteries of obese Zucker rats: The roles of nitric oxide, endothelium-derived hyperpolarizing factors, and calcium-activated K^{+} channels. *PLoS One* 12, e0183124. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183124>

Young, E.J., Hill, M.A., Wiehler, W.B., Triggle, C.R., Reid, J.J., 2008. Reduced EDHF responses and connexin activity in mesenteric arteries from the insulin-resistant obese Zucker rat. *Diabetologia* 51, 872–881. <https://doi.org/10.1007/s00125-008-0934-y>

Yousif, M.H.M., Dhaunsi, G.S., Makki, B.M., Qabazard, B.A., Akhtar, S., Benter, I.F., 2012. Characterization of Angiotensin-(1-7) effects on the cardiovascular system in an experimental model of type-1 diabetes. *Pharmacol. Res.* 66, 269–75. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.05.001>

Yu, M., Benjamin, M.M., Srinivasan, S., Morin, E.E., Shishatskaya, E.I., Schwendeman, S.P., Schwendeman, A., 2018. Battle of GLP-1 delivery technologies. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 130, 113–130. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.009>

Zembowicz, A., Hatchett, R.J., Jakubowski, A.M., Gryglewski, R.J., 1993. Involvement of nitric oxide in the endothelium-dependent relaxation induced by hydrogen peroxide in the rabbit aorta. *Br. J. Pharmacol.* 110, 151–8. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1993.tb13785.x>

Zhang, Y., Liu, J., Luo, J.-Y., Tian, X.Y., Cheang, W.S., Xu, J., Lau, C.W., Wang, L., Wong, W.T., Wong, C.M., Lan, H.Y., Yao, X., Raizada, M.K., Huang, Y., 2015. Upregulation of Angiotensin (1-7)-Mediated Signaling Preserves Endothelial Function Through Reducing Oxidative Stress in Diabetes. *Antioxid. Redox Signal.* 23, 880–92. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.6070>

Zheng, Y., Ley, S.H., Hu, F.B., 2018. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat. Rev. Endocrinol.* 14, 88–98. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>

Zhu, J., Huang, T., Lombard, J.H., 2007. Effect of high-salt diet on vascular relaxation and oxidative stress in mesenteric resistance arteries. *J. Vasc. Res.* 44, 382–90. <https://doi.org/10.1159/000102955>

Zimmerman, D., Burns, K.D., 2012. Angiotensin-(1–7) in kidney disease: a review of the controversies. *Clin. Sci.* 123, 333–346. <https://doi.org/10.1042/CS20120111>

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Esra	Uyruğu	
Soyadı	AKCABAĞ	Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	75. Yıl Cumhuriyet Anadolu Lisesi	2004
Lisans	Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2009
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı	2015
Doktora	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı	2022

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Klinik Araştırma Koordinatörü	Novo Nordisk Türkiye	2011-2013
Araştırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı	2013-2022

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	Yökdil	70

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Sıçan İzole Mezenterik Yatağı Küçük Rezistans Arterlerinde Visfatin'in Fonksiyonel Etkileri (Araştırmacı)	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP), Proje Numarası: 2014.02.0122.002	2013-2015
Diabetik Sıçan İzole Kalp Preparatlarında Glukagon	TÜBİTAK Bilimsel ve Teknolojik Araştırma	

Benzeri Peptit-1 Analogları ve Sitagliptin'in Kalp Hızı Üzerine Etkileri (Bursiyer)	Projelerini Destekleme Programı (1001), Proje Numarası: 114S410	2014-2017
Diyabetik Sıçanlarda Kronik Anjiyotensin (1-7) Tedavisinin İzole Rezistans Arterlerinin Fonksiyonel Yanıtları Üzerine Etkisi (Araştırmacı)	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP), Proje Numarası: TDK-2018-4187	2018-2022

Burslar-Ödüller:

Erasmus, Staj Hareketliliği Bursu, 11/07-09/09/2016, Freiburg Üniversitesi, Almanya
TÜBİTAK 1001, Proje bursu, Proje Numarası: 114S410, 2014-2017

Yayınlar ve Bildiriler:

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

Akcabag E., Dalaklıoğlu S., Özen Küçükçetin İ., Özdem S., Taşatargil A., Özdem S.S., “Protective Effect of Exendin-4 Treatment on Oxidative Status of Liver in Rats Exposed to Chronic Methylglyoxal”, Acta Pharmaceutica Scientia, 2021, vol.59, no.1, ss: 705-720. DOI: 10.23893/1307-2080.APS.05910.

Akcabag E., Bayram Z., Özen Küçükçetin İ., Uzun g., Özdem S., Özdem S. S., “Functional Effects of Visfatin in Isolated Rat Mesenteric Small Resistance Arteries”, European Journal of Pharmacology, 2021, vol. 908, DOI: 1016/j.ejphar.2021.174333.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Özdem S.S., Akcabag E., Özdem S., Demir Dora D., “Biyobenzer Tıbbi Ürünlerin Risk Yönetim Planı”, 3. İlaç ve Eczacılık Kongresi, İstanbul-Türkiye, 26-29 Nisan 2017, ss: 1108-1109 (Poster).

Akcabag E., Özen Küçükçetin İ., Özdem S., Öner F., Bayram Z., Taşatargil A., Özdem S.S., “Relations of Serum GLP-1 Levels With the Effects of GLP-1 Analogs on Heart Rate in Diabetic Rats”, Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği Uluslararası Katılımlı Kongre Lab EXPO 2017, Antalya-Türkiye, 1-5 Ekim 2017, ss: 182 (Poster).

Akcabag E., Öner F., Bayram Z., Özdem S., Taşatargil A., Özdem S.S., “The Effects of GLP-1 Analogs and Sitagliptin on Heart Rate in Isolated Diabetic Rat Atrium and Whole Heart Preparations”, 3rd International Multidisciplinary Symposium On Drug Research And Development (DRD), Erzurum-Türkiye, 5-7 Ekim 2017, ss: 177 (Poster).

Akcabag E., Bayram Z., Özdem S., Özdem S.S., “Functional Effects of Visfatin in Small Resistance Arteries of Rat Isolated Mesenteric Bed”, 3rd International Multidisciplinary Symposium On Drug Research And Development (DRD), Erzurum-Türkiye, 5-7 Ekim 2017, ss: 179 (Poster).

Otuzaltı N., Özen Küçükçetin İ., Akcabağ E., Özdem S.S., Dalaman U., Yaraş N., Özdem S., “Diyabette Anjiyotensin (1-7) Tedavisinin Oksidatif Stres Parametreleri, IMA ve MPO Düzeylerine Etkisi”, TBS International Biochemistry Congress 2018, 29th National Biochemistry Congress, Muğla-Türkiye, 26-30 Ekim 2018, ss: 58 (Sözlü sunum).

Akcabag E., Dalaklıoğlu S., Özen Küçükçetin İ., Özdem S., Taşatargil A., Özdem S.S., “Protective Effect of Exendin-4 Treatment on Oxidative Status of Liver in Rats Exposed to Chronic Methylglyoxal”, 2nd International Health Science and Life Congress (IHSLC), Burdur-Türkiye, 24-27 Nisan 2019, ss: 318-330 (Sözlü sunum).

Akcabag E., Özdem S.S., “Dünya Sağlık Örgütü Klavuzları Temelinde Biyoeşdeğerlik Çalışmalarında Referans/Komparatör Seçimi”, 2nd International Health Science and Life Congress (IHSLC), Burdur-Türkiye, 24-27 Nisan 2019, ss: 1540-1549 (Sözlü sunum).

Akcabag E., Öner F., Bayram Z., Özdem S., Taşatargil A., Özdem S.S., “The Effects of GLP-1 Analogs, Sitagliptin and Some Antidiabetic Agents on Heart Rate in Isolated Diabetic Rat Atrium and Whole Heart Preparations”, International Multidisciplinary Symposium On Drug Research And Development (DRD), Malatya-Türkiye, 1-3 Temmuz 2019, ss: 116-118 (Sözlü sunum).

Soner B.C., Akcabağ E., Özdem S.S., “Sabit Kombinasyonlu Tıbbi Ürünlerin Gelişimine Avrupa İlaç Ajansı Yaklaşımı”, International Medical Congress of İzmir Democracy Universty (IMCIDU), İzmir-Türkiye, 6-8 Aralık 2019, ss: 816-822 (Poster).

Soner B.C., Akcabağ E., Özdem S.S., “Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi Dayalı Biyomuafiyet: Güncel Durum”, International Medical Congress of İzmir Democracy Universty (IMCIDU), İzmir-Türkiye, 6-8 Aralık 2019, ss: 804-807 (Poster).

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Akcabag E., Bayram Z., Özen Küçükçetin İ., Uzun G., Özdem S., Özdem S.S., “Sıçan İzole Mezenterik Yatağı Küçük Rezistans Arterlerinde Visfatin’in Fonksiyonel Etkileri”, 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Ankara-Türkiye, 7-10 Eylül 2015, ss: 291 (Poster).