T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL DİYABETİK KARDİYOMYOPATİ MODELİNDE LEPTİNİN KALBİN POTASYUM KANAL TİPLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Murat ŞİMŞEK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Mehmet ÖÇ

Konya-2016

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL DİYABETİK KARDİYOMYOPATİ MODELİNDE LEPTİNİN KALBİN POTASYUM KANAL TİPLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Murat ŞİMŞEK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Mehmet ÖÇ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 15102059 proje numarası ile desteklenmiştir.

Konya-2016

UZMANLIK TEZİ JÜRİ TUTANAĞI

Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı: Murat ŞİMŞEK

Uzmanlık Dalı: Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet ÖÇ

Tezin Adı: Deneysel diyabetik kardiyomyopati modelinde leptinin kalbin potasyum kanal tipleri üzerine etkisi

Dr Murat ŞİMŞEK hazırlamış olduğu tezini xx/xx/2016 tarihinde aşağıda isimleri yazılı olan jüri huzurunda savunmuştur.

SONUÇ: TEZ BAŞARILI (X) TEZ BAŞARISIZ ( )

Jüri	Jüri	Jüri
Prof. Dr. Mehmet ÖÇ	Prof. Dr. Erdal EGE	Yrd.Doç.Dr.Hakan AKBAYRAK

TEŞEKKÜR…

Uzmanlık eğitimim sürecinde engin bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyeleri, saygıdeğer hocalarım Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖÇ başta olmak üzere, Biyofizik Anabilim Başkanı Sayın Prof. Dr. Murat AYAZ, Prof. Dr. Bora FARSAK, Sayın Yrd. Doç. Dr. Hakan AKBAYRAK'a en içten minnet ve saygılarımı sunarım.

Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı öğretim üyelerinden başta Sayın Doç. Dr. Bahar ÖÇ olmak üzere, Sayın Prof. Dr. Ateş DUMAN ve Sayın Doç. Dr. Oğuzhan ARUN hocalarıma eğitimimde verdikleri katkı ve destekleri için teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşım Dr.Serkan YILDIRIM ve Dr. Serkan AKCAN'a benimle paylaştığı her şey için teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince birlikte çalışmaktan mutlu olduğum yoğun bakım hemşire ve personel arkadaşlarıma, ameliyathane teknisyeni, perfüzyonist arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak, hak ve emekleri asla ödenmeyecek olan aileme teşekkür etmekten mutluluk duyarım.

Dr. Murat ŞİMŞEK

İÇİNDEKİLER **Sayfa**

İÇİNDEKİLER i
SİMGELER VE KISALTMALAR iii
ŞEKİL VE RESİM DİZİNİ iv
TABLOLAR VE GRAFİKLER vi
1. GİRİŞ 1
1.1. Kalp Kası ve Fizyolojisi 1
1.1.1. Kalp Kası 1
1.1.2. Kontraktil Proteinler ve Uyarılma Kasılma Çiftlenimi 3
1.1.3. Kalp Kası Hücre Zarı Yapısı ve Fonksiyonları 5
1.1.4. Aksiyon potansiyelinde yer alan iyonik akımlar 7
1.2. Diyabetes Mellitus (DM) 9
1.2.1. Diyabetes Mellitus Tipleri 9
Tip 1 Diyabetes Mellitus 9
Tip 2 Diyabetes Mellitus 9
Gestasyonel Diyabetes mellitus 10
Diğer Diyabetes mellitus tipleri 10
1.2.2. Diyabetes mellitus komplikasyonları ve fizyopatolojisi 10
Kronik komplikasyonlar 10
Diyabetik Kardiyomiyopati 10
Diyabetik Kardiyomiyopatinin Fizyopatolojisi 12
1.2.3. Deneysel Diyabet Modeli ve Oluşturulması 14
1.3. Leptin 16
1.3.1. Leptinin yapısı ve özellikleri 16
1.3.2. Leptinin fizyolojik etkileri 17
1.3.3. Leptin eksikliği ve sistemik etkileri 19
1.3.4. Leptin ve diyabetes mellitus arasındaki ilişki 21
3. GEREÇ VE YÖNTEM 23
3.1. Deneysel Diyabet Modeli ve Deney Gruplarının Oluşturulması 23
3.2. Kardiyomiyosit İzolasyonu 23
3.3. Potasyum Kanal Akımlarının Kayıt Edilmesi 25
3.4. Leptin İnkübasyonu 26
3.5. İstatistiksel Yöntem 27

4. SONUÇ ve ÖNERİLER 28
4.1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri 28
4.2. Potasyum Kanal Akımları 28
5. TARTIŞM 33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 34
KAYNAKLAR 35
ÖZET 40
İNGİLİZCE ÖZET (Summary) 42
EKLER 44
Etik Kurul Kararı 44
ÖZGEÇMİŞ 45

IV. SİMGELER ve KISALTMALAR

ADP: Adenozin difosfat

AP: Aksiyomn potansiyeli

ATP: Adenozin trifosfat

Ca^{+2} : Kalsiyum

DAG: Diacil gliserol

DKMP: Dilate kardiyo miyopati

DM: Dibetus mellitus

HbA1C: Hemoglobin A1C

HIF-1: Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1

IL-12: İnterlökin-12

IL-6: İnterlökin-6

JAK: Janus kinaz

K^{+}: Potasyum

Mg^{+2}: Magnezyum

Na^{+}: Sodyum

NCX: Sodyum / Kalsiyum değiş-tokuşcusu

NO: Nitrik oksit

NPY: Nöropeptit –y

PDGF-Beta: Trombosit kökenli büyüme faktörü

PGF: Pletalet büyüme faktörü

PKC: Protein kinaz C

RAAS: Renin anjio tensin aldesteron sistemi

RIA: Radioimmunassay

ROS: Reaktif oksijen türleri

SERCA: Sarkoplazmik retikulum kalsiyum pompası

SR: Sarkoplazmik retikulum

STAT-3: Signal transducer and activators of transcription

STZ: Streptozosin

TNF: Tümör nekrosis faktör

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

II. ve ŞEKİL RESİM DİZİNİ

Şekil 1.1. Kalbin morfolojik yapısı

Şekil 1.2. Kalp kası kayan filament modelini oluşturan aktin ve miyozin filamentlerinin gösterimi.

Şekil 1.3. Aktin, miyozin, tropomiyozin ve troponin moleküllerinin birbirleri ile ilişkisini gösteren model.

Şekil 1.4. VentrikülhücrelerindehücreiçiCa^{+2}düzenlenmesi. Alt grafik aksiyon potansiyeli, Ca^{+2}tranzienti ve kasılmanın zamansal değişimlerini göstermektedir. NCX; Na^{+}/Ca^{2+} değiştokuşçusu; ATP, ATPaz; PLB; fosfolamban; SR; sarkoplazmik retikulum

Şekil 1.5. Sıvı mozaik modele göre lipid çift tabakasının, membran proteinlerinin ve membranın yapı taşı olan fosfolipid molekülünün genel yapısı.

Şekil 1.6. Ventrikül aksiyon potansiyelinin evreleri ve onlara karşılıkgelen iyon akımları.

Şekil 1.7. Diyabetik kardiyomiyopati gelişimi sırasında oksidatif stresin neden olduğu kalp yetmezliği için önerilen mekanizma.

Şekil 1.8. Tip I ve tip II diyabetik kardiyomiyopati ile ilgili olası moleküler mekanizmaları gösteren hipotetik bir yolak şeması. NEFA esterleşmemişyağasitlerini, SV sol ventrikülü, SVH solventrikül hipertrofisini temsil etmektedir.

Şekil 1.9. DKMP'nin Patofizyolojik Mekanizmaları.

Şekil 1.10. Streptozosinin yapısı

Şekil 1.11. Leptinin Yapısı.

Şekil 1.12. Leptinin biyolojik etkilerinin şematik gösterimi. Adipoz dokuda leptin üretimi. Leptininhipotalamus, immün sistem, anjiyogenezis, endokrin pankreas, overler, otonomik sistem ve kemik iliğindeki santral ve periferal etkileri. Prolo ve ark.larının makalesinden modifiye edilmiştir.

Şekil 1.13. Leptinin hücre içi sinyalizasyon mekanizması. STAT; Signal transducers and activators of transcription, JAK; Janus kinase, DNA; Deokrisibo nükleik asit, mRNA: Masanger reoksiribonükleik asit.

Şekil 3.1. Kardiyomiyosit izolasyonu için kullanılan Langendorff donanımı. Sistem düzeneğin 37°C sabit bir sıcaklık sağlaması için bir su banyosu (en arkada), aortadan retrograd perfüzyonu belli bir hızla (3-5 ml/dak) akmasını sağlamak amacı ile bir perfüzyon pompası (önde solda) ve aortadan entegre edilmek üzere farklı sıvıların dolaşınıa imkan sağlayan donanım (önde sağda).

Şekil 3.2. Parch clamp tekniği deney düzeneği. Düzenek kayıt analiz bilgisayar sistemi, patch clamp amfisi, data aqusition sitemi, otomize perfüzyon sistemi ve inverted mikroskoptan oluşmaktadır.

Şekil 3.3.İzole edilen miyositler ve leptin inkübasyonu sonrasındaki görünümleri. A' da inkübasyon öncesi ve bir saatlik dengelenme periodu sonrasındaki apeks bölgesi kardiyomiyositleri (% 90 canlılık), B'de ise üç doz (0,1, 0,5 ve 1 nM) için 1 saatlik inkübasyon sonrasındaki görüntüleri.

Şekil 4.1. Toplam potasyum akımları için birer örnek akım eğrileri. A kontrol grubu miyositleri, B'de ise diyabetik grup için alınan akım eğrilerini göstermektedir. Şekil üzerinde ise bu akımların alınması için hücre zarına uygulanan potansiyel farkı belirtmektedir.

Şekil 4.2. Geçici dışarı doğru potasyum akımının hızlı bileşeni (I_{t0f}). Kon; kontrol, DM; diyabetes mellitus grubu için kullanılmıştır. Birer saatlik farklı doz leptin ile inkübe edilen diyabetin akım eğrileri sırası ile DM + L0.1, DM + L0.5 ve DM + L1.0 sembolleri kullanılmıştır.

Şekil 4.3. Geçici dışarı doğru potasyum akımının hızlı bileşeni. Kon; kontrol, DM; diyabetes mellitus grubu için kullanılmıştır. Birer saatlik farklı doz leptin ile inkübe edilen diyabetin akım eğrileri sırası ile DM + L0.1, DM + L0.5 ve DM + L1.0 sembolleri kullanılmıştır.

Şekil 4.4. Geçici dışarı doğru potasyum akımının yavaş bileşeni. Kon; kontrol, DM; diyabetes mellitus grubu için kullanılmıştır. Birer saatlik farklı doz leptin ile inkübe edilen diyabetin akım eğrileri sırası ile DM + L0.1, DM + L0.5 ve DM + L1.0 sembolleri kullanılmıştır.

Şekil 4.5. Geçici dışarı doğru potasyum akımının yavaş bileşeni. Kon; kontrol, DM; diyabetes mellitus grubu için kullanılmıştır. Birer saatlik farklı doz leptin ile inkübe edilen diyabetin akım eğrileri sırası ile DM + L0.1, DM + L0.5 ve DM + L1.0 sembolleri kullanılmıştır.

III. TABLO ve GRAFİK DİZİNİ

Tablo 1: Deney Hayvanlarının Genel Karakteristiği

1. GİRİŞ

Epidemiyolojik çalışmalar diyabetin dünyada 100 milyondan fazla insanı etkileyen ve sıklıkla görülen kronik hastalıklardan biri olduğunu göstermektedir. Dünyada diyabetin tahmini artışı, fiziksel aktivitede anlamlı bir azalış ve temelinde genetik yatkınlığın rol oynadığı obezitenin prevelansdaki artış ile birlikte yaşlanan popülasyona bağlanabilir. Diyabetin patofizyolojisi, karaciğerde, yağ dokusunda ve kas dokusundaki insülin direnci ve pankreastaki beta hücrelerinden bozulmuş insülin sekresyonu ile karakterize edilmektedir.

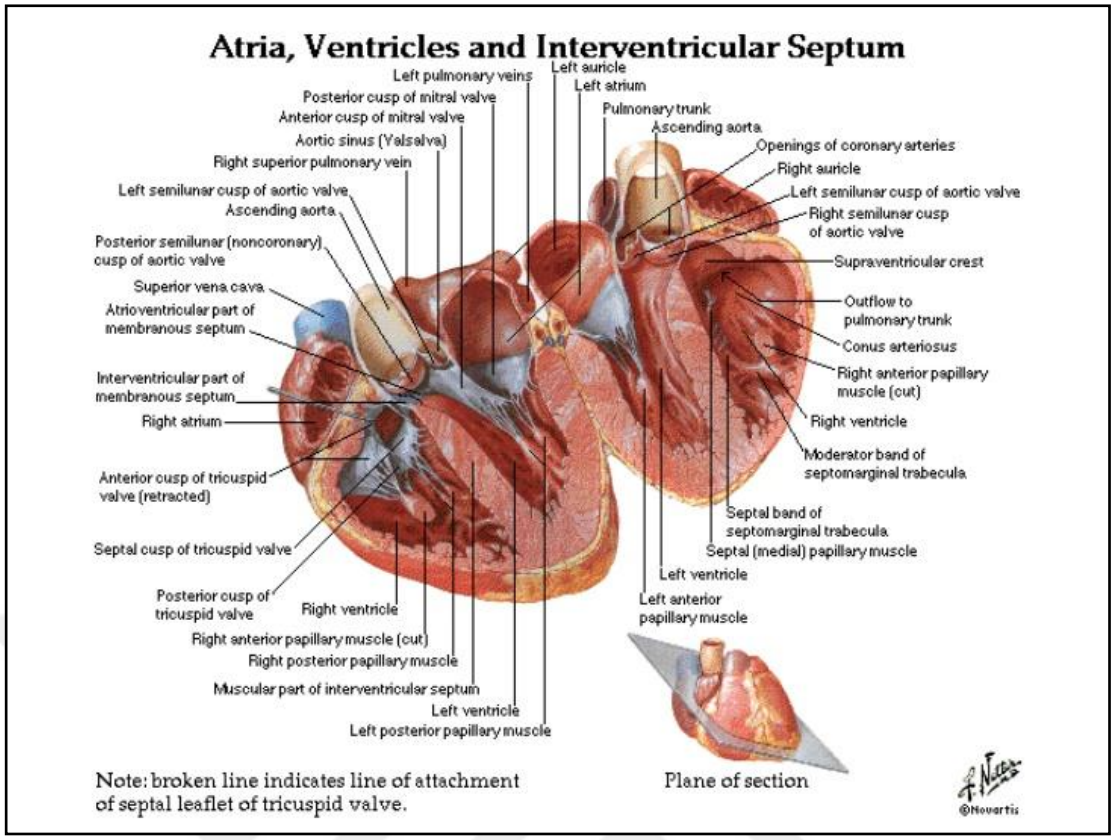
Diyabetin yaratmış olduğu ikincil gelişimleri incelemek için sıklıkla kullanılan deneysel diyabet modelleri, insanda gözlenen patolojik bulgulara benzer bulguların moleküler mekanizmasını anlamak ve olası tedavi olanaklarının kolayca çalışmasına olanak tanımaktadır.

1.1. Kalp Kası ve Fizyolojisi

1.1.1. Kalp Kası

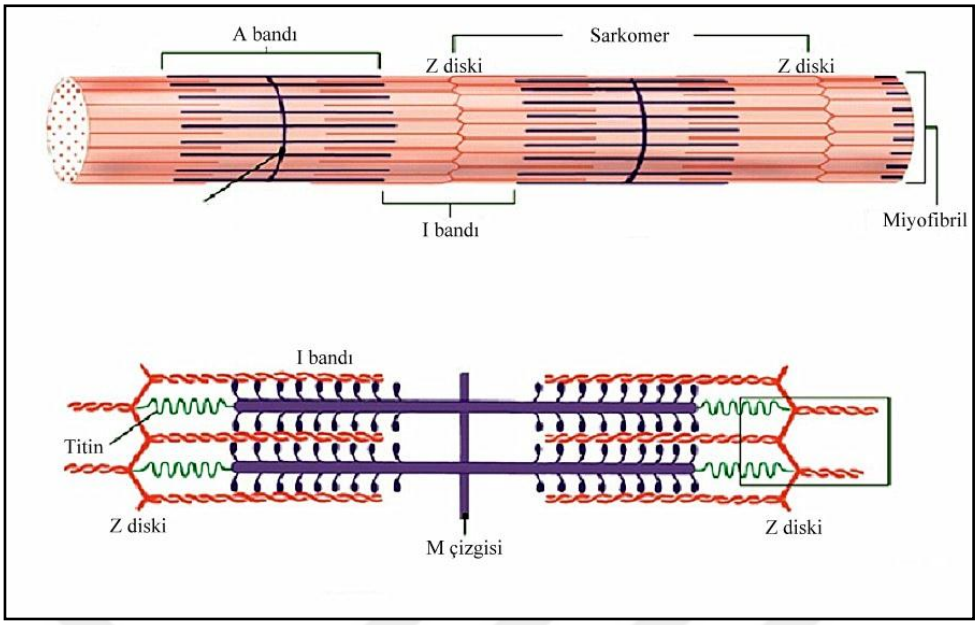
Kalp, göğüs boşluğunda yer alan iki atrıium ve iki ventrikülden oluşan tüm doku ve organlara kan pompalayan kas yapısında bir organ olup, ön pompa vazifesi gören atriumlar, kanın ventriküle aktarılasından sorumludur. Ventrikül yapısı ise kanın pulmoner arter ve aort yolu ile akciğer ve tüm vücuda dağıtılması görevini üstlenir. Kalp fibröz bir kılıf olan perikardium ile sarılmıştır. Dış yüzeyi fibröz yapıda olan epikardium ile iç yüzeyi ise bağ dokudan oluşan endokardium ile çevrilidir. Bu iki tabaka arasında ise kalbin kas tabakasını oluşturan miyokardium bulunur (Katz 1992) (Şekil 1.1)

Miyokardium tabakasını oluşturan kalp kası hücrelerinin (kardiomiyositler) zarına sarkolemma adı verilir. Kardiyomiyositleri birbirine bağlayan interkale diskler adı verilen hücre zarları mevcuttur. İnterkale diskler komşu hücreleri birbirine bağlanmasını sağlar. İnterkale disklerinin içerisinde hücreleri bir arada tutan miyofibrillerinde bağlandığı desmozom denen yapılar vardır (Vander ve ark 1994). Bu sayede kalpte oluşan uyarı bir noktadan başlayarak iletim sistemi sayesinde tüm kalbe yayılır. Gedik-kavşaklar (gab-janction) adı verilen bağlantılar uyarı iletimini sağlarlar, bu sebeple kalbi uyaracak sinyallerin başlaması ve yayılması için kalbin bir sinir sistemine ihtiyacı yoktur.



Şekil 1.1. Kalbin morfolojik yapısı (Sabotta 1990).

Kalp kası yapısında T tübül sistemi, periferik musküler kas yapısında olduğu gibi A-I kavşağı yerine Z çizgileri hizasına yerleşiktir (Ganong 1999). Kalpte uyarılmaya sebep olacak sinyaller, sinoatrial düğümden başlar. Sinoatrial düğüm epikardiumun alt tarafında, kalbin sağ atriumuna bakan tarafında bulunup ritmin kontrolünü sağlar. Sinoatrial nodu atrioventriküler noda birleştiren atrioventriküler yollar bulunur. Bu yollar sayesinde uyarı sağ ve sol ventrikül endokard tabakası içinde bulunan his demetlerine ulaşır. Buradan da purkinje liflerine iletilir. Bu dallar sağ ve sol ventrikülü çepeçevre sararak aşağıda ventrikül apeksine ve kalbin tabanına doğru giderek küçük dallara ayrılırlar, bu şekilde kalbin tüm bölümlerini uyarının iletilmesi sağlanır (Guyton 2006).

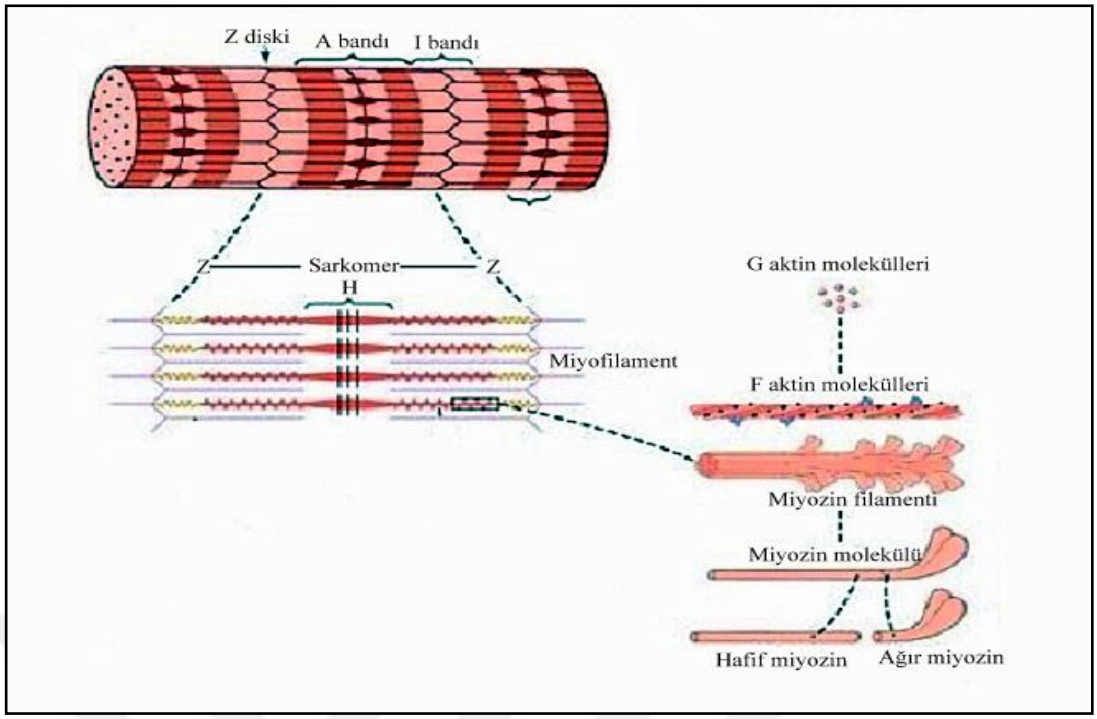


Şekil 1.2. Kalp kası kayan filament modelini oluşturan aktin ve miyozin filamentlerinin gösterimi.

1.1.2. Kontraktil Proteinler ve Uyarılma Kasılma Çiftlenimi

Kayan filamentler modeliyle ortaya konulan kasılma (contraction) kalp kası hücrelerinin aktifleşmesi ile gerçekleşir. Bu mekanizma temel olarak hücre içi serbest kalsium (Ca^{+2}) iyon konsantrasyonu ile yönetilir (Guyton 2007). Uyarılma-kasılma çiftlenimi; süreçte iki ana kontraktil protein rol alır. Bu kontraktil proteinler aktin ve miyozin olarak isimlendirilir. Miyozin flamanı, iki kısımdan (baş-kuyruk) oluşan ve aktin flamanları ile tam olarak kenetlenmeyi sağlayacak konfigürasyonlar oluşturabilecek yapıdadır (Şekil 1.2).

Flamanlar kas kasılmasıyla birlikte birbirleri üzerinde kayarken, aktin ve miyozinde flamanlarında kısalma olmaz, kayma sırasında sarkomer boyu kısalır. Elektron mikroskobuyla incelendiğinde sarkomerin iki tarafından Z-bandı ile sınırlandırıldığı görülür. Bu noktalar aktin proteinlerinin tutunma alanlarıdır. Miyozin flamanları ise median kesimde yer alıp, Z bandı ile ilişkisizdir (Tretham 1986) (Şekil 1.3).



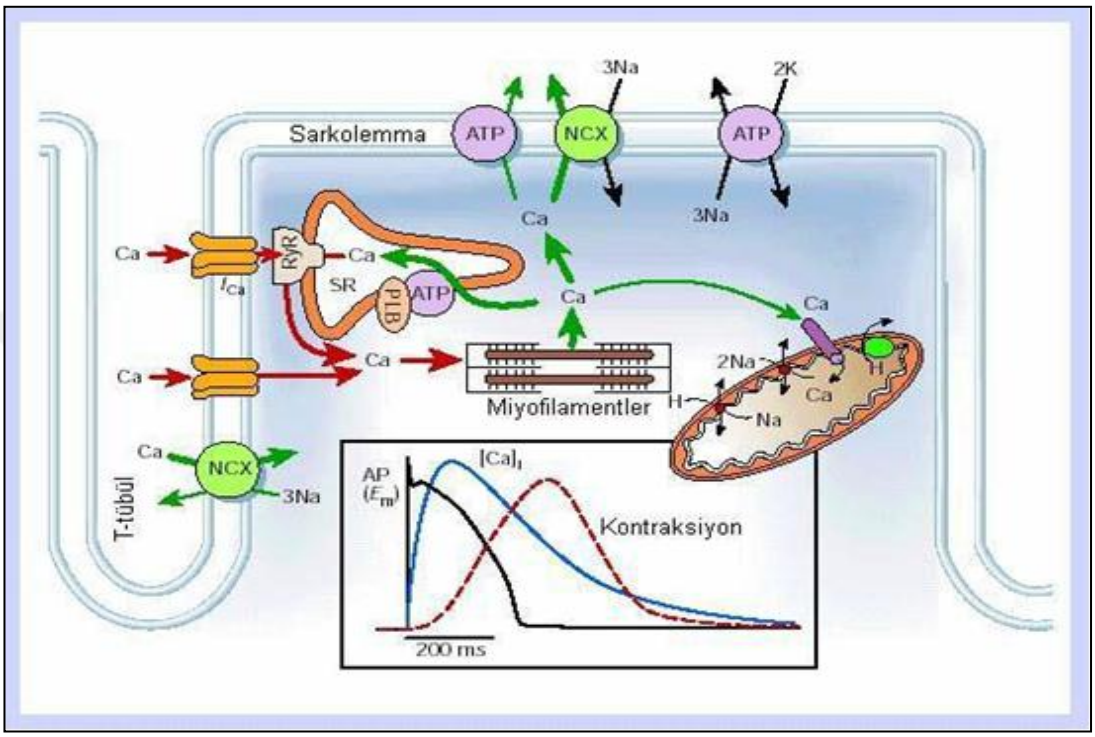
Şekil 1.3. Aktin, miyozin, tropomiyozin ve troponin moleküllerinin birbirleri ile ilişkisini gösteren model.

Kasılma fizyolojisinin başlangıç enerjisi adenozin trifosfat (ATP)'nin adenozin difosfat (ADP)'ye hidralizasyonu ile gerçekleşir. Miyokardiyal kasılma mekanizmasında yer alan proteinler; miyozin, aktin, tropomiyozin, troponin C, troponin I, troponin T dir (Bers 2002 ,Katz 1992). Kalbin kasılması için gerekli olan sinyalizasyon mekanizması aksiyon potansiyeli (AP) ile gerçekleşir. Hücre zarındaki depolarizasyon ile hücre içine olan sodyum (Na^{+}) iyon akımı sayesinde hücre içine ikincil bir Ca^{+2} akımı başlar. Bu Ca^{+2} akımı mevcut depolarizasyonla oluşur. Bu akım L-tipi Ca^{+2} kanalı aracılığıyla oluşur (Hill 1989, Guyton 2007).

İnce flamentlerin yapısını oluşturan ana yapıda aktindir. Globüler ve F aktin olmak üzere iki polimeri mevcuttur. İnce flament yapısında bulunan diğer yapı ise tropomiyozin sarmal yapıdadır. Aktin ve miyozin iletişiminin yürütülmesinden sorumludur. Tropomiyozin troponinle beraber kasılmanın başlamasından sorumludur. İnce flamentlerin yapısında üç ayrı protein yapıdan oluşan troponin I, C ve T bulunur (Guyton 2006). Troponin I; kalp ve iskelet kası yapsında farklı yapılarda bulunur. Kardiyak kas hücrelerindeki troponin I yapısında serin bulundurur. Serin, protein kinaz A'nın fosforilasyonunun bir ara maddesidir. Troponin C'nin Ca^{+2} ve magnezyum (Mg^{+2}) için spesifik bölgeleri mevcuttur. Dört bölgeden oluşan troponin C ise Ca^{+2} ve Mg^{+2}'a spesifik bölgeler taşır. Asimetrik bir molekül olan troponin T, troponin kompleksini tropomiyozine bağlar. Tek başına Ca^{+2} ile bağlanmaz, buna

karşın kas geriminin Ca^{+2}'a bağlı duyarlılığını etkileyerek, kalbin Ca^{+2}'a olan yanıtını değiştirir (Guyton 2006, Putkey ve ark 1989) (Şekil 1.4).

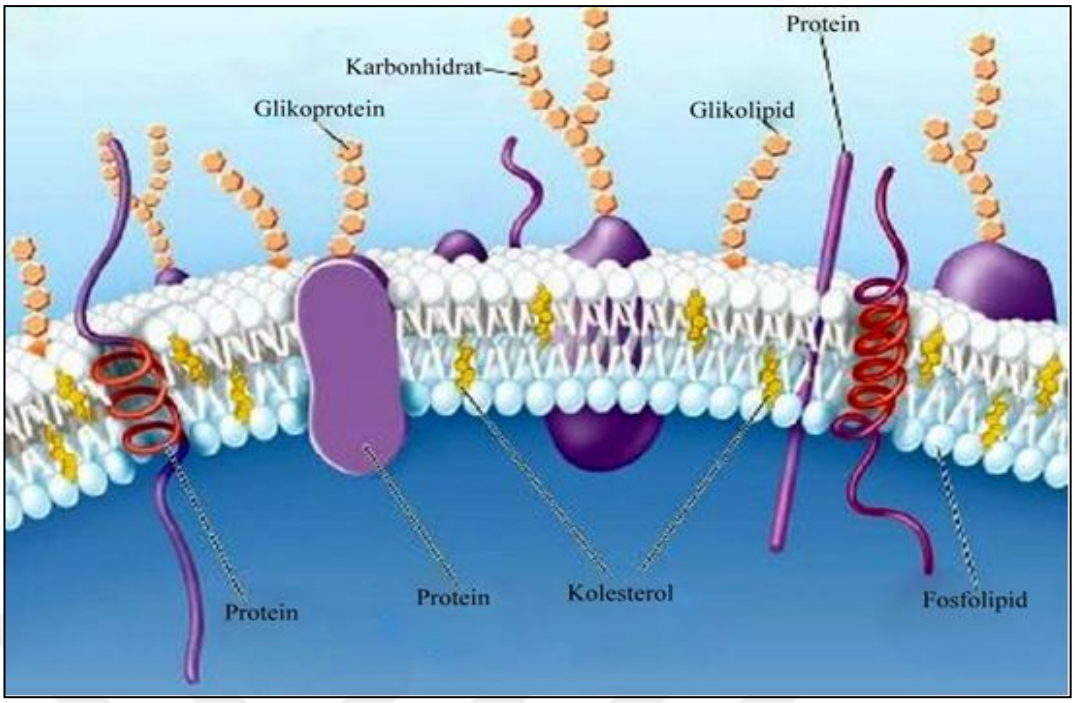
Uyarılma kasılma mekanizmasında sitoplazmaya Ca^{+2} geçişini sağlayan sarkoplazmik retikulum önemli yer tutar. 'Kalsiyum uyarımlı kalsiyum salınımı yolu' (CICR) denilen bu yol L-tipi Ca^{+2} kanallarıyla sağlanır (Bracken ve ark 2003).



Şekil 1.4. Ventrikül hücrelerinde hücre içi Ca^{+2} düzenlenmesi. Alt grafik aksiyon potansiyeli, Ca^{+2} tranzienti ve kasılmanın zamansal değişimlerini göstermektedir. NCX; Na^{+}/Ca^{2+} değiştokuşçusu; ATP, ATPaz; PLB; fosfolamban; SR; sarkoplazmik retikulum (Bers 2002).

1.1.3. Kalp Kası Hücre Zarı Yapısı ve Fonksiyonları

Miyokardiyal hücrelerde zar yapısı elektiriksel ve kimyasal iletilerin aktarılması, organize edilmesini ve hücre içi ortamın dış ortamdan ayrılmasını sağlar (Guyton 2006). Kalp kası hücrelerenin kasılması diğer kas yapılarında da olduğu gibi hücrelerin zarlarının depolarizaysonuyla başlar. Sarkolemma yapısındaki birçok iyon kanalı ve iyon geçişini sağlayan sistem ve zar geçirginliklerindeki değişimler aksiyon potansiyelini oluşumunun asıl sebebidir. Gap junction bağlantıları sayesinde ise oluşan aksiyon potansiyeli tüm hücrelere yayılır (Wahler 1997).



Şekil 1.5. Sıvı mozaik modele göre lipid çift tabakasının, membran proteinlerinin ve membranın yapı taşı olan fosfolipid molekülünün genel yapısı.

Kalp kası hücrelerinin temel elektriksel özelliğini oluşturan zar yapısı; yüksek dirençli çift lipit tabakası, hücre dışına göre negatif yapıda dinlenim zar potansiyeline sahiptir. Hücre zarında bulunan voltaj-bağımlı iyon kanallarının yapıları ve farklılıkları, kalbin kendiliğinden çalışabilme (fonksiyonel sinsisyum) özelliğinin yanı sıra aksiyon potansiyelinin çeşidini de belirler. AP'leri hücrede kasılmanın başlamasını sağlamakla beraber tüm hücrelerin kasılma boyunca varlığını sürdürerek kontrol mekanizması oluşturup, sistemin pompa gibi çalışmasını da sağlar (Lange 1996) (Şekil 1.5).

Kalp hücrelerindeki AP'leri diğer kas hücrelerine göre hızlı iletim özelliğine sahiptir. Aksiyon potansiyeli süreleri ventriküldeki kalp hücrelerinde uzun sürede iken atriumlarda daha kısa sürede gerçeklekleşir. His ve purkinje liflerinin AP süresinden ise ventriküllerden daha kısa sürede gerçekleşir. Aynı zamanda ventriküler AP'inde karakteristik bir erken repolarizasyon fazı da görülür (Lange 1996).

Potasyum iyonları iskelet kasında olduğu gibi ventrikül hücrelerinde de dinlenim zar potansiyelinin oluşmasında esas rolü oynar. Bu durum dinlenim durumunda hücre zarının K^+ iyonuna geçirgenliğinin fazla olmasından kaynaklanır ki dinlenim zar potansiyeli K^+ denge potansiyeline eşit değerdedir (Wahler 1997). Klor (Cl^-) iyonlarının ise kalp dokularındaki iletkenliğe katkısı ise göreceli olarak düşüktür. Dinlenim zar potansiyelinde zamandan bağımsız olarak Na^+ kanallarının minimal bir katkısı vardır.

Kalp kası yapısında çeşitli potasyum kanalları bulunur dinlenim zar potansiyelini sağlayan K^+ kanallarının iletekenlikleri ile (inward rectifier; I_{Kl}) repolarizasyonu başlatan K^+

kanal (transient outward; I_{to}) iletkenlikleri farklıdır. Ayrıca bu kanalların değişik alt tipleri de mevcuttur (Ayaz ve ark 2004).

Elektrojenik Na^+/K^+ potasyum pompası sayesinde Na^+ ve K^+ grandiyentleri kurulur ve sürdürülür. Bu pompa dışarıya çıkardığı 3 Na^+'ya karşılık 2 K^+'u hücre içine taşır. Bu sayede minimal bir akım ile zarı polarize etmeye çalışır. Hücre içi pH regülasyonunun sağlanmasında ve hücre içi serbest sodyum iyon konsantrasyonun ayarlanmasında bu sistem kullanılır (Shimoni ve ark 1994). Kalbin ventrikülü için AP süresi 200 ile 400 ms arasında değişmektedir. Bu durum iyon kanallarında ki değişikliklerden etkilenir ve AP süreleri değişebilir (Katz 1992, Ayaz ve ark 2004).

1.1.4. Aksiyon potansiyelinde yer alan iyonik akımlar

Hücre zarı potansiyelinin bulunduğu değerden daha pozitif bir değere hareketi depolarizasyon, bu noktadan dinlenim zar potansiyeline geri dönüşü ise repolarizasyon olarak adlandırılmaktadır. Alt kısımda ventrikül AP'e oluşumunda rol alan iyonik akımlar ve evreleri mevcuttur.

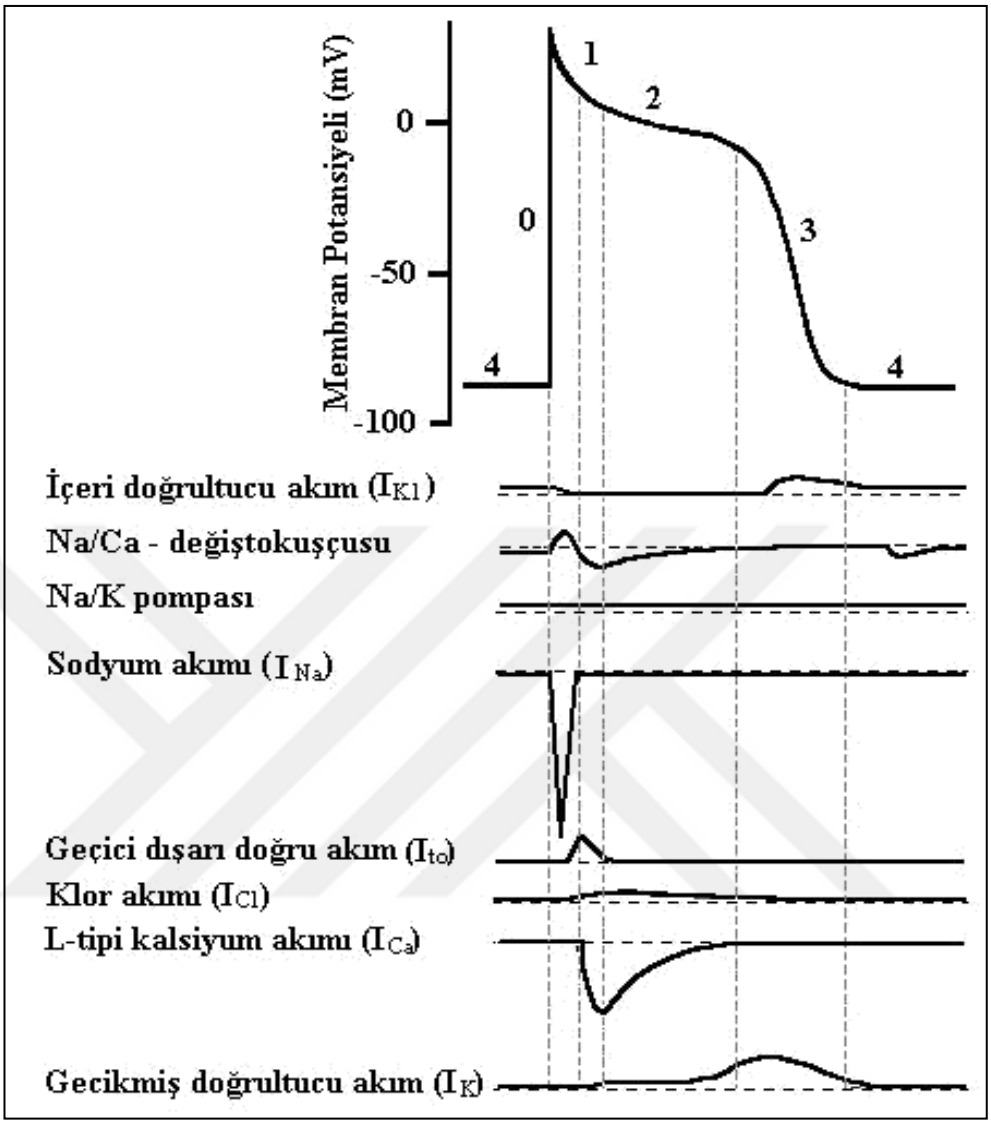
Hızlı yükselme evresi (Faz 0): Bu evre hızlı depolarizsyon evresidir. Na^+ kanallarının aktif hale gelmesiyle hücre içine Na^+ akımı (I_{Na}) sağlanır. Aynı zamanda bu kanallar hızlı inaktive olma özelliğine sahiptir.

Erken repolarizasyon evresi (Faz 1): Aksiyon potansiyonelinin kısa süreli evresi olan bu aşamada zar potansiyelinde hızlı repolarizasyon meydana gelir. Bu fazda oluşan depolarizasyonda bir tip K^+ kanalının dışarı doğru akımına bağlı gelişir. Minimal olmakla birlikte bu evreye Cl^- akımının da katkısı vardır.

Plato evresi (Faz 2): Bu evrede L-tipi Ca^{+2} kanalları görev almaktadır. Hücre içine kalsiyum geçişini sağlayan bu kanallar kas kasılmasının başlamasını sağlar. Bu fazda zar potansiyeli göreceli sabit kalır aksiyon potansiyeli uzundur.

Repolarizasyon evresi (Faz 3): Plato evresi sonrası gelişen son repolarizasyon evresidir. İnaktivasyon sonucu I_{Ca} azalırken yavaş aktive olan I_{Na} artar ve baskın hale gelir. Bu evrede inaktivasyon yoktur, bu nedenle aksiyon potansiyeli süresi uzundur. Hücre içine potasyum iletkenliğinin artışı (I_{Kl}) bu fazın oluşumunda önemlidir.

Dinlenim evresi (Faz 4): Dinlenim zar potansiyelinde bulunan hücre zarının fazıdır. Büyük oranda I_{k1} olarak belirlenir. Hücre zarı potasyum için geçirgendir. Tüm bu mekanizmaya yardımcı olarak aksiyon potansiyeli süresince aktif iyon pompaları ve değiş tokuş sistemleri mevcuttur (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Ventrikül aksiyon potansiyelinin evreleri ve onlara karşılık gelen iyon akımları (Mukherjee 1999).

İyon dengelenmesinde yer alan pompalar;

a. ***Na^+/K^+ pompası:*** Kardiyak glikositleri tarafından inhibe olan her döngüde 3 Na^+ dışarı, 2 K^+ içeriye doğru akım oluşturmaktadır. Uyarımı hücre içi iyon konsantrasyonlarına bağlıdır.

b. ***Ca^{+2} pompası:*** Hücre dışına Ca^{+2}'un taşınımını sağlar. ATP'ye bağımlıdır.

c. ***Sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} pompası (SERCA):*** Sarkoplazmik retikulum içine ATP'ye bağlı olarak Ca^{+2} taşınımını sağlar.

d. *Na^+/Ca^{+2} değiş tokuşcusu (NCX):* Her siklusta 1 Ca^{+2}'a karşılık 3 Na^+ değiş tokuş edilir. Hedef gerçekleşecek Na^+ kimyasal gradiyent akımı ile Ca^{+2} atılımını sağlamaktır. AP'nin başlangıcındaki depolarizasyon evresinde, Ca^{+2}'un geri alımına ve Na^+'un ise

hücreden atılımına, bunu takiben repolarizasyonun başlaması ile Na^{+}'un geri alımına ve Ca^{+2}'un atılımını sağlar.

1.2. Diyabetes Mellitus (DM)

Diyabetes mellitus (DM) yaşam tarzı çevresel faktörler ve genetik değişikliklerin etkileşimi ile ortaya çıkan insülin eksikliği veya insülinin dokulardaki reseptör duyarlılığının azalması sonucu oluşan kan glukoz seviyesinin yükselmesiyle sonuçlanan bir grup metabolik bozukluğu içine alır. DM'deki metabolik düzensizlikler organ sistemlerinde birçok patofizyolojik değişikliğe sebep olur. Plazma insülin seviyesinin düşüklüğü karbonhidrat, yağ, protein ve elektrolit metabolizmasında patofizyolojilk değişikliklere neden olur. Kan glukoz düzeylerinin yüksekliği bu metabolik hastalığın en açık göstergesidir (Harrison 2004).

DM'de komplikasyon gelişme riski hiperglisemiye maruz kalma süresi ve kan glukoz düzeyleri ile doğru orantılıdır. DM dünya çapında artan insidansı ile muhtemelen gelecek yıllarda da en önemli morbidite ve mortalide sebebi olmaya devam edecektir (King ve arkadaşları 1998).

1.2.1. Diyabetes Mellitus Tipleri

Tip 1 Diyabetes Mellitus

Tip 1 diyabetes mellitus (DM), pankreatik beta hücrelerinin zarar görmesi sonucu insülin üretiminin olmadığı ve tüm DM'lü hastalar içinde %1'ini oluşturan tipidir. İnsüline bağımlı diyabetüs mellitus (IDDM) genç erişkin bireylerde 20'li yaşlardan itibaren görülmekle birlikte, otoimmün hücre yıkımı ile karakterizedir. DM iki büyük sınıfa ayrılır. Tip 1 ve Tip 2 diyabet olarak isimlendirilir. İnsülin yetersizliğine yol açan otoimmün beta hücre yıkımı ile gelişen Tip 1a DM ve insülün üretim azlığıyla karakterize olan Tip 1b DM'dur. Tip 1 DM'de ketozise eğilim olup obezite ile ilişkili olmayan formdur.

Tip 2 Diyabetes Mellitus

Tip 2 DM ise değişik derecelerde insülin direnci, azalmış insülin sekresyonu, glukoz üretiminde artış ile karakterize bir metabolik hastalıktır. Genel itibari ile 40 yaş üzeri kişilerde başlayan büyük çoğunluğu obez popülasyonda rastlanılan tipidir. Tip 2 DM'de tüm periferik dokularda insüline dirençle karakterizedir. Tip 2 DM'de bazal insülin değerleri genel olarak normaldir. Tüm dokulardaki hücrelerin insüline duyarlılığının azalması sonucu ortaya çıkan insülin direnci ise hücrelerdeki reseptör bozuklukları ya da reseptör sayılarındaki azalmaya bağlıdır. Tip 2 DM ketozise dirençli ve insülin tedavisine gerek duyulmamaktadır.

Gestasyonel Diyabetes mellitus

İlk olarak gebelik sırasında farkına varılan glukoz intoleransının geliştiği ve ilerleyen dönemlerde insülin direncinin ve insülin ihtiyacının artıtığı DM tipidir.

Diğer Diyabetes mellitus tipleri

İnsülin etkisini antogonize eden hormonların aşırı sekresyonu sonucu değişik endokrinopatiler de diyabete neden olabilirler. Bu grupta akromegali ve Cushing hastalığı dikkate değerdir (Harrison 2004).

1.2.2. Diyabetes mellitus komplikasyonları ve fizyopatolojisi

Kronik komplikasyonlar

Vasküler ve nonvasküler komplikasyonlar olarak ikiye ayrılır. Vasküler komplikasyonlarda mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar olarak ikiye ayrılır. Mikrovasküler komplikasyonlar başlıca; nefropati, retinopati, nöropati ile karakterize iken, makrovasküler komplikasyonlar; koroner arter hastalığı, periferik vasküler hastalık, serebrovasküler hastalık olarak ayrılır. Nonvasküler komplikasyonlara ise enfeksiyon yatkınlıkları, deri hastalıkları, seksüel disfonksiyonlar örnek verilebilir.

Diyabetik Kardiyomiyopati (DKMP)

Ateroskleroz, koroner arter hastalığı, miyokard enfarktüsü, serebrovasküler hastalık, hipertansiyon ve diyabetik kardiyomiyopati (DKMP) gibi kardiyovasküler komlikasyonlar diyabete bağlı morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerindendir (Shiem ve ark 2007).

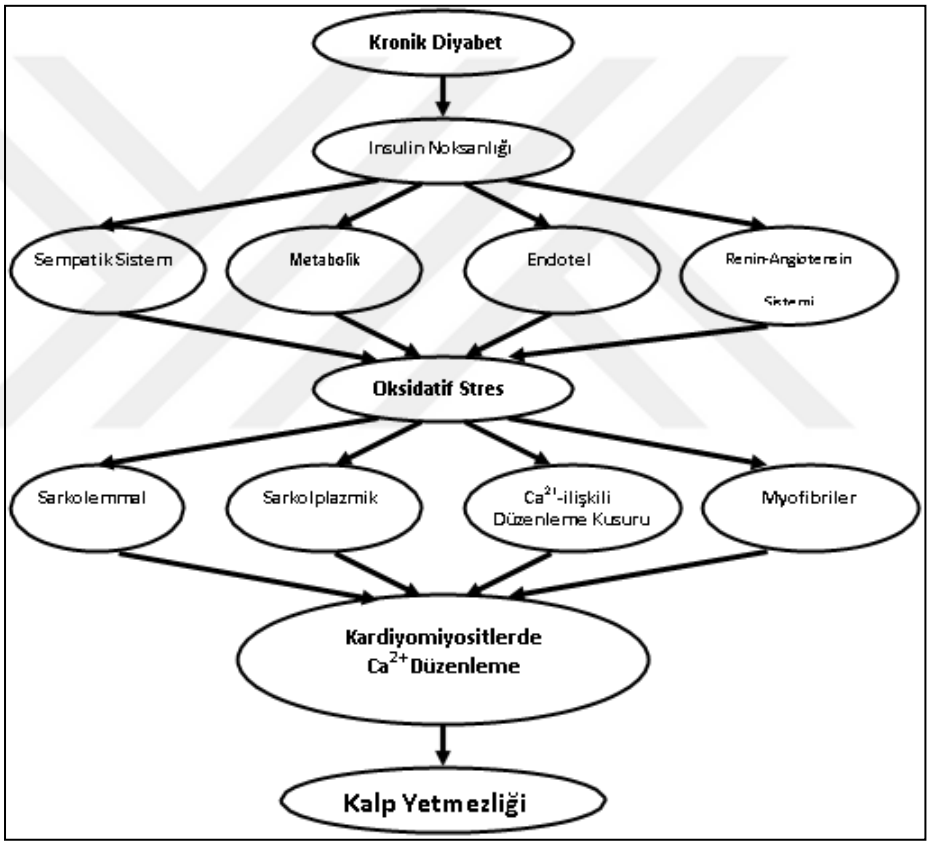
Diyabetik kardiyomiyopati (DKMP) esas olarak koroner arter hastalığı ve hipertansiyondan bağımsız olarak kasılma fonkiyonlarının bozulduğu bir kardiyomiyopati şeklidir (Jennifer ve ark 2001). DKMP sistolik fonksiyon bozukluğundan önce diastolik fonksiyon bozukluğunun ortaya çıkmasıyla karakterizedir (Garcia ve ark 1974, Shiem ve ark 2007). DKMP'de aynı zamanda sol ventrikül duvar kalınlığında artış, aterosklerotik değişikliklerde artış ve sistolik fonksiyonlarda artış görülmüştür. DKMP'de temel olarak meydana gelen yapısal değişiklik; sol ventrikül hipertrofisidir.

DKMP'ye histolojik olarak incelendiğinde miyositlerde hipertrofi intramiyokardiyal miyopati mikroanjiopati ve bazal membran kalınlığı artışı saptlanmıştır.

DM'un yol açtığı kalp yetmezliği hücresel fonksiyon bozukluklarının sonucunda ortaya çıkmaktadır. Diyabetik kardiyomiyopatik deneylerde yapılan incelemeler sırasında düşük miyozin ATPaz hareketliliği, sarkoplazmik retikulum kalsiyum alımında disfonksiyon, liflerin kısalma ve gevşeme süratinde azalma, glukoz transporterinde azalma gibi fonksiyon bozuklukları görülmüştür.

Diyabetik kardiyomiyopati modellerinde sol ventrükül papiller kasında kontraksiyon ve relaksasyon sürelerinin uzadığı ifade edilmiştir. Diyabetik kalplerde yapılan deneylerde kalp atımında azalma ile birlikte birçok inotropik değişikliğinde oluştuğu görülmüştür. Hücresel elektrofizyolojik değişiklikler bu durumun asıl nedenidir. Bu elektriksel değişikliklerde venrikül ve atriumlardan ölçülen aksiyon potansiyeli sürelerinin kontrol gruplarına göre anlamlı şekilde uzadığı görülmüştür (Ayaz ve ark 2004) (Şekil 1.7).

İyon akımlarındaki değişiklikler AP'de meydana gelen uzamanın ilişkisi araştırılmıştır, yapılan bu araştırmalarda kalsiyum akımlarında bir değişiklik meydana gelmediği geçici dışarı doğru (transient outward; I_{to}) ve kararlı durumdaki (steady-state;I_{ss}) pasif potasyum akımlarının azaldığı bildirilmiştir (Shimoni ve ark 1994).

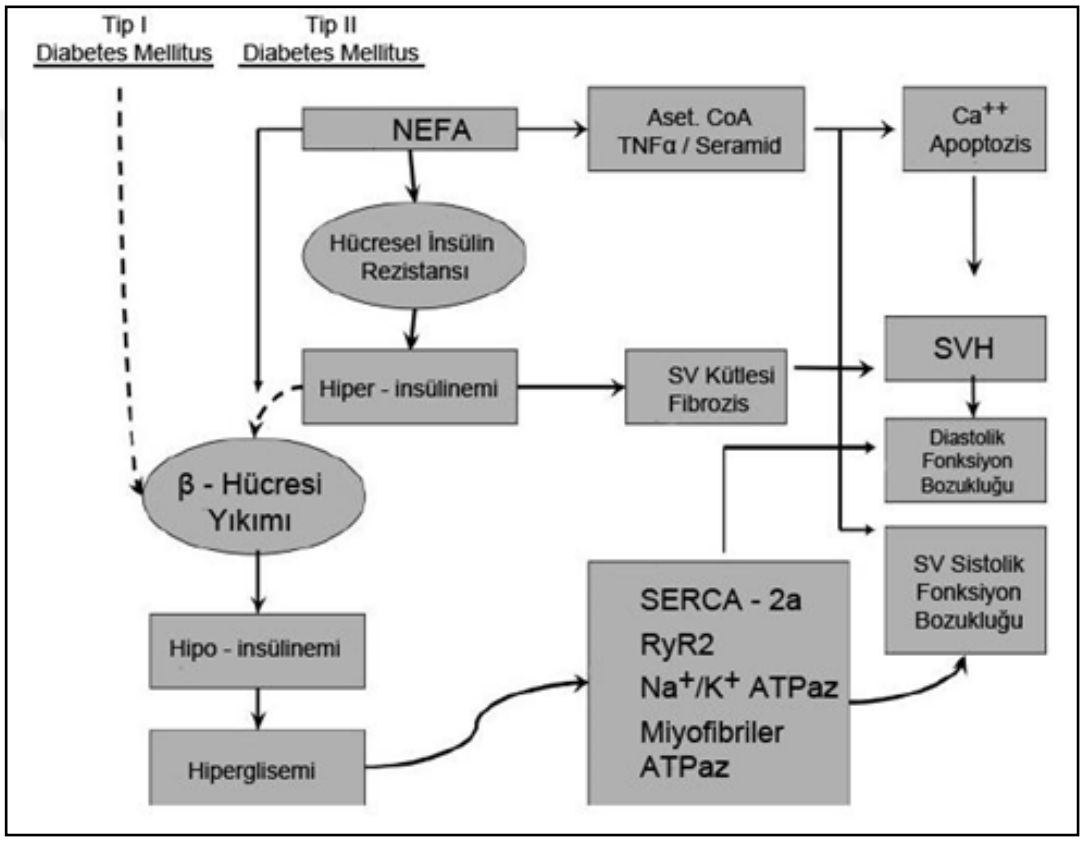


Şekil 1.7. Diyabetik kardiyomiyopati gelişimi sırasında oksidatif stresin neden olduğu kalp yetmezliği için önerilen mekanizma (Dhalla ve ark 1998).

Diyabetik modellerde hücre içi kalsiyum seviyesi kalbin kasılma mekanizmasındaki önemli faktörlerden biridir (Ishıkawa ve ark 1999). Kalsiyum sinyal sistemindeki fizyopatolojik değişiklikler kardiyomiyopati ve kalp yetmezliğinde karakteristik belirleyicidir (Shımoni ve ark 1994). Hücre içi kalsiyum konsantrasyonun düzenlenmesini sağlayan önemli yollar mevcuttur, bunlardan bazıları SERCA, sarkoplazmik retikulum (SR) Ca^{+2} salınım kanalı, sarkoplazmik membranda bulunan kanal proteini (PLE), Na^{+}/Ca^{+2} değiş-

tokuşcusu (NCX)'dur. Bu kalsiyum kanal sistemlerinde meydana gelen patalojiler kardiyomiyopati oluşumunda önemli bir rol oynarlar (Choi ve ark 2002).

Sarkoplazmik retikulumu oluşturan esas protein yapı SERCA'dır. Ayrıca diyabetik kalplerde protein kinaz C aktivitesi artmıştır (Wakasaki ve ark 1997). Kalp kasında en önemli kalsiyum depolarından biri SR'dir ve kasılma mekanizmasında kalsiyumun depolardan salınımı ve depo içine alınımından sorumludur. DKMP'de NCX ve SERCA'nın etkinliklerinde gözle görülür bir azalma olduğu tespit edilmiştir (Yujz ve ark 1997). Diğer yandan artmış olan protein kinaz C aktivasyonunun troponin I fosforilasyonunu sağlayarak aktimiyozin etkileşimini azalttığı var sayılmaktadır (Malthotra ve ark 2001) (Şekil 1.8).



Şekil 1.8. Tip I ve tip II diyabetik kardiyomiyopati ile ilgili olası moleküler mekanizmaları gösteren hipotetik bir yolak şeması. NEFA esterleşmemiş yağ asitlerini, SV sol ventrikülü, SVH sol ventrikül hipertrofisini temsil etmektedir (Poornima ve ark 2006).

Diyabetik Kardiyomiyopatinin Fizyopatolojisi

Hiperglisemi: DKMP gelişiminde yükselmiş kan glukoz düzeyi en önemli gelişimsel faktördür. Hiperglisemi ileri glikasyon son ürünleri üretimine neden olur. Bu durum nitrik oksit (NO)'in aktivasyonun bozulmasına ve koroner dilatasyonun bozulmasına neden olur. Hiperglisemiye sekonder bozulan transkripsiyon sonucu kontraksiyon disfonksiyonuna neden olan miyokardiyal reaktif oksijen türleri (ROS) üretimine neden olur.

Hipergliseminin bir diğer sonucu da miyokardiyal fibrozis ve kollajen birikimidir (Singh ve ark 2001). Hiperglisemi ile beraber hemoglobin A1C (HbA1C) değerindeki yükselme kalp yetmezliği görülme ihtimalini önemli düzeyde artırmaktadır.

Yağ asitleri: Hiperlidemi; sadece koroner endotel disfonksiyonuna neden olmakla kalmaz ve glikoliz ile miyokardın enerji sağlama mekanizmalarını bozar (Rodrigues ve ark 1998).

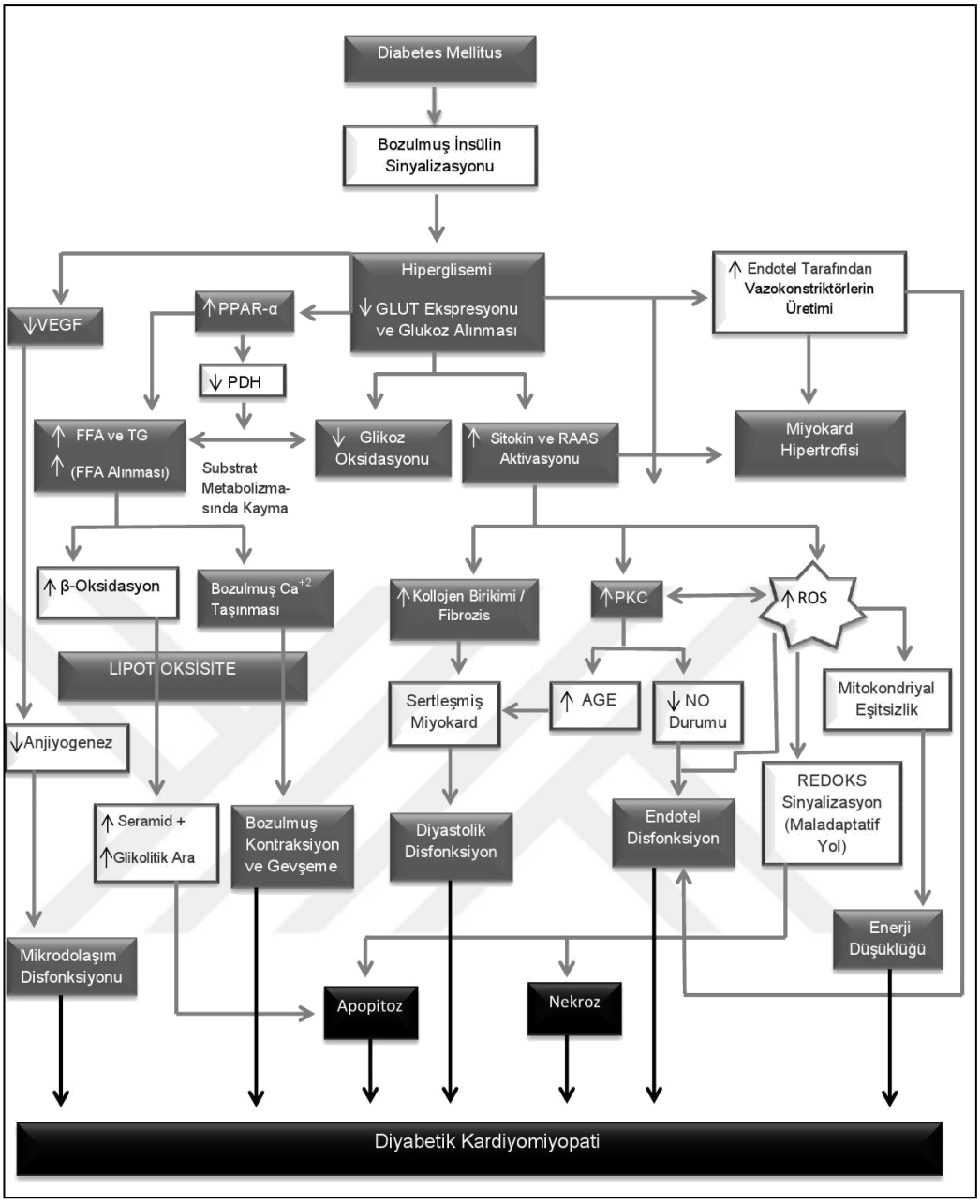
PKC: Diaçil gliserol (DAG) ve protein kinaz C (PKC) sinyal iletim yolunun aktivasyonu doku kan akımının azalması, vasküler permeabilite artışı ve neovaskülarizasonda olumsuz değişikliklere neden olur (Way ve ark 2001). Renin anjiotensin sistemi (RAAS) aktivasyonu ise sempatik sistem aktivasyonu ve kardiyak performansın bozulmasına neden olur. Anjiotensin II'nin kardiyak dokuda artışı kardiyomiyosit hipertrofisi ve apopitozla ilişkilidir. Anjiotensin II ve aldosteronun; kardiyak fibrozisi indüklediği, kollajen birikimi ve fibroblast proliferasyon artışına neden olduğu bilinmektedir (Kajstura ve ark 2001, Young ve ark 1995).

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 (HIF-1) ve Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF): Hipoksi ve serbest radikaller aracılığıyla oluşan HIF-1 Beta aktivasyonu; anjioprotini PGF (Plesental büyüme faktörü), PDGF-Beta (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü-Beta) ve VEGF'yi indükler ancak; diyabetik durumda VEGF ve onun reseptörleriolan VEGF-R1 ve VEGF-R2, önemli ölçüde azalmıştır. Bu durum bozulmuş anjiogeneze neden olur (Chou ve ark 2002, Rivard ve ark 1999).

Endotel disfonksiyonu: Kronik hiperglisemi ve dislipidemi endotelyal disfonksiyona katkıda bulunur. Bozulmuş endotelyal NO üretimi ve vazokonstrüktör prostaglandinler bu disfonksiyonda rol oynar. Matrix üretimi artışı ile bazal membran kalınlığını artırır (Tooke 1995).

Arteriyoskleroz: Hipertansiyon ve diyabet endotelyal disfonksiyon aracılı fibrozis yaparak arteriyal sertliği arttırır (London ve ark 1999).

Otonomik nöropati: Kardiyak otonomik nöropati bozuk diyastolik fonksiyona ve kardiyovasküler risk artışına katkıda bulunur. Parasempatik ve sempatik miyokard innervasyonun azalması ve bozulmuş koroner vasküler direnç nedeni ile diyastolik dolum bozulur (Monteagudo ve ark 2000) (Şekil 1.9).

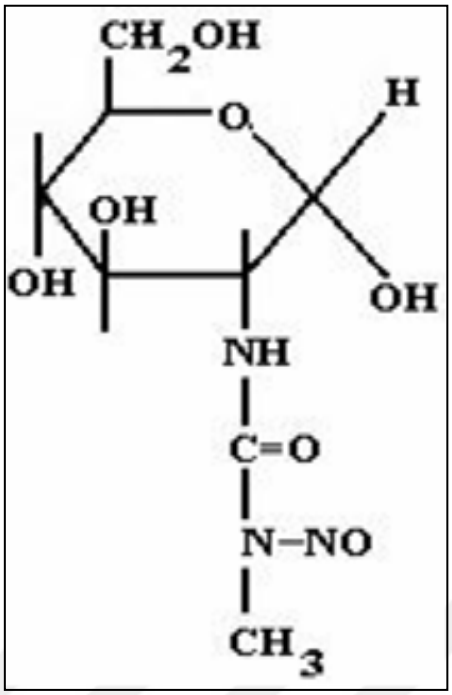


Şekil 1.9. DKMP'nin Patofizyolojik Mekanizmaları (Falcao-Pires 2012).

1.2.3. Deneysel Diyabet Modeli ve Oluşturulması

Streptozosin (STZ), "Streptomicez akromoneges" kültürlerinden sentetik olarak elde edilen nitrozüre grubu antineoplastik onkolitik, stetoksik bir ilaçtır. Pankreas beta hücreleri için sitotoksik özelliği nedeni ile deneysel diyabet oluşturmak amacı ile kullanılır. STZ etkisini "kolaylaştırılmış difüzyon" ile beta hücresine girerek enerji metabolizmasını bloke ederek gösterdiği bilinmektedir. Asıl hedef beta hücresi içerisindeki DNA'dır.

STZ'nin yapısal olarak glukoz molekülü içerdiği ve bu sayede glukoreseptörler aracılığıyla uyarılmış olan insülin salınımını engellediği bilinmektedir (Shneider ve ark 1984, Bell ve ark 1983) (Şekil 1.10).



Şekil 1.10. Streptozosinin yapısı (Schneider ve ark 1984).

STZ -20°C ışık izolasyonuyla saklanmalı ve pH 4-4.5 arasında olan sitrat tamponu içinde hazırlanmalıdır. Nötral pH'da STZ hızla dekompanse olmaktadır (Kuçer ve ark 2012, Bell ve ark 1983, Ewis ve ark 1995).

Deneysel diyabet modelinde ise ratlarda DM oluşturmak amacı ile STZ ratların kütlelerine göre 50-65 mg/kg dozda intraperitonel ya da intravenöz enjeksiyonla uygulanmaktadır (Tozzo ve ark 1997). STZ uygulanması sonrasında hasar 30 dakika ile 2 saat arasında meydana gelmektedir. STZ uygulamasından 6 saat sonra insülin düzeyindeki yükselmeye bağlı olarak hipoglisemi gözlenmektedir ve ilerleyen dönemlerde insülin titrelerindeki azalma ile birlikte STZ'nin diabetojenik etkisi görülmektedir (Portha ve ark 1974).

STZ beta hücrelerinin içerisine metobolize olarak oluşturduğu nitrikoksit ile DNA ayrılmasına neden olarak etkisini gösterir. NO ürünlerinin STZ ile yapılan deneysel çalışmalarında diyabetik sıçanların idrar ve plazmalarında nitrikoksitin arttığı gözlenmiştir (Szkudelzki 2001).

STZ ile yapılan deneysel diyabetik hayvan model çalışmaları ile ilk kez 1980 yılında Fein ve arkadaşları, toplam AP süresinin uzması, kasılma ve gevşeme hızlarının azalması ve ventrikül AP genliğinin azaldığını rapor etmişlerdir. Ancak diğer araştımacılar diyabetik sıçan ventrikül hücrelerinin dinlenim zar potansiyelinde ve maksimum depolarizasyon hızında bir değişme göstermezken, AP süresindeki uzamayı gözlemişlerdir.

Diyabetli hayvan kalbi ventrikül bölgesinden izole edilen hücrelerden yapılan kayıtlarda AP sürelerinin uzadığı ve dinlenim zar potansiyelinin değişmediği gözlenmiştir. Repolarizasyon evresindeki bu uzamadan zarı repolarize edici K^+ kanallarının sorumlu olduğu gösterilmiştir. Değişik tipleri bulunan K^+ kanallarından I_{Ki}'da hiçbir değişiklik gözlenmezken, I_{to} ve I_{ss} akımlarının yoğunluklarının azaldığı gözlenmiştir (Fein ve ark 1980).

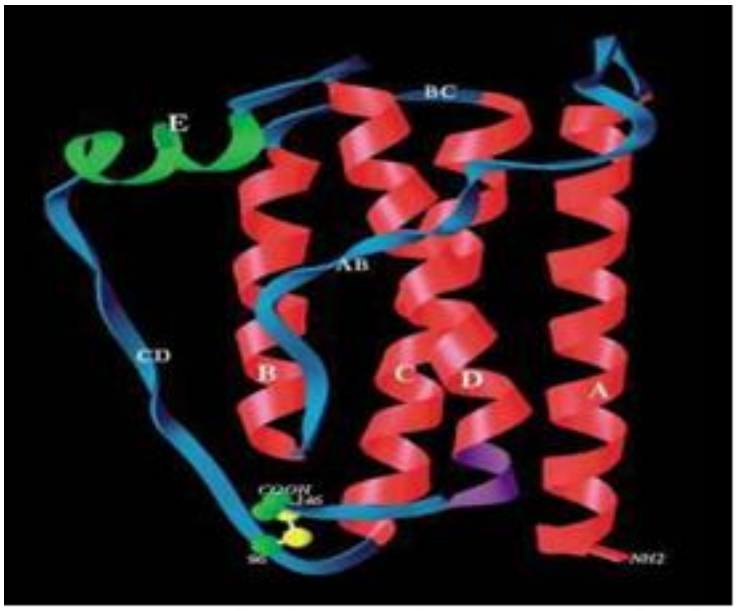
STZ diyabetik ratlarda ventriküler papiller kasa etkilerinin incelenmesi sonucunda kasın kontraksiyon hızının azaldığı ve papiller kasın relaksasyon süresinin uzadığı tespit edilmiştir. Oluşan tüm kardiyak elektrofizyolojik değişikliklerin sadece hiperglisemi ile açıklanamayacağı, diyabet modellerinde kasılma proteinlerinin enzimatik etkinliğinin belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Fein ve ark 1980).

1.3. Leptin

1.3.1. Leptinin yapısı ve özellikleri

1953 yılında Kenedy tarafından yağ dokudan vücut kütlesini düzenleyen bir hormon üretildiği ve vücuttaki yağ doku miktarına bağlı olarak dolaşımda bulunduğu öne sürülmüştür. Leptin çoğunlukla beyaz yağ dokuda üretilen 167 aminoasitli polipeptit yapıya sahiptir (Şekil 1.11). 1994 yılında Zang ve arkadaşları adipoz doku hücrelerinde yaptıkları kültür çalışmaları sonucu leptinin ob geni tarafınfan yağ hücrelerinde üretildiğini ve serumda belirli bir titre oluşturduğunu göstermişlerdir ve takiben de obezitenin tipik fenotipinden sorumlu 7 q 31'de lokalize obez gen klonu (ob/ob) ortaya konulmuştur (Flier JS ve ark.1998).

Leptin daha çok yağ dokuda üretilir, eneji durumunu yansıtan dolaşımdaki leptin düzeyi vücut yağ kütlesiyle ilişkilidir. Leptin enerji hemostasisi, nöroendokrin ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde etkin rolü olduğu gözlenmiştir. Obezitede karakteristik olarak artan leptin ve leptin direnciyle ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Aynı zamanda leptin reseptörleri kalp, plasenta, meme bezi, ovaryum, testis, böbrek, çizgili kas, karaciğer, pankreas, mide ve lenf doku dahil bir çok dokuda bulunur (Zang ve ark 1994, Park ve ark 2014, Libby 1995). Benzer şekilde yapılan çalışmalarda da obez ratlarda leptin geninde mutasyon olduğu, bu sebeple meydana gelen leptin direnci ile ob gen transkripsiyonuna ve sonuç olarak plazma leptin düzeylerinde artış meydana geldiği gösterilmiştir (Iraklinaou ve ark 2001).

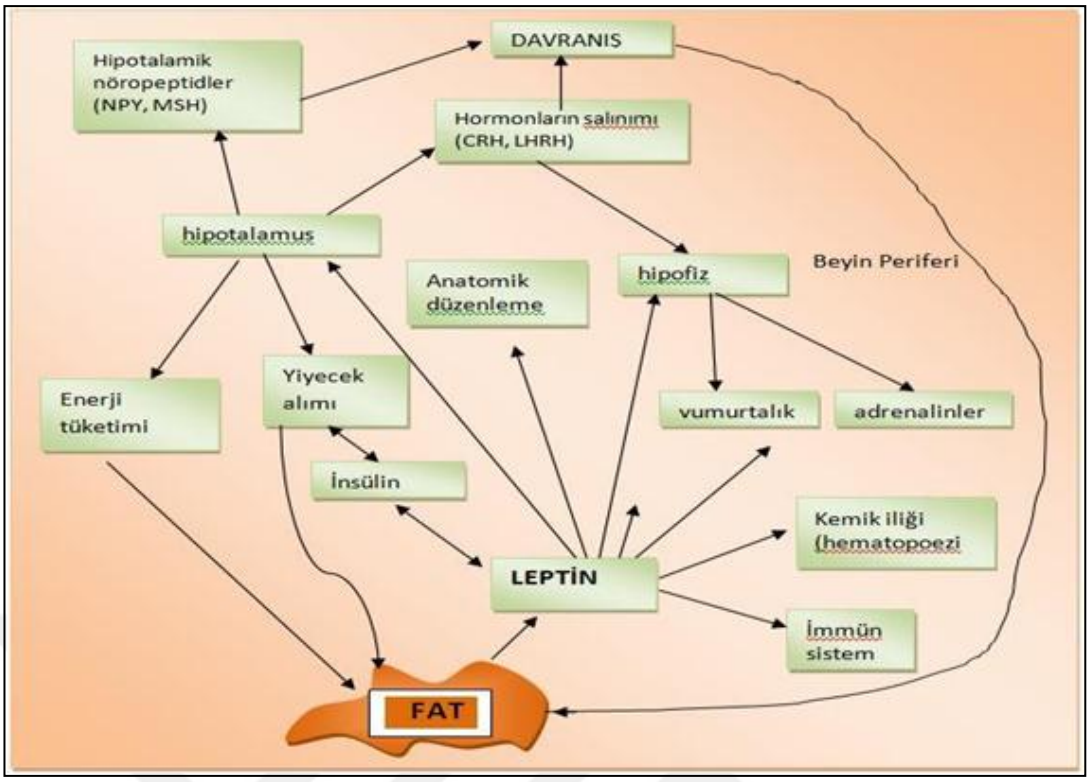


Şekil 1.11. Leptinin Yapısı.

1.3.2. Leptinin fizyolojik etkileri

Leptinin salgılanması pulsatil ve diürnal ritimle sağlanır. Bu sentez öğle, öğleden sonra düşük düzeyli bir sirkadien ritm sergilerken, en yüksek değerlere sabah saatlerinde ulaşır (Boden ve ark 1996). Yemeklerden 2-3 saat sonra salgılanmakla birlikte yarılanma ömrü 30-40 dk sürer. Leptin ritmi troid uyarıcı hormon, prolaktin ve serbest yağ asitleri ritmi ile benzer, kortizol ile ters ilişki gösterir (MoUer 1998). İnsanda serum leptin düzeyleri cinsiyete göre farklılık göstermektedir. Yağ kitleleri eşit olan kadın ve erkek cinsiyetlerde yapılan leptin düzey taramalarında kadınların leptin düzeylerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (Rosenbau ve ark 1996).

Leptin sekresyonunda birçok faktör etkilidir bu faktörlerinden bazıları uyku, uykuya bağlı artmış glukoz ve büyüme hormonu konsantrasyonlarıdır. Radioimmunassay (RIA) leptinin ölçüm yöntemi olarak kullanılır. Leptinin plazmadaki fizyolojik miktarı 5-20 ng/ml düzeyindedir (Ergün 1999). Vücutta leptin sekresyonunu stimüle eden insülin, glikokotikoidler ve prolaktin gibi faktörler varken sebest yağ asitleri, adrenalin (katekolaminler), tiroid hormonları, soğuk maruziyeti, somatostin ve büyüme hormonu antagonist etki gösterir leptin setezini inhibe ederler (Cusin ve ark 1995, Aslan ve ark 2004) (Şekil 1.12).



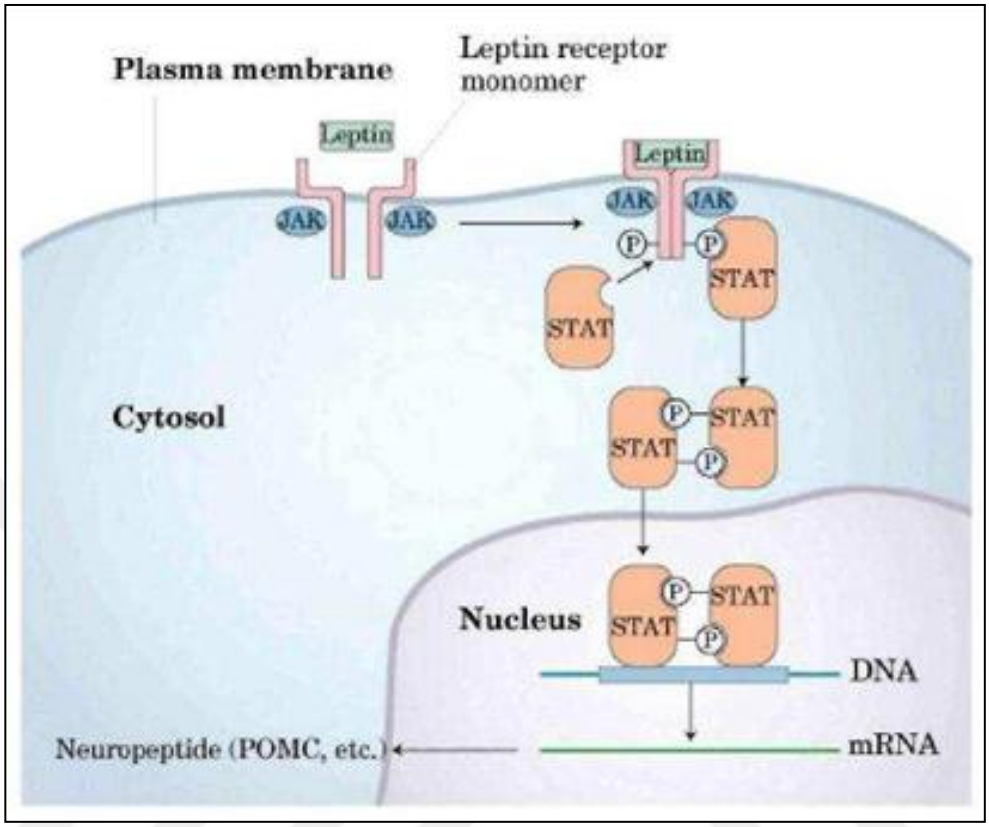
Şekil 1.12. Leptinin biyolojik etkilerinin şematik gösterimi. Adipoz dokuda leptin üretimi. Leptinin hipotalamus, immün sistem, anjiyogenezis, endokrin pankreas, overler, otonomik sistem ve kemik iliğindeki santral ve periferal etkileri. Prolo ve ark.larının makalesinden modifiye edilmiştir (Prolo ve ark 1998).

Leptinin ana etki mekanizmasını merkezi sinir sisteminde yer alan özel leptin reseptörlerine (LepRs) bağlanarak gösterir (Park ve ark 2014, Tartalglia ve ark 1995). Bu reseptörler emzim aracılı reseptörlerdir. Aynı zamanda sitokin ailesinde yer alırlar. Leptin reseptörleri dimer yapısında olup uzun ve kısa formları mevcuttur (Guyton 2007).

Leptin enerji dengesini özellikle en karakteristik özelliği iştahı artırmak olan nöropeptit-Y (NPY)'nin hipotalamusta Ob-Ra reseptörüne bağlanarak arkuat nükleustan sentezini engelleyerek dengeler (Spitzbeg ve ark 1997, Auwerx ve ark 1998). Bu durum obezite gen delesyonuna sekonder plazma leptin seviyeleri düşük olan ratlarda NPY'de yüksek düzeylerde artış görülmesiyle desteklenmiştir (Schvvartz ve ark 1996).

Leptin reseptörünün izoformunun (LepRb), leptinin enerji mekanizması ve nöroendokrin faaliyetleri düzenlediği hipotalamus ve diğer beyin bölgelerinde yüksek oranda sentezlendiği tespit edilmiştir. Bu reseptörün esas leptin reseptörü olduğu düşünülmektedir. LepRb reseptörü başta besin emiliminin baskılanması ve enerji tüketiminin uyarılmasından sorumlu olduğu ortaya konulmuştur. LepRb'nin kısa formunun kan beyin bariyerini aşarak leptinin taşınmasını düzenlediği düşünülmektedir (Park ve ark 2014). Ayrıca leptin hücre içi

fonksiyonlarını janus kinaz (JAK) ve signal transducers and activators of transcription (STAT-3) proteinlerinin aracılığı ile sağlamaktadır (Zhang ve ark 2005) Şekil 1.13).



Şekil 1.13. Leptinin hücre içi sinyalizasyon mekanizması. STAT; Signal transducers and activators of transcription, JAK; Janus kinase, DNA; Deokrisibo nükleik asit, mRNA: Masanger reoksiribonükleik asit (Baumann ve ark 1996).

1.3.3. Leptin eksikliği ve sistemik etkileri

Doğuştan leptin eksikliği olan bireylerdeki ve Ob/ob farelerindeki total leptin eksikliği insülin direnci, diyabet, steatosis ve metabolik sendromların diğer özellikleriyle sonuçlanır.

Ob/ob farelerinde, leptin tedavisi, kilo kaybına neden olmadan önce hızlı bir şekilde glukoz, insülin ve lipidin azalmasına neden olur. Doğuştan leptin eksikliği olan obez hasta bireylerde, leptin eksikliğinin giderilmesi insülin direnci, steatosis ve dyslipidemia ve glukoz düzeyini azaltır.

Benzer bir şekilde, merkezi ve periferal leptin uygulaması genel lipoatrofide insülin direnci, steatosis ve glikozu azaltır. Ciddi leptin eksikliği olan lipodistrofik insanlarda leptin uygulaması glukoz ve lipid metabolizmasındaki gelişmeyle sonuçlanır. Buna, karaciğer ve kasta trigliserit toplanmasında önemli oranda azalma eşlik eder. Aksine, leptin ortalama

leptin düzeyine sahip olan insanlarda, hiperglisemiyi tersine çeviremez, fakat plazma ve karaciğer trigliserid düzeyini azaltır.

Leptin tedavisi farelerde visseral yağda azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Margetic ve ark 2002). Benzer şekilde, lipoatrofili hastalara leptinin verilmesi, gövde yağında önemli azalmayla sonuçlanır. Buna visseral adipositdeki azalma eşlik eder.

Çeşitli çalışmalar leptinin doğal ve kazanılmış bağışıklığı düzenlemede önemli rollere sahip olduğunu göstermiştir. Leptin, interlökin 6 (IL-6), interlökin 12 (IL-12), tömür nekrosis faktör alfa (TNF-alfa) gibi proinflamatuar sitokininlerin üretilmesinin yanında, nötrofil kemotaksisini uyarır ve makrofaj fagasitozunu destekler (Fantuzzi ve ark 2000). Son zamanlarda, leptinin, T helper 1 hücrelerini uyaran, düzenleyici T hücrelerinin proliferasyonu için negatif bir sinyal olarak etki oluşturduğu gösterilmiştir. Bu nedenle leptin bağışıklık sisteminin gelişmesine ve enfeksiyonlardan korunmaya katkı sağlayabilir.

Ob/ob fareleriyle ve kısa bir süre aç bırakılan normal farelerle yapılan bir invivo çalışmada ise leptin tedavisinin hipoleptinle ilişkili olarak bağışıklık sistemi bozulan bu fareleri koruduğunu göstermiştir. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında doğuştan leptin eksikliği olan bireyler daha hassas bir enfeksiyon eğilimine sahiptir. Bu muhtemelen CD4+ T hücreleri, yetersiz T hücre çoğalması ve sitokin serbestlenmesinin azalmasından kaynaklanır. Bunların hepsi leptin uygulamasıyla normal hale gelir. Kronik leptin eksikliği olan, hipotalamik amenoreli bayanlara leptin verilmesinin, hem çözünebilir TNF-alfa reseptörlerini arttırdığı hem de her iki CD4+ T hücre sayısını restore ettiği gösterilmiştir. Bu leptinin kronik hipoleptinli bireylerde bağışıklık oluşumunu kolaylaştırabileceğini göstermektedir (Juge-Aubry ve ark 2003).

Aksine, leptin uygulaması kısa dönemli açlıktan kaynaklanan akut leptin eksikliği olan bireylerde bağışıklık sistemi hücreleri ve serum sitokinleri üzerine büyük bir etkiye sahip değildir. Leptin bağışıklık sistemi hastalıklarının gelişimini etkileyebilir. Leptin eksikliği olan ob/ob fareleri hastalıkların uyarılması ve gelişimine karşı dirençli iken, leptin tedavisi deneysel otoümmin ensefalomiyeliti, insanlarda multipl sklerosis için deneysel hayvan modelini ve duyarlı fare ırklarını güçlendirir. Buna ek olarak leptin uygulaması duyarlı farelerde hastalığın başlamasını hızlandırır. Multipl sklerosisli hastalar, kontrolle karşılaştırıldığında kan ve serebrospinal sıvıda leptin düzeyini arttığı ve periferal düzenleyici T hücrelerinin sayısının azaldığı görülmüştür. Bu bulgular beraber ele alındığında, inflamatuar ve bağışıklık sistemi hastalıklarında leptinin potansiyel bir rolü olduğunu göstermektedir (Farooqi ve ark 2002).

Leptinin kardiyak etkilerine bakıldığında obezitenin gelişiminde önemli bir yere sahip olmasından dolayı hipertansiyon ve ateroskleroz temelinde bir patofizyoloji ile kardiyak etkilerinin olduğu değerlendirilebilir (Wallace ve ark 2001). Ancak yapılan birçok çalışmada zıt görüşler ortaya atılmıştır. Leptinin NO aracılığı ile koroner vazodilatasyon,

anjiogenesis, endotelyal progenitör hücre uyarılmasını sağlaması gibi olumlu etkileri varken diğer taraftan sempatik aktivasyon, reaktif oksijen üretimi, insülin rezistansı oluşturması, platelet aktivasyonuna neden olması ve proinflamatuar etkileri nedeni ile kardiyovasküler sistem üzerine zararlı etkileri ortaya atılmıştır (Wolk ve ark 2004).

Leptin uygulaması leptin eksikliği durumunda önemli etkilere sahiptir. Leptin verilmesi vücut ağırlığı ve yağı etkili bir şekilde azaltır ve doğuştan leptin eksikliği olan bireylerde nöroendokrin ve metabolik anormallikleri düzeltir (Park ve ark 2014). Hipotalamik amenoreli bayanlara leptin uygulaması ile menstrüal siklusda düzelme, gonadal, tiroid ve adrenal bozuklukların düzelmesi görülmüştür. Kemik oluşumuna dair bulgular ile kemik mineral yoğunluğunu arttırmaktadır (Rosenbaum ve ark 1998).

Diğer yandan obez hastalarda obeziteden leptin eksikliğinin sorumlu tutulabileceği ve eksternal leptin uygulamalarıyla tedavi edilebileciği gündem de olsa da çoğu hastada ob geninde mutasyonla birlikte leptin düzeyleri normal olarak ölçülmüştür. Bu durum bize obezitenin leptin direnciyle alakalı bir metabolik hastalık olabileceğinin önemli bir göstergesidir (Wauters ve ark 2000, Kalra 2001).

1.3.4. Leptin ve diyabetes mellitus arasındaki ilişki

İnsanda gözlenen tip I diyabet ile uyumlu bir şekilde yapılan deneysel diyabet modellerinde de kontrolsüz kan şekeri artışını takiben vücut ağırlığında anlamlı derecede azalma gözlenmektedir. Yapılan çalışmalar vücut ağırlığı ve serum leptin seviyesi arasında oldukça sıkı bir ilişki olduğunu göstermektedir. Gerek insan gerekse hayvan deneylerinde vücut ağırlığının azalmasının serum leptin seviyesinde de anlamlı bir azalma ile birlikte olduğunu işaret etmektedir.

Diyabette serbest yağ asitleri ve serbest radikal türevli çeşitli oksidanların arttığı, bu artışın pek çok sistemik bozukluklara neden olduğu bilinmektedir (Reusch 2003, Das 2002). Serbest radikaller, negatif yüklü elekron sayısının çekirdekteki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir. Oluşan bu serbest radikaller vücutta önemli moleküllere örneğin, hücrelerde proteinlere ve genetik materyale zarar verirler. Bundan başka hücre zarının hasarına, gçirgenliğinin artmasına ve sonuçta hücrenin ölümüne kadar giden bir seri olaya yol açabilirler (Penpargkul ve ark 1980, Tahiliani ve ark 1991).

Çeşitli konsantrasyonlardaki (0,1, 0,5 ve 1 nM) 1 saatlik leptin uygulamasının ob/ob fare kardiyomiyositlerde gözlenen artmış serbest oksijen üretimi üzerinde anlamlı derecede azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bu yönüyle farelerde gözlenen bozulmuş kalp kası kasılma parametreleri üzerinde de anlamlı düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir. Kardiyomiyositlerde gözlenen bu kasılma bozukluğuna neden olan ana faktörün hücre içi serbest Ca^{+2} konsantrasyonunun azalmasının leptin inkübasyonunu takiben anlamlı düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir (Dong ve ark 2006).

Leptin ile ilgili yapılan araştırmalarda, leptinle en fazla etkileşim içinde olan hormonun insülin olduğu gözlemlenmiştir. Leptinin hipotalamus yoluyla insülin hassasiyetini artırdığı gösterilmiştir. İnsülin yetersizliği saptanan diyabetik ratlarda insülinin antidiyabetojenik etkisinin olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir (Chinookoswong ve Wang 1999). Leptinin intravenöz ve intraserebroventriküler infüzyonu sonrasında ise karaciğerde glukoz metabolizmasında artış olduğu görülmüştür. Bu durumda leptinin etki mekanizmasının merkezi sinir sistemi ile ilgili olduğu gösterilmiştir (Nemec ve ark 1999).

STZ ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde ise plazma leptin seviyelerinin belirgin bir şekilde azaldığı ortaya konmuştur (Wang ve ark 2008). Oluşturulan benzer modellerde STZ ile meydana gelen diyabetle serum leptin ve insülin seviyelerinin azaldığı ve diyabetik iştah artışına neden olduğu da gözlemlenmiştir (Ishii ve ark 2002).

Planlanan çalışma ile diyabetik kardiyomiyopatide gözlenen uyarılma-kasılma çiftleminin, uyarılma basamağına dair diyabet kaynaklı elektriksel yeniden modellenme üzerine farklı doz ve süreler için leptin inkübasyonunun etkileri belirlenecektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Diyabet Modeli ve Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışma Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Etik kurul izni (2015/91) alındıktan sonra Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı araştırma Laboratuvarı ve Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yapılmıştır.

Deneyler için erkek ve ağırlıkları 200-250g arasında olan yetişkin (2,5-3 aylık) sıçanlar rastgele seçilmiştir. Sıçanlar deney süresince (beş hafta) kafes başına üç hayvandan fazla olmamak koşuluyla standart sıçan yemi ve su kısıtlaması olmaksızın beslenmiştir.

Deneysel yoldan diyabet oluşturmak için streptozosin (STZ) kullanılmıştır. Sitrat tamponu (pH 4,5 deki 0,1 M) içerisinde eritilen STZ, 55 mg/kg olacak şekilde tek doz intraperitoneal enjekte edilmiştir (Öztürk ve ark 1996). STZ'in etkisini arttırmak için enjeksiyondan önceki gece hayvanlar aç bırakılmış ve enjeksiyonu takiben hipoglisemiyi önlemek için %10 sükroz içme suyuna konulmuştur. Enjeksiyondan yedi gün sonra MediSense Card Sensor (Roche) ile kan şekeri düzeylerine bakılarak, kan şekerleri 300 mg/dl ve üstünde olan sıçanlar diyabetik (DM, N=8) olarak değerlendirilip, bu kan şekeri değerine ulaşmamış sıçanlar deneye alınmamıştır.

Diyabet grubunun yanı sıra, rastgele seçilen aynı ağırlıktaki sıçanlara sadece sitrat tamponu tek doz i.p. olarak enjekte edilmiş ve enjeksiyondan sonraki beşinci hafta içinde elektrofizyolojik ölçümler için kullanılmış ve bu hayvanlar kontrol grubu (Kon, N=8) olarak kabul edilmiştir.

Tüm deney hayvanları için vücut ağırlıkları ve kan şekeri değerleri haftalık olarak kontrol edilmiştir.

3.2. Kardiyomiyosit İzolasyonu

Beş haftalık deney süresi sonunda deney gruplarında bulunan hayvanlar hafif anestezi altında iken (30 mg/kg sodyum pentobarbital) kalpleri hız bir şekilde çıkartılıp soğuk ve Ca^{+2}'suz çözelti içerisine konuldu. Hücre izolasyonu için daha önce kullanılan enzimatik yöntem kullanılmıştır (Ayaz ve ark 2004).

Langendorff metodu yardımıyla (Şekil 3.1) aorttan ters perfüzyon edilerek önce içeriği mM olarak NaCl 118; 4,7 KC1, 1,25 $CaC1_2$, 1,2 $MgSO_4$, 1,2 KH_2PO_4, 25 $NaHCO_3$, 10 HEPES ve 10 glikoz, pH 7,4 olan ve %100 O_2 ile gazlanan, Ca^{+2}'suz perfüzyon çözeltisi ile 5 dakika yıkandıktan sonra, içine kollajenaz (Sigma Boehringer Colleganase A type) (1,1 mg/ml) eklenmiş aynı içerikli çözelti ile 25-30 dakika perfüze edilerek hücre izolasyonu yapılmıştır.

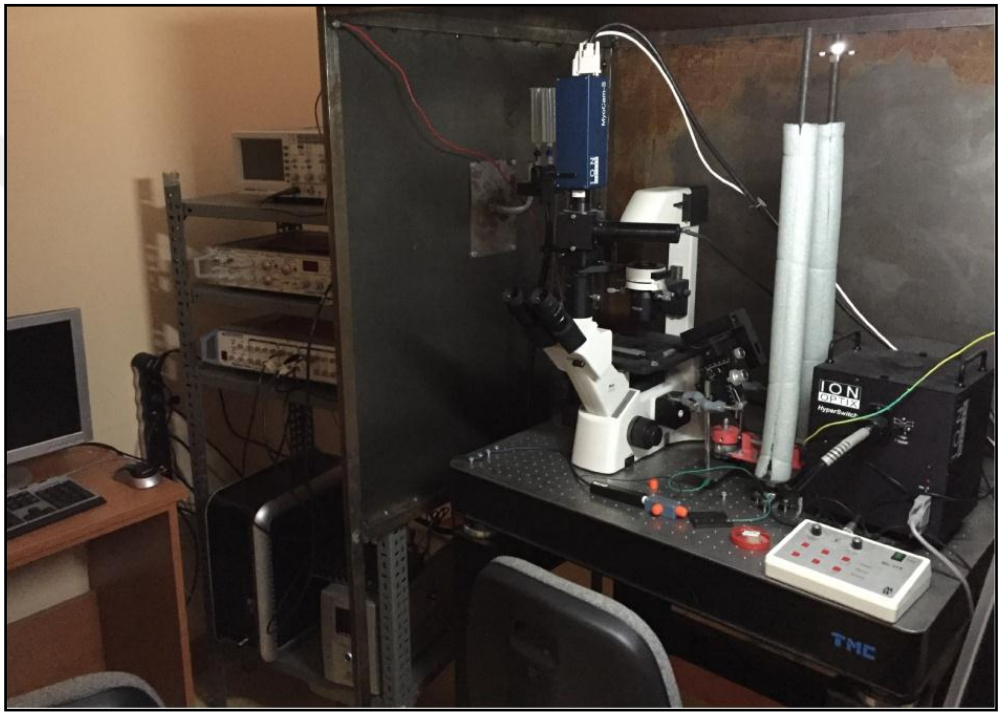


Şekil 3.1. Kardiyomiyosit izolasyonu için kullanılan Langendorff donanımı. Sistem düzeneğin 37°C sabit bir sıcaklık sağlaması için bir su banyosu (en arkada), aortadan retrograd perfüzyonu belli bir hızla (3-5 ml/dak) akmasını sağlamak amacı ile bir perfüzyon pompası (önde solda) ve aortadan entegre edilmek üzere farklı sıvıların dolaşınıa imkan sağlayan donanım (önde sağda).

Enzimatik olarak parçalanan kalpler daha sonra mekanik olarak küçük parçalara ayrıştırılmış, filtre edilmek üzere bir tübe aktarılması sağlanmıştır. Tübün içerisinde gene Ca^{+2}'suz ortamda iki kere yıkanmak suretiyle hem kollajenaz yıkanmış hem de ölü olan doku parçalarından arındırılmıştır. İzole edilen hücreler 37°C'de, dış ortamdaki [Ca^{+2}] 1,8 mM olacak şekilde dereceli olarak arttırılmış kayıt işlemlerinden önce bir saat inkübe edilmiştir.

3.3. Potasyum Kanal Akımlarının Kayıt Edilmesi

Potasyum akımlarının kayıtları patch clamp tekniğinin tüm hücre voltaj kenetlemesi modunda gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2). Akımların kayıtları için dirençleri 1,0-1,5 MΩ arasında değişen elektrotlar kullanılmıştır. Tüm kayıtlar oda sıcaklığında yapılmış ve detaylı analiz için bilgisayara kaydedilmiştir. Potasyum akımları (I_{tof}, I_{tos} ve I_{Kl}) bu kanal yoğunluğunun kalbin diğer bölgelerine göre daha çok olduğu bilinen apeksten yapılmıştır.



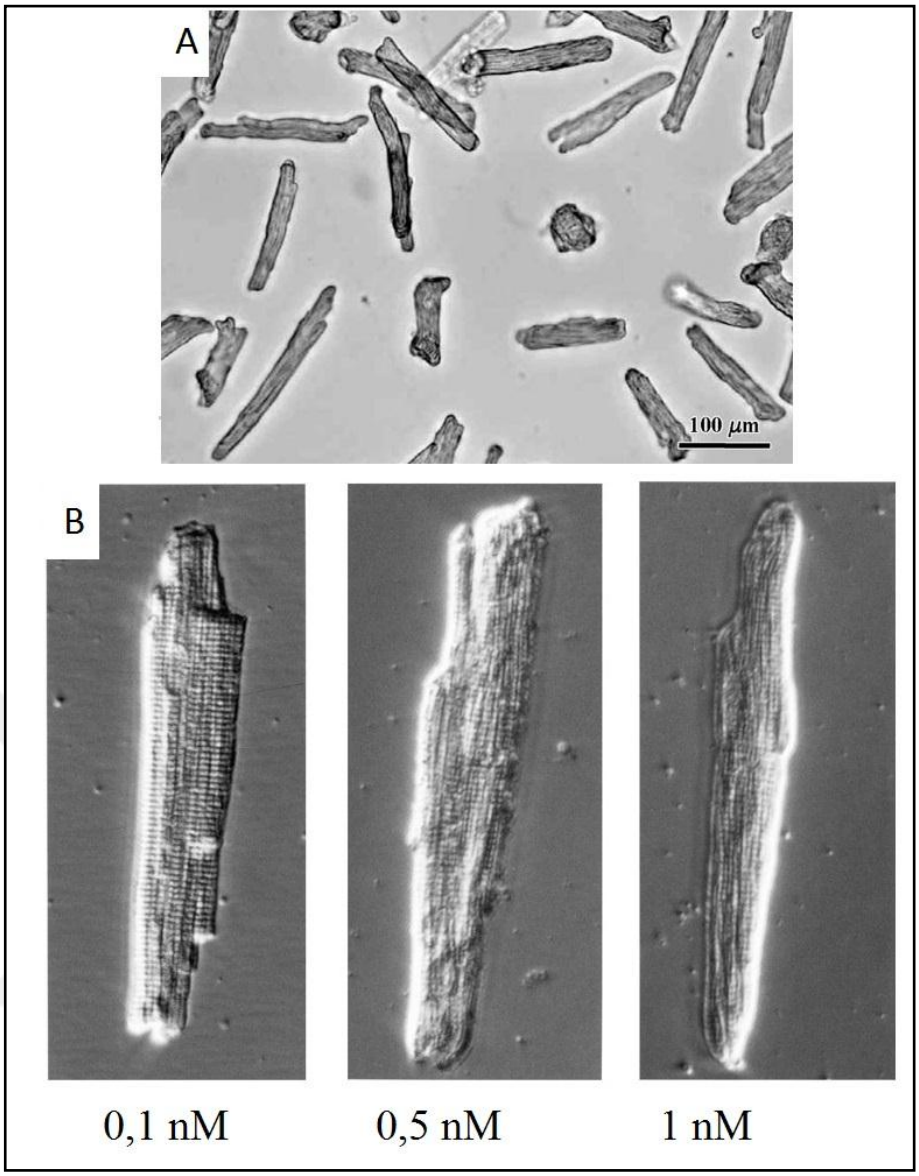
Şekil 3.2. Parch clamp tekniği deney düzeneği. Düzenek kayıt analiz bilgisayar sistemi, patch clamp amfisi, data aqusition sitemi, otomize perfüzyon sistemi ve inverted mikroskoptan oluşmaktadır.

Potasyum akım kayıtları için içeriği (mM: NaCl 136, KCl 5,5, $MgCl_2$ 1,0, HEPES 10, $CaCl_2$ 0,5, glikoz 10, pH 7,4) olan banyo solüsyonu ve içeriği (mM: L-aspartik asit 80, KH_2PO_4 10, $MgSO_4$ 1,0, KCl_2 50, HEPES 5, ATP-Na 3, EGTA-K 10, pH 7,4) olan pipet solüsyonu kullanılmıştır. Potasyum akımları patch amplifikatörü (Axopatch 200B; Molecular Device, USA) ile 3 kHz filtrelenmek üzere her 7 saniyede bir kaydedilmiştir. Akım eğrileri 5 kHz'de pclamp 10 software (Axon Instruments, Foster City CA, USA) ile dijitalize edilmiştir.

Ca^{+2} akımlarının blokajı için hücre dışı kadmiyum (Cd) (250 mM) uygulanmış ve sodyum akımlarının inaktivasyonu için her depolarizasyon pulsundan önce -50 mV'a ön depolarizasyon yapılmış ve orda 50 ms beklenmek suretiyle gerçekleştirilmiştir. Akım kayıtları 0,14 Hz frekansla 600 ms'lik -120 mV'tan +70 mV'a kadar 10'ar mV'luk adım artışları ile gerçekleştirilmiştir. Akımlar hücre büyüklüğünün de bir ölçüsü olarak kullanılan kapasitanslarına oranlanarak normalize edilmiş ve değerler pA/pF şeklinde sunulmuştur.

3.4. Leptin İnkübasyonu

İzole edilen kardiyomiyositler her iki grup deney hayvanından elde edilen kardiyomiyositler için 1 saat ve farklı üç doz (0,1, 0,5 ve 1 nM) için 37°C'de inkübasyonu takiben akım kayıtları gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon öncesi ve sonrasına ait miyosit görüntüleri şekilde verilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. İzole edilen miyositler ve leptin inkübasyonu sonrasındaki görünümleri. A'da inkübasyon öncesi ve bir saatlik dengelenme periodu sonrasındaki apeks bölgesi kardiyomiyositleri (% 90 canlılık), B'de ise üç doz (0,1, 0,5 ve 1 nM) için 1 saatlik inkübasyon sonrasındaki görüntüleri.

3.5. İstatistiksel Yöntem

Deney grubu verileri tüm metin boyunca ortalama ± sem olarak ifade edilmiştir. İkili karşılaştırılmalar için Student t testi kullanılmış ve $p<0,01$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri

Deney hayvanlarının genel özelliklerine ait ölçüm değerleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Ölçüm yapılan parametreler arasında kilo kazanımı açısından her hangi bir farka rastlanmamıştır. Diğer yandan kan şekeri ölçüm değerlerinde aynı yaş kontrol grubu deney hayvanlarına göre istatistiksel anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur (Tablo 1).

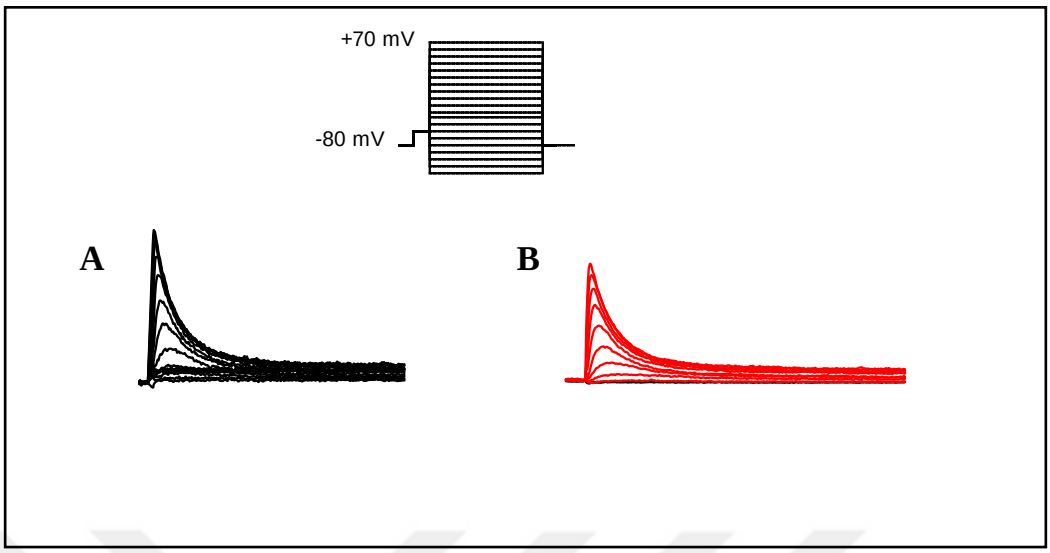
Tablo 1: Deney Hayvanlarının Genel Karakteristiği

	B.W. (g)		**B.G. (mg/dL)**	
	S	**E**	**S**	**E**
Kon (N=8)	231,17±5,85	353,83±7,98	99,33±3,63	100,17±4,39
DM (N=8)	302,66±6,35	289,50±5,51	120,55±5,51$^{\alpha}$	447,87±29,26$^{\alpha}$

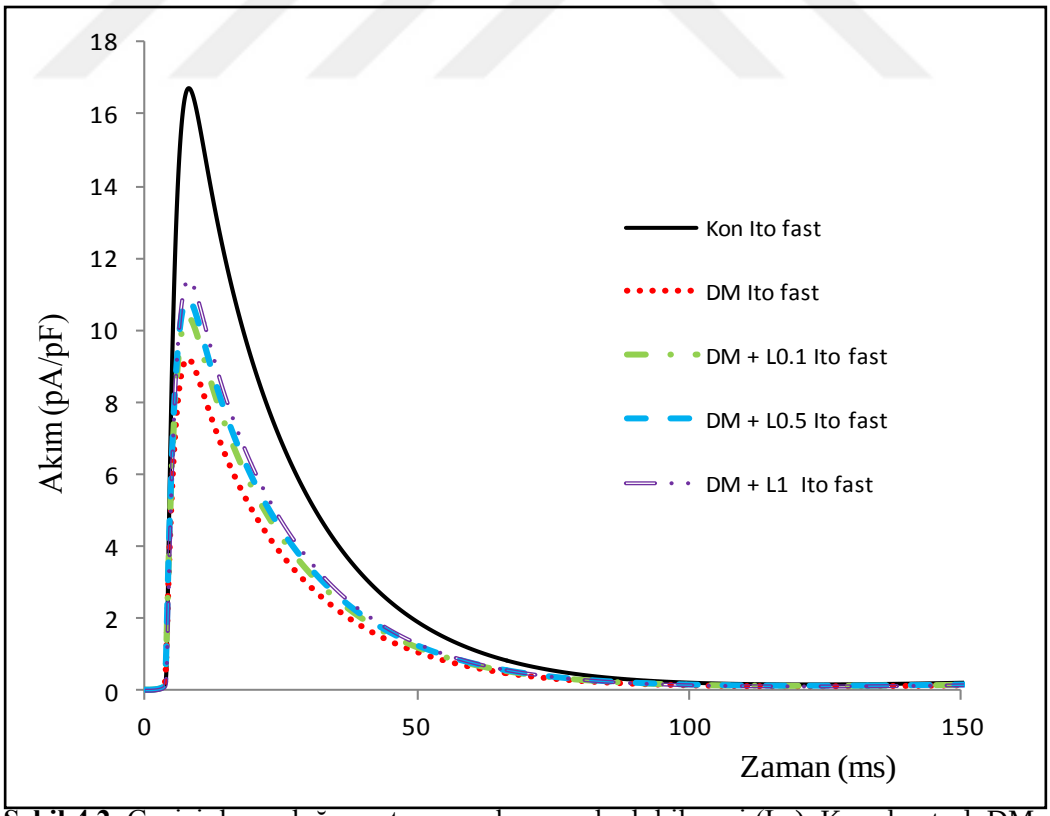
Tabloda, Kon; kontrol grubu, DM; diyabetes mellitus oluşturulan grup. B.W; vücut ağırlıkları, B.G.; kan şekerini temsil etmek için kullanılmıştır. Değerler ortama ± sem olarak verilmiştir. N değeri deney için kullanılan hayvan sayısını temsil etmektedir. S; başlangıç, E; sonuç değerlerini göstermektedir. **$^{\alpha}$;** $p<0,001$ kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık değerini göstermektedir.

4.2. Potasyum Kanal Akımları

Deney süreci sonrasında izole edilen kardiyomiyositlerden kayıt edilen akımlara ilişkin maksimum potansiyel fark değerinde alınan örnek eğriler Şekil 4.1'de görülmektedir (Şekil 4.1).



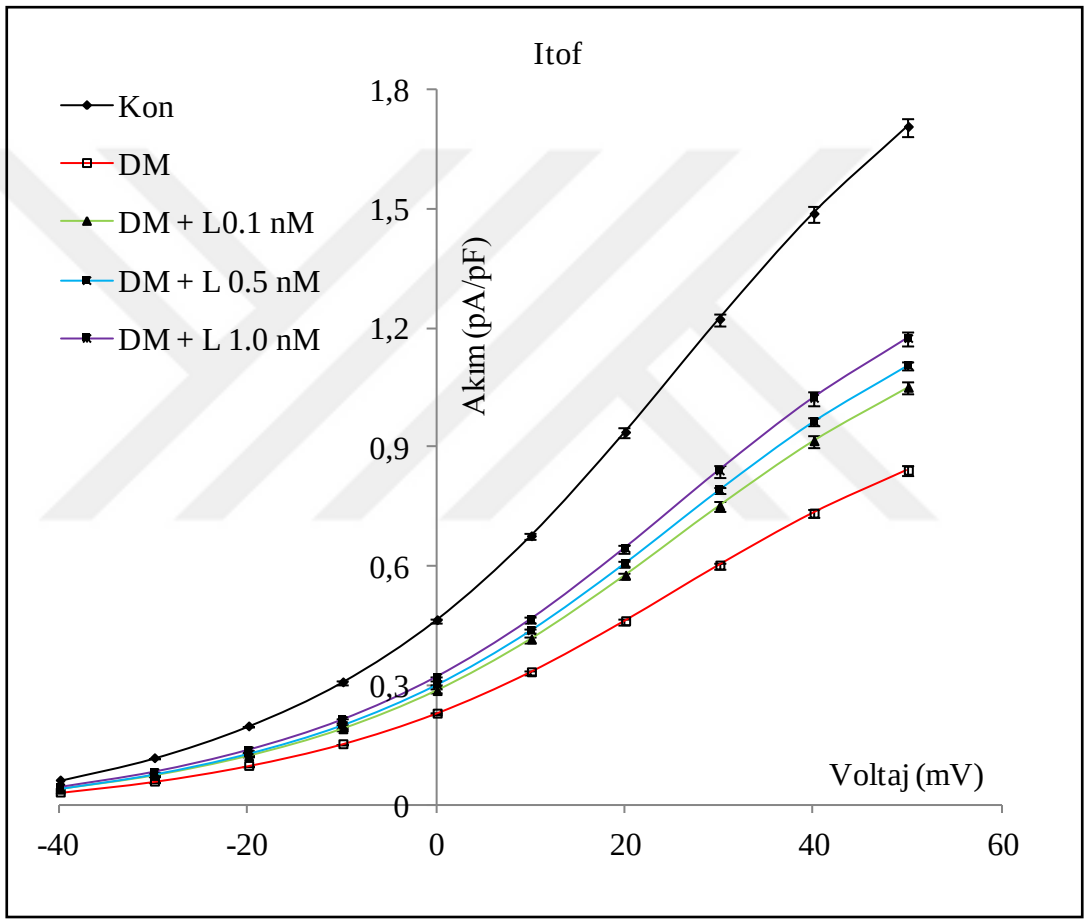
Şekil 4.1. Toplam potasyum akımları için birer örnek akım eğrileri. A kontrol grubu miyositleri, B'de ise diyabetik grup için alınan akım eğrilerini göstermektedir. Şekil üzerinde ise bu akımların alınması için hücre zarına uygulanan potansiyel farkı belirtmektedir.



Şekil 4.2. Geçici dışarı doğru potasyum akımının hızlı bileşeni (I_{t0f}). Kon; kontrol, DM; diyabetes mellitus grubu için kullanılmıştır. Birer saatlik farklı doz leptin ile inkübe

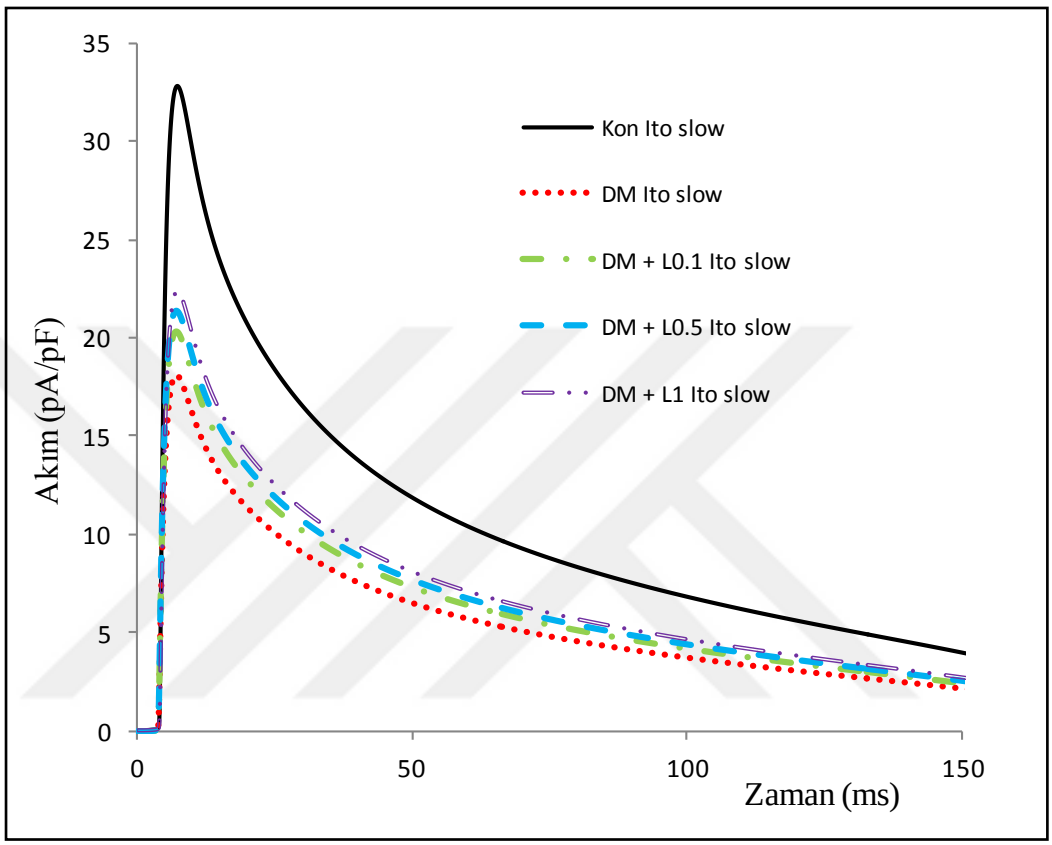
edilen diyabetin akım eğrileri sırası ile DM + L0.1, DM + L0.5 ve DM + L1.0 sembolleri kullanılmıştır.

Deney grubu sıçan miyositlerinden elde edilen ortalama değerler I_{to}'ın hızlı parçası için Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de özetlenmiştir. Diyabet ölçüm yapılan yapılan bu akım değerlerini neredeyse yarı yarıya azaltmıştır. Leptin inkübasyonu ise doz bağımlı olarak bir geriye dönüş oluşmasına neden olmuştur (Şekil 4.2 ve 4.3).

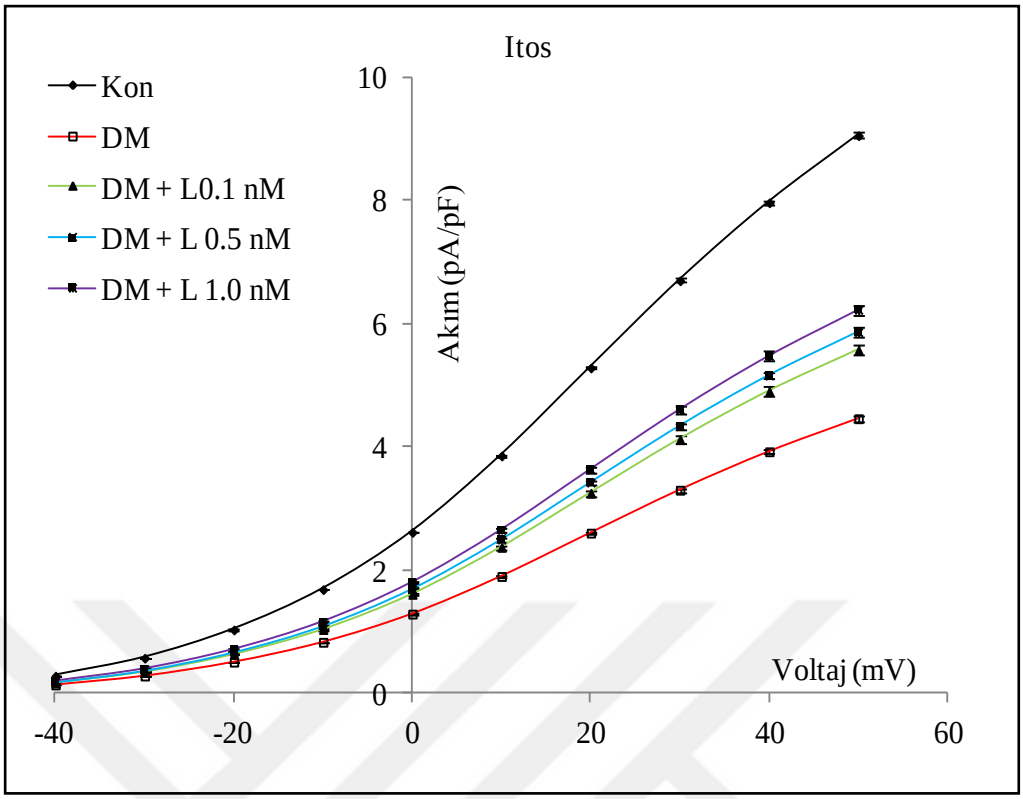


Şekil 4.3. Geçici dışarı doğru potasyum akımının hızlı bileşeni. Kon; kontrol, DM; diyabetes mellitus grubu için kullanılmıştır. Birer saatlik farklı doz leptin ile inkübe edilen diyabetin akım eğrileri sırası ile DM + L0.1, DM + L0.5 ve DM + L1.0 sembolleri kullanılmıştır.

Akımın yavaş parçası için ortalama değerler Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'de özetlenmiştir. Diyabet sürecinde ölçüm yapılan akımlar azalmış olarak bulunmuştur. Leptin gene bu akım parçası için doza bağımlı olarak 1 saatlik inkübasyon sürecinde akımların artmasına neden olmuştur. I_{K1} akımına ilişkin ise diyabetle azalmış olan akım üzerinde ciddi bir düzelmeye neden olmamıştır (Şekil 4.4 ve 4.5).



Şekil 4.4. Geçici dışarı doğru potasyum akımının yavaş bileşeni. Kon; kontrol, DM; diyabetes mellitus grubu için kullanılmıştır. Birer saatlik farklı doz leptin ile inkübe edilen diyabetin akım eğrileri sırası ile DM + L0.1, DM + L0.5 ve DM + L1.0 sembolleri kullanılmıştır.



Şekil 4.5. Geçici dışarı doğru potasyum akımının yavaş bileşeni. Kon; kontrol, DM; diyabetes mellitus grubu için kullanılmıştır. Birer saatlik farklı doz leptin ile inkübe edilen diyabetin akım eğrileri sırası ile DM + L0.1, DM + L0.5 ve DM + L1.0 sembolleri kullanılmıştır.

5. TARTIŞMA

Epidemiyolojik çalışmalar diyabetin dünyada 100 milyondan fazla insanı etkileyen ve yüksek insidanslı kronik hastalıklardan biri olduğunu göstermektedir (Spruce ve ark 2003). Dünyada diyabetin tahmini artışı, fiziksel aktivitede anlamlı bir azalış ve temelinde genetik yatkınlığın rol oynadığı obezitenin prevalansındaki artış ile birlikte yaşlanan popülasyona bağlanabilir. Diyabetin patofizyolojisi, karaciğerde, yağ dokusunda ve kas dokusundaki insülin direnci ve pankreastaki beta-hücrelerinden bozulmuş insülin sekresyonu ile karakterize edilmektedir.

Diyabetin yaratmış olduğu ikincil gelişimleri incelemek için sıklıkla kullanılan deneysel diyabet modelleri, insanda gözlenen patolojik bulgulara benzer bulguların moleküler mekanizmasını anlamak ve olası tedavi olanaklarının kolayca çalışmasına olanak tanımaktadır (Ayaz ve ark 2002, 2004 ve 2005).

İnsanda gözlenen tip I diyabet ile uyumlu bir şekilde yapılan deneysel diyabet modellerinde de kontrolsüz kan şekeri artışını takiben vücut ağırlığında anlamlı derecede azalma gözlenmektedir. Yapılan çalışmalar vücut ağırlığı ve serum leptin seviyesi arasında oldukça sıkı bir ilişki olduğunu göstermektedir. Gerek insan gerekse hayvan deneklerde vücut ağırlığının azalması serum leptin seviyesinde de anlamlı bir azalma olduğunu işaret etmektedir.

Diyabette serbest yağ asitleri ve serbest radikal türevli çeşitli oksidanların arttığı, bu artışın pek çok sistemik bozukluklara neden olduğu bilinmektedir (Reusch 2003, Das 2002). Serbest radikaller, negatif yüklü elektron sayısının çekirdekteki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir. Oluşan bu serbest radikaller vücutta önemli moleküllere örneğin, hücrelerde proteinlere ve genetik materyale zarar verirler. Bundan başka hücre zarının hasarına, geçirgenliğinin artmasına ve sonuçta hücrenin ölümüne kadar giden bir seri olaya yol açabilirler (Penpargkul ve ark 1980, Tahiliani ve Mc Neill 1991).

Çeşitli konsantrasyonlardaki (0,1, 0,5 ve 1 nM) 1 saatlik leptin uygulamasının ob/ob fare kardiyomiyositlerde gözlenen artmış serbest oksijen üretimi üzerinde anlamalı derecede azalmaya neden olduğunu gösterilmiştir. Bu tez çalışması ile diyabetik kardiyomiyopatide gözlenen uyarılma-kasılma çiftleniminin, uyarılma basamağına dair diyabet kaynaklı elektriksel yeniden modellenmen üzerine pozitif etkileri olduğu gösterilmiştir. Uyarılma basamağında gözlemlenen bu etki kalbin apeks bölgesinde yoğunlunun çok olduğu bilinen potasyum kanal akımlarının farklı tipleri için umut verici sonuçlar olduğunu göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Uygulanması önerilen doz ve süre (0,1, 0,5 ve 1 nM 1 saat) ile antioksidan yolağında gözlenen olumlu etkileri ile kalp kası kasılması üzerinde depresyona neden olan patolojik durumlarda olumlu etkileri gözlenen leptin yine diyabet kaynaklı uyarılma basamağına ilişkin kardiyak problemler için bir tedavi yöntemi olarak görülmektedir. Sadece olumlu etkileri olduğuna ilişkin işaretler sunan in vitro leptin uygulaması için gözlemlenen olumlu yanıtların detaylı araştırmalara ihtiyacı vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Atalay M, Laaksonen DE, 2002. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. J. Sports Scienc Med, 1, 1-14.
2. Ayaz M, Ozdemir S, Ugur M, Vassort G, Turan B, 2004. Effects of selenium on altered mechanical and electrical cardiac activities of diabetic rat. Arch Biochem Biophys, 426, 83-90.
3. Banyasz T, Kalapos I, Kelemen SZ, Kovacs T, 1996. Changes in cardiac contractility in IDDM and NIDDM diabetic rats. Gen Physiol Biophys 15, 357–369.
4. Baumann H, Morella KK, White DW, 1996. THA full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokin receptors. Proc Natl Acad SciUSA 93, 8374-8.
5. Bell JL, Kilshaw BH, Carson D, Bacchus RA, 1983. Environmental effects on urinary volumes, biochemical constituents and their inter-relation. Clin Chim Acta, 30,293-9.
6. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. Nature, 2002. 10, 198-205.
7. Bers DM, Weber CR,2002. Na/Ca exchange function in intact ventricular myocytes. Ann N Y Acad Sci, 976, 500-12.
8. Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I, 1996. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. J Clin Endocrinol Metab, 81, 3419-23.
9. Bracken MB, Triche EW, Belanger K, Hellenbrand K, Leaderer BP, 2003. Association of maternal caffeine consumption with decrements in fetal growth. Am J Epidemiol, 157, 456-66.
10. Celentano A, Vaccaro O, Tammaro P, 1995. Early abnormalities of cardiac function in non-insulin-dependent diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. Am J Cardiol, 76, 1173–1176.
11. Choi JH, Park JS, Moon SH, 2002. Direct measurement of concentration distribution within the boundary layer of an ion-exchange membrane. J Colloid Interface Sci, 251, 311-7.
12. Chou E, Suzuma I, Way KJ, Opland D, Clermont AC, Naruse K, Suzuma K, Bowling NL, Vlahos CJ, Aiello LP, King GL, 2002. Decreased cardiac expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in insulin-resistant and diabetic States: a possible explanation for impaired collateral formation in cardiac tissue. Circulation, 105, 373-9.
13. Cusin I, Dryden S, Wang Q, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B, Williams G, 1995. Effect of sustained physiological hyperinsulinaemia on hypothalamic neuropeptide Y and NPY mRNA levels in the rat. J Neuroendocrinol, 7, 193-7.
14. Das Un, 2002. Is insulin an endogenous cardioprotector? Crit Care, 6, 389-393.
15. Dhalla NS, Liu X, Panagia V, Takeda N, 1998. Subcellular remodeling and heart dysfunction in chronic diabetes. Cardiovasc Res, 40, 239-47.
16. Dong F., Zhang X., Yang X., Esberg L.B., Yang H., Zhang Z., Culver B., Ren J, 2006. Impaired cardiac contractile function in ventricular myocytes fromleptin-deficient ob/ob obese mice. Journal of Endocrinology, 188, 25–36
17. Dong Z, Saikumar P, Weinberg JM, Venkatachalam MA, 2006. Calcium in cell injury and death. Annu Rev Pathol, 1, 405-34.

18. Dreyer MG, Juge-Aubry CE, Gabay C, Lang U, Rohner-Jeanrenaud F, Dayer JM, Meier CA, 2003. Leptin activates the promoter of the interleukin-1 receptor antagonist through p42/44 mitogen-activated protein kinase and a composite nuclear factorkappa B/PU.1 binding site. Biochem J. 370, 591-9.
19. Ezaki O, 1990. The insulin-like effects of selenate in rat adipocytes. J Biol Chem, 265, 1124-8.
20. Falcao-Pires I, Leite-Moreira AF, 2012. Diabetic cardiomyopathy: Understanding the molecular and cellular basis to progress in diagnosis and treatment. Heart Fail Rev, 17, 325-344.
21. Fantuzzi G, Faggioni R, 2000. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. J Leukoc Biol, 68, 437-46.
22. Farooqi IS, 2002. Leptin and the onset of puberty: insights from rodent and human genetics. Semin Reprod Med, 20, 139-44.
23. Fein FS, Kornstein LB, Strobeck JE, Capasso JM, Sonnenblick EH, 1980. Altered myocardial mechanics in diabetic rats. Circ Res, 47, 922-33.
24. Fein FS, 1990. Diabetic cardiomyopathy. Diabetes Care, 13, 1169–1179.
25. Ganong WF, Martini L. EDITORIAL, 1999. Front Neuroendocrinol, 20-269.
26. García CR, Aller J. Surgical approach to tubal disease. Clin Obstet Gynecol, 17,102-4.
27. Ghosh R, Mukherjee B, Chatterjee M, 1994. A Novel Effect Of Selenium On Streptozotocin-İnduced Diabetic Mice. Diabetes Res, 25, 165-71.
28. Goldberg RB, Guyton JR, Mazzone T, Weinstock RS, Polis A, Edwards P, Tomassini JE, Tershakovec AM, 2006. Ezetimibe/simvastatin vs atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus and hypercholesterolemia: the VYTAL study. Mayo Clin Proc, 81, 1579-88.
29. Harrison LH Jr, 2004. The Governors' Committee on Physician Competency and Health. Bull Am Coll Surg, 89, 26-8.
30. Hibberd MG, Trentham DR, 1986. Relationships between chemical and mechanical events during muscular contraction. Annu Rev Biophys Biophys Chem, 15,119-61.
31. Hill KS, 1989. Admission-registration system: 'open development' pays off. Admit Manage J, 14,17-8.
32. Ishikawa T, Sugano T, Sumita S, Kimura K, Kikuchi M, Kosuge M, Kobayashi I, Shigemasa T, Endo T, Usui T, Umemura S, 1999. Relationship between atrioventricular delay, QT interval and cardiac function in patients with implanted DDD pacemakers. Europace, 1192-6.
33. Jaap AJ, Pym CA, Seamark C, Shore AC, Tooke JE, 1995. Microvascular function in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes: improved vasodilation after one year of good glycaemic control. Diabet Med, 12, 1086-91.
34. Kajstura J, Fiordaliso F, Andreoli AM, Li B, Chimenti S, Medow MS, Limana F, Nadal-Ginard B, Leri A, Anversa P, 2001. IGF-1 overexpression inhibits the development of diabetic cardiomyopathy and angiotensin II-mediated oxidative stress. Diabetes, 50, 1414-24.
35. Katz AM, 1992. Physiology of the heart. Raven Press.

36. Kruse-Jarres Jd, Rukgauer M, 2000. Trace Elements İn Diabetes Mellitus. Peculiarities And Clinical Validity Of Determinations İn Blood Cells. J Trace Elem Med Biol, 14, 21-7.
37. Lange R. Thielmann M, Hagl S. Dynamic cardiomyoplasty. Herz, 22, 253-61.
38. Libby P, 1995. Molecular bases of the acute coronary syndromes. Circulation, 91, 2844-50.
39. London GM, Guérin A, 1999. Influence of arterial pulse and reflective waves on systolic blood pressure and cardiac function. J Hypertens Suppl, 17, S3-6.
40. Magyar J, Rusznak Z, Szentesi P, Szucs G, Kovacs L, 1992. Action Potentials And Potassium Currents İn Rat Ventricular Muscle During Experimental Diabetes.J Mol Cell Cardiol, 24, 841-53.
41. Malhotra A, Kang BP, Opawumi D, Belizaire W, Meggs LG, 2001. Molecular biology of protein kinase C signaling in cardiac myocytes. Mol Cell Biochem, 225, 97-107.
42. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA, 2002. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. Int J Obes Relat Metab Disord, 26, 1407-33.
43. Mcneill Jh, Delgatty H, Battell M, 1991. Insulinlike Effects Of Sodium Selenate İn Streptozocin-İnduced Diabetic Rats. Diabetes, 40, 1675-8.
44. Monteagudo PT, Moisés VA, Kohlmann O Jr, Ribeiro AB, Lima VC, Zanella MT, 2000. Influence of autonomic neuropathy upon left ventricular dysfunction in insulin-dependent diabetic patients. Clin Cardiol, 23, 371-5.
45. Mukherjee R, Spinale F.G, 1999. Alterations in ionic currents and relation to contractile dysfunction with severe cardiac hypertrophy and failure. Heart Fail Rev, 4, 319–327.
46. Nickola MW, Wold LE, Colligan PB, Wang GJ, Samson WK, and Ren J, 2000. Leptin attenuates cardiac contraction in rat ventricular myocytes. Roleof NO. Hypertension, 36, 501–505.
47. Ozturk Y, Altan Vm, Yildizoglu-Ari N, 1996. Effects Of Experimental Diabetes And İnsulin On Smooth Muscle Functions. Pharmacol Rev, 48, 69-112.
48. Park HK, Ahima RS, 2014. Leptin signaling. F1000Prime Rep, 4, 6-73.
49. Park HK, Ahima RS, 2015. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. Metabolism, 64, 24-34.
50. Penpargkul S, Schaible T, Yipintsoi T, Scheuer J, 1980. The Effect Of Diabetes On Performance And Metabolism Of Rat Hearts. Circ Res, 47, 911–921.
51. Penpargkul S, Schaible T, Yipintsoi T, Scheuer J, 1980. The effect of diabetes on performance and metabolism of rat hearts. Circ Res, 47, 911-21.
52. Poornima IG, Parikh P, Shannon RP, 2006. Diabetic cardiomyopathy: the search for a unifying hypothesis. Circ Res, 98, 596-605.
53. Prolo P, Wong ML, Licinio J. Leptin. Int J Biochem Cell Biol, 1998. 30, 1285-90.
54. Purdham D.M., Zou M., Rajapurohitam V., Morris K, 2004. Rat heart is a site of leptin production and action. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 287, 2877-2884.
55. Putkey JA, Sweeney HL, Campbell ST, 1989. Site-directed mutation of the trigger calcium-binding sites in cardiac troponin C. J Biol Chem, 264, 12370-8.

56. Putz R, Pabst R, 1990. Sobotta insan anatomisi atlası 106.
57. Rajapurohitam V, Gan XT, Kirshenbaum LA, and Karmazyn M, 2003. The obesity-associated peptide leptin induces hypertrophy in neonatal rat ventricular myocytes. Circ Res, 93, 277–279.
58. Rastogi SS, Singh RB, 2001. Antioxidants, free radical stress and diabetes. Adv Exp Med Biol, 498, 201-11.
59. Regan Tj, Lyons Mm, Ahmed Ss, 1977. Evidence For Cardiomyopathy İn Familial Diabetes Mellitus. J Clin Invest, 60, 885–899.
60. Reusch Je, 2003. Diabetes, Microvascular Complications, And Cardiovascular Complications: What İs İt About Glucose?. J Clin Invest, 112, 986-988
61. Riva E, Andreoni G, Bianchi R, 1998. Changes İn Diastolicfunction And Collagen Content İn Normotensive And Hypertensive Rats With Long-Term Streptozotocin-İnduced Diabetes. Pharmacol Res, 37, 233–240.
62. Rivard A1, Silver M, Chen D, Kearney M, Magner M, Annex B, Peters K, Isner JM, 1999. Rescue of diabetes-related impairment of angiogenesis by intramuscular gene therapy with adeno-VEGF. Am J Pathol, 154, 355-63.
63. Robillon Jf, Sadoul Jl, Jullien D, Morand P, Freychet P, 1994, Abnormalities Suggestive Of Cardiomyopathy İn Patients With Type 2 Diabetes Of Relatively Short Duration. Diabetes Metab, 20,473–480.
64. Rodrigues DC, Silva SS, Prata AM, Felipe MG, 1998. Biotechnological production of xylitol from agroindustrial residues. Evaluation of bioprocesses. Appl Biochem Biotechnol, 70-72, 869-75.
65. Schaffer Sw, Tan Bh, Wilson G, 1985. Development Of A Cardiomyopathyin A Model Of Non-İnsulin-Dependent Diabetes. Am J Physiol, 248, 179–185.
66. Schaffersw, Mozaffari Ms, Artman M,Wilson Gl, 1989. Basis For Myocardial Mechanical Defects Associated With Non-İnsulindependent Diabetes. Am J Physiol 256, 25–30.
67. Shapiro Lm, Leatherdale Ba, Coyne Me, Fletcher Rf,Mackinnon J, 1980. Prospective Study Of Heart Disease İn Untreated Maturity Onset Diabetics. Br Heart J, 44,342–348.
68. Shimoni Y, Ewart Hs, Severson D, 1998. Type I And Iı Models Of Diabetes Produce Different Modifications Of K^+ Currents İn Rat Heart: Role Of İnsulin. J Physiol, 507, 485-96.
69. Shimoni Y, Ewart Hs, Severson D, 1999. Insulin Stimulation Of Rat Ventricular K^+ Currents Depends On The İntegrity Of The Cytoskeleton. J Physiol, 514, 735-45.
70. Shimoni Y, Firek L, Severson D, Giles W, 1994. Short-Term Diabetes Alters K^+ Currents İn Rat Ventricular Myocytes. Circ Res, 74, 620-8.
71. Shimoni Y, Light Pe, French Rj, 1998. Altered Atp Sensitivity Of Atp-Dependent K^+ Channels İn Diabetic Rat Hearts. Am J Physiol, 275, E568-76.
72. Shneĭder MA, Shtil'bans EB, Rachkovskaia LA, Vetlugina LA, Nikitina ET, 1984. [Virus-inhibiting properties of the carbonyl-conjugated pentaene roseofungin], 29,344-9.

73. Spruce Mc, Potter J, Coppini Dv, 2003. The Pathogenesis And Management Of Painful Diabetic Neuropathy: A Review. Diabet Med, 20, 88-98.
74. Tahılıanı A.G, Mcneıl J.H, 1986. Diabetes-İnduced Abnormalities In The Myocardium. Life Sci, 38, 959-74.
75. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI, 1995. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. Cell, 83,1263-71.
76. Tozzo E, Gnudi L, Kahn BB, 1997. Amelioration of insulin resistance in streptozotocin diabetic mice by transgenic overexpression of GLUT4 driven by an adipose-specific promoter. Endocrinology, 138, 1604-11.
77. Vander JF, 1992. Tissue plasminogen activator irrigation to facilitate removal of subretinal hemorrhage during vitrectomy. Ophthalmic Surg, 23, 361-3
78. Wakasaki H, Koya D, Schoen FJ, Jirousek MR, Ways DK, Hoit BD, Walsh RA, King GL, 1997. Targeted overexpression of protein kinase C beta2 isoform in myocardium causes cardiomyopathy. Proc Natl Acad Sci U S A, 19;94,9320-5.
79. Wallace AM, McMahon AD, Packard CJ, Kelly A, Shepherd J, Gaw A, Sattar N, 2001 Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study. Circulation. 104, 3052-6.
80. Way KJ, Katai N, King GL, 2001. Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. Diabet Med, 18, 945-59.
81. Winnicki M, Phillips BG, Accurso V, van De Borne P, Shamsuzzaman A, Patil K, Narkiewicz K, and Somers VK, 2001. Independent association between plasma leptin levels and heart rate in heart transplant recipients. Circulation, 104, 384–386.
82. Wolk R, Berger P, Lennon RJ, Brilakis ES, Johnson BD, Somers VK, 2004. Plasma leptin and prognosis in patients with established coronary atherosclerosis. J Am Coll Cardiol, 44, 1819-24.
83. Young MS, Triggs WJ, Gerstle G, 1995. Facilitation of magnetic motor evoked potentials during the mixed nerve silent period. Muscle Nerve, 18, 1285-91.
84. Zang R, Müller HJ, Kielbassa K, Marks F, Gschwendt M, 1994. Partial purification of a type eta protein kinase C from murine brain: separation from other protein kinase C isoenzymes and characterization. Biochem J, 1;304, 641-7.
85. Ziolo MT, Dollinger SJ, Wahler GM, 1998. Myocytes isolated from rejecting transplanted rat hearts exhibit reduced basal shortening which is reversible by aminoguanidine. J Mol Cell Cardiol, 30,1009-17.

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL DİYABETİK KARDİYOMYOPATİ MODELİNDE LEPTİNİN KALBİN POTASYUM KANAL TİPLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

DR. MURAT ŞİMŞEK

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Konya, 2016

Diyabetin en sık görülen endokrin hastalıklardan biri olduğu bilinmektedir. Diyabetin temelinde genetik yatkınlığın olduğu bilinse de görülme sıklığı obeziteprevalansındaki artışla birlikte yükselmektedir. Patofizyolojisi, karaciğerde, yağ dokusunda ve kas dokusundaki insülin direnci ve pankreastaki beta hücrelerinden bozulmuş insülin sekresyonu ile karakterize edilmektedir. Diyabetin yaratmış olduğu ikincil gelişimleri incelemek için sıklıkla kullanılan deneysel diyabet modelleri, insanda gözlenen patolojik bulgulara benzer bulguların moleküler mekanizmasını anlamak ve olası tedavi olanaklarının kolayca çalışmasına olanak tanımaktadır. Bizim çalışmamızda da diyabetik kardiyomiyopatide gözlenen uyarılma-kasılma çiftleminin, uyarılma basamağına dair diyabet kaynaklı elektriksel yeniden modellenme üzerine farklı doz ve süreler için leptininkübasyonunun etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamız Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Etik kurul izni (2015/91) alındıktan sonra Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı araştırma Laboratuvarı ve Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yapıldı. Deneyler için erkek ve ağırlıkları 200-250g arasında olan yetişkin (2,5-3 aylık) sıçanlar rastgele seçildi. Sıçanlar deney süresince (beş hafta) kafes başına üç hayvandan fazla olmamak koşuluyla standart sıçan yemi ve su kısıtlaması olmaksızın beslendi. Deneysel yoldan diyabet oluşturmak için intraperitonealstreptozosin (STZ) kullanıldı. Enjeksiyondan yedi gün sonra kan şekerleri 300 mg/dl ve üstünde olan sıçanlar diyabetik (DM, N=8) olarak değerlendirildi. Bu kan şekeri değerine ulaşmamış sıçanlar deneye alınmadı. Sitrat tamponu tek doz i.p. olarak enjekte edilmesinden sonraki beşinci hafta içinde elektrofizyolojikölçümler için kullanıldı ve bu hayvanlar kontrol grubu (Kon, N=8) olarak kabul edildi. Beş haftalık deney süresi sonunda

kalpleri çıkartılıp soğuk ve Ca^{+2}'suz çözelti içerisine konuldu. Kollajenaz eklenmiş aynı içerikli çözelti ile perfüze edilerek hücre izolasyonu yapıldı. İzole edilen hücreler 37°C'de kayıt işlemlerinden önce bir saat inkübe edildi. Potasyum akımlarının kayıtları patchclamp tekniğinin tüm hücre voltaj kenetlemesi modunda gerçekleştirildi. Tüm kayıtlar detaylı analiz için bilgisayara kaydedildi. Potasyum akımları (I_{tof}, I_{tos} ve I_{Kl}) patch amplifikatörü her7 saniyede bir kaydedildi ve akım eğrileri 5 kHz'dedijitalize edildi. İzole edilen kardiyomiyositler her iki grup deney hayvanından elde edilen kardiyomiyositler için 1 saat ve farklı üç doz (0,1, 0,5 ve 1 nM) için 37°C'deinkübasyonu takiben akım kayıtları gerçekleştirildi. Veriler ortalama ± sem olarak ifade edildi. İkili karşılaştırılmalar için Student t testi kullanıldı ve $p<0,01$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

Ölçüm yapılan parametreler arasında kilo kazanımı açısından her hangi bir farka rastlanmadı. Kan şekeri ölçüm değerlerinde aynı yaş kontrol grubu deney hayvanlarına göre istatistiksel anlamlı bir artış olduğu bulundu. Geçici dışarı doğru potasyum akımının hızlı bileşeni (I_{t0f}) diyabetik grupta yapılan bu akım değerlerini neredeyse yarı yarıya azalırken leptininkübasyonun doz bağımlı olarak bir geriye dönüş oluşmasına neden olduğu izlendi. Diyabet sürecinde ölçüm yapılan akımlarda azalma bulunurken leptinile 1 saatlik inkübasyonsonrası doza bağımlı olarak akımlarda artış izlendi. I_{K1} akımında ise diyabetle azalmış olan akım üzerinde ciddi bir düzelme görülmedi.

Sonuç olarak; uygulanması önerilen doz ve süre (0,1, 0,5 ve 1 nM 1 saat) ile antioksidan yolağında gözlenen olumlu etkileri ile kalp kası kasılması üzerinde depresyona neden olan patolojik durumlarda olumlu etkileri gözlenen leptin yine diyabet kaynaklı uyarılma basamağına ilişkin kardiyak problemler içinbir tedavi yöntemi olarak görülmektedir.Sadece olumlu etkileri olduğuna ilişkin işaretler sunan invitroleptin uygulaması için gözlemlenen olumlu yanıtların daha detaylı araştırılması gerektiği kanısındayız.

SUMMARY

The Effects of Leptin on Cardiac Potassium Channel Types in An Experimental Diabetic Cardiomyopathy Model

Abstract

It is known that diabetes is one of the most common endocrine disorders. Although genetic predisposition is known to be one of the factors in the basis of diabetes, the incidence of diabetes is growing with the increase in the prevalence of obesity. The pathophysiology of diabetes is characterized by insulin resistance in liver, fat and muscle and defective insulin secretion in the pancreatic beta cells. Experimental diabetes models commonly used to investigate the seconder progressions due to diabetes allow to understand molecular mechanisms of pathological signs similar with seen in human and simply to study the possible therapeutic options. In our study it was aimed to investigate the effects of incubation of leptin on electrical remodeling related diabetes in extraction-contraction coupling seen with diabetic cardiomyopathy regarding extraction step for different dosages and timing.

Our study was performed in Selcuk University Research Laboratories of Biophysics Department and Experimental Medicine Application And Research Center after ethical committee approval (2015/91). Adult male Vistar rats weighing 200-250 gr were chosen randomly and put into cages with no more than three rats in one cageduring the study (5 weeks). Intraperitonealstreptozotocine was used to induce diabetes. The rats were considered diabetic in whom blood sugars were ≥300 mg/dL 7 days after the injection (Group DM, n=8). The rats that blood sugar <300 mg/dL were excluded from the study. Citrate buffer was used for electro-physiologic measurements after single dose intraperitoneal injection at the 5^{th} week and these rats were considered as control group (Group Kon, n=8). End of the 5 weeks the hearts were executed and put into cold calcium free solutions. Cells were isolated after perfusion with the same solution consists collagenase. The isolated cells were incubated for one hour at 37°C before taking records. The potassium channel recordings (I_{t0f}, I_{t0s}, and I_{KI}) were performed with whole-cell patch clamp technique. Flow of potassium ions was recorded at every 7 seconds with patch amplifier and flow curves were digitalized at 5 kHz. After incubation for 1 hour and 3 different dosages (0.1, 0.5, 1 nM) at 37°C, flow recordings were performed for cardiomyocytes isolated from both groups. Data were expressed as mean± standard deviation. Student t test was used for two means and $p< 0.05$ was considered statistically significant.

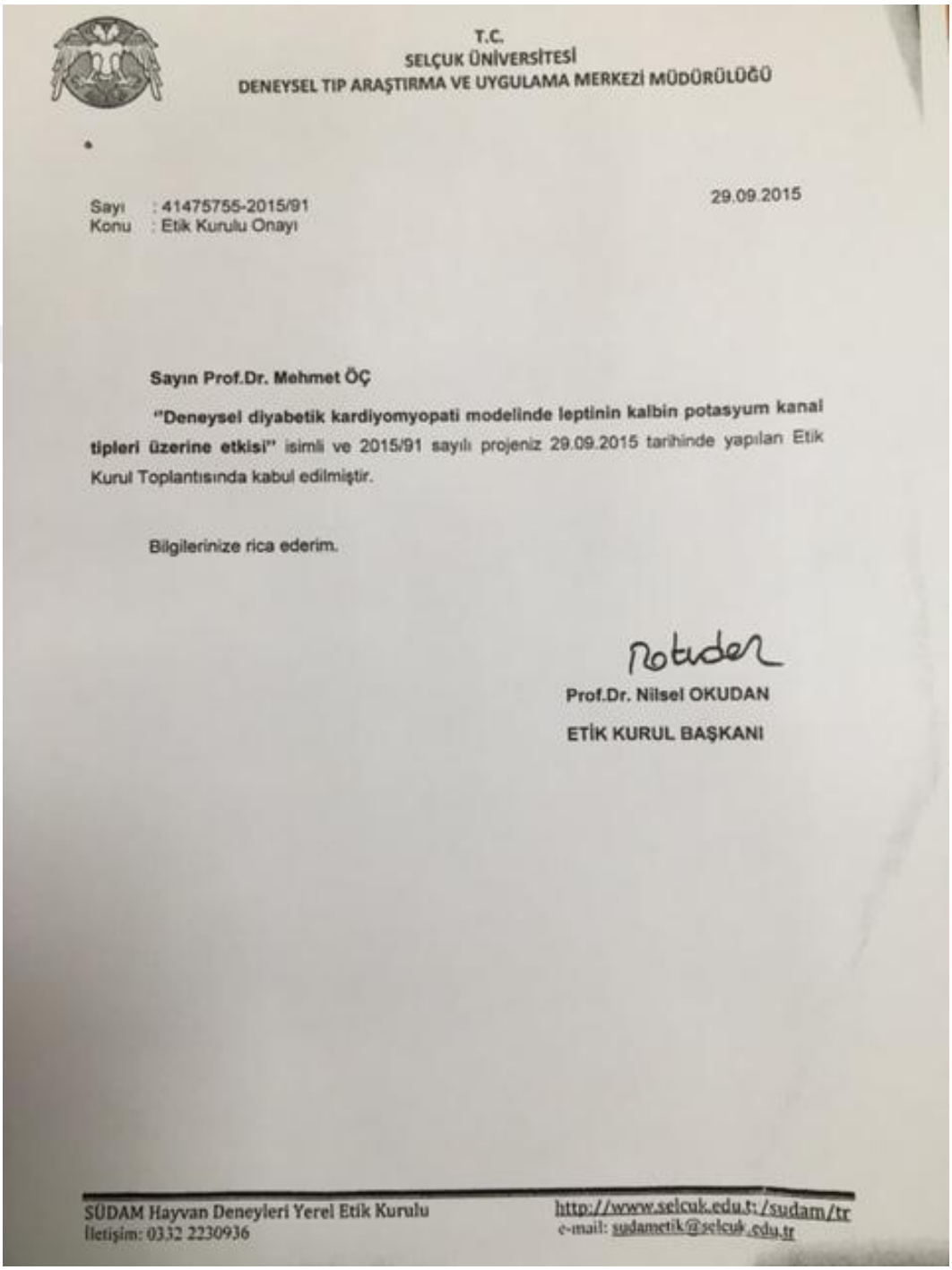
Beyond measured parameters there was no statistically difference regarding weight gain. There was statistically significant increase at blood glucose level in DM group when compared with control group. While in diabetic group flow of I_{t0f}were reducing half, after leptin incubation a dose-dependent increase in flow was seen. While during diabetic course all flows were decreased, after leptin incubation a dose-dependent increase was seen. In I_{KI} flow, no significant recovery was seen on the decreased flow rate due to diabetes.

As conclusion, leptin that has positive effects with proposed dosage and usage time (0.1, 0.5, and 1 nM for 1 hour) with the favorable effects in anti-oxidant pathway on pathologic conditions that have

depressant effects on myocard contraction, can be seen as a therapeutic agent in diabetes based excitation stepcardiac problems. We think that there is need for further investigations regarding in vitro leptin application that shows only positive effects.

EKLER

ETİK KURUL KARARI



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ MÜDÜRÜLÜĞÜ

Sayı : 41475755-2015/91
Konu : Etik Kurulu Onayı

29.09.2015

Sayın Prof.Dr. Mehmet ÖÇ

"Deneysel diyabetik kardiyomyopati modelinde leptinin kalbin potasyum kanal tipleri üzerine etkisi" isimli ve 2015/91 sayılı projeniz 29.09.2015 tarihinde yapılan Etik Kurul Toplantısında kabul edilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Nilsel OKUDAN
ETİK KURUL BAŞKANI

SÜDAM Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
İletişim: 0332 2230936

http://www.selcuk.edu.t: /sudam/tr
e-mail: sudametik@selcuk.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında SİVAS Hafik'te doğdum. İlk öğrenimimi Çanakkalede başladım,lise eğitimimi Konya Meram Anadolu lisesinde tamamladım. Aynı yıl Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde öğrenimime başladım ve 2008 yılında mezun oldum. 2008 yılında Tekirdağ Hayrabolu devlet hastanesi acil serviste 3 yıl boyunca görev yaptım. 2011 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniğinde uzmanlık eğitimime başladım. Halen bu görevi sürdürmekteyim.

Adı Soyadı: Murat ŞİMŞEK
E-Posta: kvcmurat@gmail.com
Lisans: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi-2008
Görev yerleri: Hayrabolu devlet hastanesi acil hekimi (2008-2010)
Dernek üyelikleri: Türk Kalp ve Damar Cerrahisi Derneği
Yabancı Dil: İngilizce