

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL OLUŞTURULMUŞ DİYABETİK SIÇAN
MODELİNDE BOZULAN DAMAR YANITLARI ÜZERİNE
P2X1 RESEPTÖRÜ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Günel ABDULLAYEVA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2019-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL OLUŞTURULMUŞ DİYABETİK SIÇAN
MODELİNDE BOZULAN DAMAR YANITLARI ÜZERİNE
P2X1 RESEPTÖRÜ ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Günel ABDULLAYEVA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Filiz BASRALI

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2017-2676 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2019-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalı Fizyoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 06/09/2019

İmza

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Filiz BASRALI
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof.Dr.Aysel AĞAR
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof.Dr.Nimet UYSAL
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Doç.Dr.Mehmet BÜLBÜL
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof.Dr.Vural KÜÇÜKATAY
Pamukkale Üniversitesi



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

Prof.Dr. Narin DERİN

Enstitü Müdürü

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.

Günel ABDULLAYEVA

İmza



Tez Danışmanı

Prof.Dr. Filiz BASRALI

İmza



TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım sırasında, bilgileri ve deneyimleri ile bana yol gsteren Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Filiz BASRALI'ya, bu zaman içerisinde destekleriyle bana yol gsteren Doktor Öğretim Üyesi Sayın Pınar ÜLKER'e bölümdeki bütün hocalarıma ve beraber çalıŐtıđım bilgilerini benden esirgemeyen bütün bölüm arkadaşlarıma, özellikle de doktora öğrencisi Nur ÖZEN arkadaşıma, Sağlık Bilimleri Enstitüsü personeline ve bana manevi destek olan başta ailem ve eşim İbrahim AFŐİN olmak üzere, arkadaşlarım ve yakın çevreme çok teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Diabetes Mellitus (DM), kardiyovasküler sistemde ciddi bozukluklara neden olur. Purinerjik reseptörler vasküler tonusun önemli düzenleyicileridir. P2X reseptörü vasküler endotel ve düz kaslarda bulunur ve DM sıçan modelinde vasküler tonusa etkisi bilinmemektedir. Bu çalışmada, streptozotosinin neden olduğu DM modelinde P2X1 reseptörü aktivasyonuna aracılık edilen damar yanıtlarını araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Hayvanlar rastgele Diyabet (DM) ve Kontrol (K) olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Diyabet oluşturmak için DM grubuna 65 mg/kg dozunda STZ i.p. yoluyla uygulanmış, STZ enjeksiyonundan 12 hafta sonra, bütün hayvanlardan mezenterik arterin ikinci dalları elde edilmiştir. ATP ve P2X1 reseptör agonistinin varlığında ve P2X1 reseptör antagonistinin vasküler tepkilerini değerlendirmek üzere tel miyografisine yerleştirildi. Damarların ATP'ye yanıtları incelendikten sonra P2X1 reseptör agonistine alınan yanıtlar P2X1 reseptör antagonisti varlığında ve yokluğunda değerlendirildi. Gevşeme mekanizmasını belirlemek için eNOS, COX-2 ve K⁺ kanal inhibitörleri kullanılarak vasküler yanıtlar incelendi.

Bulgular: P2X1 reseptör agonistine gevşeme yanıtları DM grubunda K grubuna göre daha düşüktü. Bu gevşeme tepkileri, P2X1 reseptör antagonistine cevap olarak her iki grupta da önemli ölçüde bastırıldı. COX-2 inhibitör indometasinin varlığında, her iki grupta da gevşeme yanıtlarında anlamlı bir azalma gözlenmezken, her iki gruptaki gevşeme yanıtları eNOS nonselektif inhibitörü olan L-NAME varlığında azalmıştır (p<0.001). Ek olarak, K grubu hayvanlarda K⁺ kanal inhibitörleri (TEA) ve apamin (APA) varlığında, gevşeme tepkilerinde anlamlı bir fark yoktu. Bununla birlikte, bu inhibitörler DM grubu sıçanlarda vasküler gevşemede önemli bir azalmaya neden olur (p<0.05).

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları, P2X1'in STZ kaynaklı DM modelinde bozulmuş gevşeme tepkilerinin olduğunu göstermiştir. Diyabet ve P2X1 reseptörü arasındaki ilişki, diyabetin aracılık ettiği vasküler komplikasyonlarda pürinerjik sinyalizasyonun rolünün daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Pürinerjik sistem, Vazodilatasyon.

ABSTRACT

Objective: Diabetes Mellitus (DM) causes serious disorders of the cardiovascular system. Purinergic receptors are important regulators of vascular tone. The P2X receptor is found in vascular endothelial and smooth muscles and its effect on vascular tone in the DM rat model is unknown in this study, we aimed to investigate the vascular responses mediated by P2X1 receptor activation in STZ induced diabetes mellitus model.

Method: Animals were randomly divided into two groups as Diabetes (DM) and Control (C). In order to induce diabetes, 65 mg/kg dose of streptozotocin was i.p. injected to animals of DM group and After 12 weeks of the STZ injection, second branches of the mesenteric artery were obtained from all animals and placed in the wire myograph in order to evaluate the vascular responses to ATP, and P2X1 receptor agonist, in the presence and absence of P2X1 receptor antagonist. Vascular responses were examined using eNOS, COX-2 and K⁺ channel inhibitors in order to determine the mechanism by which relaxation was obtained.

Results: In DM group relaxation responses to P2X1 receptor agonist were lower compared to C group. These relaxation responses were significantly suppressed in both groups in response to P2X1 receptor antagonist. In the presence of COX-2 inhibitor indomethacin, no significant reduction in relaxation responses was observed in both groups, whereas relaxation responses in both groups decreased in the presence of eNOS inhibitor L-NAME. Additionally, there was no significant difference in the relaxation responses in the presence of K⁺ channel inhibitors, TEA and apamine, in C-group animals. However, these inhibitors cause a significant decrease in vascular relaxation in DM group rats.

Conclusion: Results of this study demonstrate that P2X1 mediated relaxation responses impaired in STZ induced DM model. The relation between diabetes and P2X1 receptor will provide a better understanding of purinergic signalling's role in the diabetes mediated vascular complications.

Key words: Diabetes, Purinergic system, Vasodilatation.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diyabetes Mellitus	3
2.1.1. Diyabetes Mellitus'un Tarihçesi	3
2.1.2. Diyabetin Sınıflandırılması	4
2.1.3. Diyabetin Komplikasyonları	7
2.1.4. Diyabet ve Endotel Disfonksiyonu	15
2.2. Pürinerjik Sistem ve Sinyalizasyon	19
2.2.1. Pürinerjik Reseptörler	22
2.3. P2X1 Reseptörü ve Kardiyovasküler Sistemde Yapılan Damar Çalışmaları	34
2.4. Diyabet ve Vasküler Pürinerjik Reseptörler	34
2.5. Amaç ve Hipotez	35
3. GEREÇ ve YÖNTEM	36
3.1. Kan Basıncının Ölçülmesi	36
3.2. Diyabet Oluşturulması	36

3.3. Kan Glikozunun Ölçülmesi	37
3.4. Deneyin Sonlandırılması ve Deney Protokolünün Uygulanması	37
3.4.1. Damar İzolasyonu	37
3.4.2. İzole Damarların Asılması ve Vitalizasyon Aşamaları	37
3.4.3. Deney Protokolü	39
3.5. Verilerin Değerlendirilmesi	40
4. BULGULAR	41
4.1. ATP ve $\alpha\beta$ -met ATP'ye cevaben oluşan bifazik damar yanıtları	41
4.2. ATP'ye damar yanıtları	42
4.3. Selektif P2X1 reseptör agonisti olan $\alpha\beta$ -metilen ATP'ye gevşeme yanıtları	42
4.4. Selektif P2X1 reseptör agonistine alınan damar yanıtları:	43
4.5. Selektif P2X1 reseptör agonistine alınan damar yanıtlarına eNOS'un katkısı:	45
4.6. Spesifik P2X1 reseptör agonistine alınan damar yanıtlarına PGI ₂ 'nin katkısı	46
4.7. Spesifik P2X1 reseptör agonistine alınan damar yanıtlarına EDHF'nin katkısı	47
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	88

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. K ve DM hayvanların kan glikozu, vücut ağırlıkları, yem, su tüketimleri ve sistolik kan basıncı değerleri.	41
--	----

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Tip1 diyabet mellitus	5
Şekil 2. 2. Tip 2 diyabet mellitus	6
Şekil 2. 3. Diyabetin genel etkileri.	8
Şekil 2. 4. Diyabet mellitusun sebep olduğu endotel disfonksiyonun nedenleri.	12
Şekil 2. 5. Diyabet kaynaklı vasküler homeostazın bozulma mekanizması.	16
Şekil 2. 6. Diyabetden ateroskleroza ve Beta hücre harabiyetine giden yol.	19
Şekil 2.7. Pürinerjik sinyalizasyon.	21
Şekil 2.8. Pürin reseptörlerinin kısa ve uzun süreli etkisi.	24
Şekil 2.9. P2Y reseptörünün moleküler yapısı.	29
Şekil 2.10. P2Y reseptörlerinin moleküler yapısı ve etki mekanizması.	30
Şekil 2.11. P2X reseptörlerinin moleküler yapısı.	32
Şekil 4.1. A Mezenterik arterlerin 10^{-4} M ATP'ye verdiği vazodilatör yanıt traseleri	42
Şekil 4.1. B Mezenterik arterlerin 10^{-4} M $\alpha\beta$ -met ATP'ye verdiği vazodilatör yanıt traseleri	42
Şekil 4.2. A K ve DM gruplarında mezenter 2.dal damarların ATP doz yanıt eğrisi. ***p<0,001 K (Kontrol)'dan fark.	42
Şekil 4.2. B K ve DM gruplarında mezenter 2.dal damarların $\alpha\beta$ -met ATP doz yanıt eğrisi. *p<0,05; **p<0,01 K (Kontrol)'dan fark.	43
Şekil 4.3 A: Kontrol hayvanında mezenter 2.dal P2X1 reseptör antagonisti NF varlığında $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi.	44
Şekil 4.3 B:DM hayvanında mezenter 2.dal P2X1 reseptör antagonisti NF varlığında $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi.	44
Şekil 4.4 A:Kontrol hayvanında L-NAME varlığında $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi	45
Şekil 4.4 B: DM hayvanında L-NAME varlığında $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi	46
Şekil 4.5 A: K hayvanında İndometazin varlığında $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi	46
Şekil 4.5 B: DM hayvanında İndometazin varlığında $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi	47

- Şekil 4.6. A:** Kontrol grubunda TEA varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi 48
- Şekil 4.6. B:** DM grubunda TEA varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi. * $p<0.05$ bazal (BZ) koşullardan fark 48
- Şekil 4.6. C:** K grubunda Apamin varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi 48
- Şekil 4.6. D:** DM grubunda Apamin varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi. *** $p<0.001$ bazal (BZ) koşullardan fark. 49

SİMGELER ve KISALTMALAR

Ach	: Asetilkolin
ADP	: Adenozin difosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
AP	: Apamin-potasyum kanal (küçük) inhibitörü
AR	: Adenozin reseptörleri
ARL	: Ektonükleotidazın inhibitörü
AS	: Adenil siklaz
Asetil CoA	: Asetil Co enzim A
ATP	: Adenozin trifosfat
$\alpha\beta$ metATP	: P2X1 agonisti
AGE	: Advanced glycation end products
CRP	: C-reaktif protein
DAG	: Diaçil gliserol
DKA	: Diyabetik ketoasidoz
DM	: Diyabet mellitus
DN	: Diyabetik nefropati
DNP	: Diyabetik nöropati
DOCA	: Deoksikortikosteronasetat
DR	: Diyabetik retinopati
EDHF	: Endotelyum aracılı hiperpolirizedici faktör
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit

ET-1	: Endotelin-1
GDM	: Gestasyonel diyabet mellitus
Gi	: G-inhibisyon
GK	: Goto-kakizaki
GLUT	: Glikoz taşıyıcı
GPCR	: G-protein bağımlı reseptörler
Gs	: G-stimulasyon
HHS	: Hiperglisemik hiperozmolar sendrom
HT	: Hipertansiyon
HUVEC	: Human Umbilical Vein Endothelial Cells
İNDO	: İndometazin-COX inhibitörü
IP3	: İnositol trifosfat
IRS1	: İnsülin reseptör substratı 1
IRS2	: İnsülin reseptör substratı 2
ICAM-1	: Intercellular adhesion molecule-1
KAH	: Koroner arter hastalığı
KBB	: Kan beyin bariyeri
KBH	: Kronik böbrek hastalığı
LPS	: Lipopolisakkarit
LDL	: Low density lipoprotein
MAP	: Mean arterial pressure
MAP	: Mitojen aktivasyon proteini
MAPKC	: Mitojen aktivasyon protein kinaz C

MODY	: Onset Diabetes of the Young
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NF-kB	: Nükleer faktör kappa B
NF-449	: P2X1 reseptörüne özgü antagonist
NPP	: Pirofosfatazlar
oxLDL	: Oksidized low density lipoprotein
Phe	: Fenilefrin
PKC	: Protein kinaz C
PLA₂	: Fosfolipaz A2
PLC	: Fosfolipaz C
RAGE	: Receptor Advanced glycation end products
ROS	: Reactive oxygen species
cAMP	: cyclic adenosine monophosphate
COX-2	: Cyclooxygenase -2
Suramin	: P2X reseptörlerinin seçici olmayan antagonisti
STZ	: Steptozozin
FFA	: Free fatty acids
TEA	: Tetraetilamonyum-potasyum kanal inhibitörü
T1DM	: Tip1 diyabet mellitus
T2DM	: Tip2 diyabet mellitus
TCA	: Trikarboksilik Asidoz
TNFα	: Tümör nekroz faktörü α

TM	: Trans Membran
UDP	: Uridin Difosfat
UTP	: Uridin trifosfat
VEGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü
VCAM-1	: Vascular intercellular adhesion molecule 1
WT	: Yabancıl Tip

1. GİRİŞ

Pürinerjik reseptörler ATP ve bazı ATP yıkım ürünlerine bağlanabilen ve insanda birçok dokuda bulunduğu gösterilmiş olan reseptörlerdir. Pürinerjik sinyalizasyonun vasküler tonus ve yeniden yapılanma üzerinde önemli etkilerinin bulunduğu bilinmektedir. Pürinerjik reseptörler P1 ve P2 tiplerine ayrılırlar ve damar dokusunda yerleştikleri bölgeye ve eşleştikleri sinyal yolağına bağlı olarak damarda kasılma veya gevşemeye neden olabilirler. P1 reseptörleri adenozin ile bağlanan ve G-proteini ile eşleşmiş reseptörlerdir. Purinerjik reseptörler kardiyovasküler sistemde yaygındır (Burnstock, 2006; Burnstock ve Ralevic, 2014a; Ralevic, 2015b; Ralevic ve Dunn, 2015). P2 reseptörlerinden olan P2Y reseptörleri G-proteinleriyle eşleşen reseptörlerdir. Diğer tip olan P2X reseptörleri, ligand kapılı katyon kanalları olup ATP ile aktive edilirler ve membran depolarizasyonuna neden olurlar (North, 2002a; Abbracchio ve ark., 2006; M. Li ve ark., 2010b). P2X reseptörlerinin alt tiplerinden bazılarının, kardiyovasküler kontrol mekanizmalarında yer aldığı bilinmektedir (Burnstock ve Ralevic, 2014a; Ralevic ve Dunn, 2015). Ancak P2X reseptörlerinin fizyolojik ve patofizyolojik koşullardaki rolünü inceleyen çalışma sayısı az ve yetersiz düzeydedir (Ralevic, 2012; Ralevic, 2015b; Ralevic ve Dunn, 2015). P2X reseptörlerinin yerleşimi ve miktarı, türe ve damar tipine bağlı olarak değişmektedir. Genel olarak P2X1, P2X4 ve kısmen P2X7 reseptörleri vasküler düz kasta bulunmaktadır. P2X1 reseptörü diğer tiplerden farklı olarak, baskın tip olduğu savunulmaktadır (Phillips ve Hill, 1999; Gitterman ve Evans, 2000b; Lewis ve Evans, 2000b, 2001; Harhun ve ark., 2010). Tüm P2X reseptör mRNA ve proteinlerinin çeşitli damarların endotel hücrelerinde de var olduğu birçok çalışmayla gösterilmiştir (Glass ve ark., 2000b; Loesch ve Burnstock, 2000b; Glass ve Burnstock, 2001b; Glass ve ark., 2002; Ramirez ve Kunze, 2002; Ray ve ark., 2002; Schwiebert ve ark., 2002; Wang, Karlsson, Moses, Nilsson, ve ark., 2002; Wilson ve ark., 2007b; Oliveira ve ark., 2013). Vasküler düz kasta yerleşen P2X reseptörleri uyarıldıklarında, genellikle hücre içine kalsiyum girişine neden olarak damarda kasılma oluştururlar. Endotel yerleşimli P2X reseptörlerinin ise uyarıldıklarında nitrik oksit (NO), prostasiklin (PGI₂) veya endotel aracılı hiperpolarize edici faktör (EDHF) ile gevşeme yanıtı oluşturduğuna inanılmaktadır (Ralevic ve Dunn, 2015). P2X1 reseptörünün vasküler düz kasta yerleşim gösterdiği ve

uyarıldığında hücre içine kalsiyum girişine neden olan, renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızının düzenlenmesinde fizyolojik rol oynadığı ve bunu düz kas afferent arteriyol tonusunu etkileyerek oluşturduğu gösterilmiştir (Chan ve ark., 1998; Inscho ve ark., 2004). Aynı zamanda P2X1 knockout farelerde renal otonöregülasyon mekanizmasının yetersiz hale gelmesi de, bu olaylarda P2X1 reseptörünün önemini ortaya koymuştur (Inscho ve ark., 2004). Öte yandan, P2X1 reseptörünün damar endotel hücrelerinde de bulunduğu (Ralevic, 2012; Goonetilleke ve ark., 2013) sıçan mezenterik arterlerinde geçici bir kasılmanın ardından uzun süreli bir gevşemeye neden olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca gevşemenin endotel aracılığı ile gerçekleştiği ve bu gevşemenin NO veya PGI₂'den bağımsız olup EDHF aracılı olduğu da belirlenmiştir (Harrington ve Mitchell, 2004a). Bu anlamda P2X1 reseptörlerinin bazı damarlarda damar tonusunu hem arttırıcı hem de azaltıcı etkilerinin bulunabileceği belirtilmekte, geçici ve kısa süreli bir kasılmayı uzun süreli gevşemenin izlediği savunulmaktadır (Harrington ve Mitchell, 2004a; Harrington ve Mitchell, 2005). Bazı patolojik koşullarda pürinerjik sinyalizasyonda değişiklikler olduğu gözlemlenmiştir. Bunlar arasında özellikle kardiyovasküler sistemle ilişkili olarak hipertansiyon, ateroskleroz, kalp yetmezliği, metabolik sendrom ve diyabet gibi hastalıklar sayılabilir (Shen ve ark., 2007; Haddock ve Hill, 2011; Goonetilleke ve ark., 2013; Burnstock ve Ralevic, 2014a; Kreft, Kowalski, Jankowski, & Szczepanska-Konkel, 2016; Nassi ve ark., 2016). İnmeye eğilimli spontan hipertansif sıçanlarda (SH-SP) böbrekte sinirsel stimülasyona cevaben kasılma yanıtlarının arttığı ve bu artışa P2X1 reseptörlerinin de aracılık ettiği belirtilmiştir (Vonend ve ark., 2005). Bunun tersine DOCA-tuz hipertansiyon modelinde rat mezenterik arterlerinde pürinerjik sinyalizasyonun ve P2X1 ile P2Y2 reseptör ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (Demel ve Galligan, 2008; Matsumoto ve ark., 2011, 2012). Bunun yanı sıra hipoksiyle uyarılan pulmoner hipertansiyonda P2X1 reseptörlerinin belirgin olarak arttığı ve bu reseptörlerin inhibisyonunun pulmoner arteriyel hipertansiyon tedavisinde faydalı olabileceği vurgulanmıştır (Visovatti ve ark., 2016). DM, hiperglisemi ile karakterize bir hastalıktır ve kronik devam ettiği için vasküler fonksiyon bozuluklarından olan endotel disfonksiyonu gelişir ve ateroskleroz oluşur (Wilkin, 2009; Alexandru ve ark., 2016). Tüm bu sebeplerden dolayı hala bu hastalığın tedavisine yönelik yeni arayışlar ve buna yönelik araştırmalar yoğunluğunu korumaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus (DM) insülin üretimi ve insülin salınımında bozukluk veya insülin direnciyle karakterize olan hiperglisemi ile sonuçlanan metabolik bir hastalıktır (Association, 2010). Diyabette kronik hiperglisemi uzun zaman devam ederse vücutta farklı organlarda, özellikle de göz, böbrek, sinir sistemi, kalp ve kan damarlarında büyük hasar oluşabilir (Association, 2010). Hiperglisemide su içme isteğinin artması (polidipsi), sık ve fazla miktarda idrara çıkma (poliüri), iştah artması (polifaji), diyabet tipine göre beklenmeyen kilo kaybı, cildin kuruması, yorgunluk hissi, bulanık görme, ayaklarda yanma gibi belirti ve bulgular gözlenmiştir (Association, 2010). Diyabet klinik olarak da kronik hiperglisemi veya insülin duyarlılığı ile karakterize edilmektedir ve açlık kan glukoz düzeyinin ≥ 126 mg/dL olması, tanımlanması için ölçüt olarak kabul edilmektedir (Mathis ve ark., 2001). DM toplumlarda görülen en yaygın hastalıklarından biridir (Shaw ve ark., 2010). Görülme sıklığı her geçen on yılda %50 oranında artmaktadır ve gelişmiş ülkelerde sık görülmektedir (Shaw ve ark., 2010; Danaei ve ark., 2011). Dünya Sağlık Örgütü'nün bildirimlerine göre 2008 yılında dünyada tahmini olarak 347 milyon insan DM'den etkilenmiştir (Danaei ve ark., 2011). Diyabetin yakın gelecekte daha da artış göstereceği, özellikle de Asya, Orta Doğu ve Afrika'da belirgin olarak yaygınlaşacağı beklenmektedir (Shaw ve ark., 2010).

2.1.1. Diyabetes Mellitus'un Tarihçesi

DM ilk olarak poliüri ile tanımlanmıştır. Öncelikle 1600'lü yıllarda Willis tarafından "mellitus" (şekerli) kelimesi şeker olmayan "diabetes insipidus"tan ayırt edilmiştir (Zaccardi ve ark., 2016). 1889 yılında Minkowski ve Mering ilk defa pankreası tamamen çıkarılmış köpekte diyabet bulgularına rastlamıştır (Mering ve Minkowski, 1890). 1910 yılında Sharpey-Schafer diyabetli insanlarda pankreas adacık hücrelerinde bir maddenin azaldığını ve bu maddenin insülin olduğunu göstermiştir. Böylece insülin ve diyabetin pankreasla ilişkisi ortaya konmuş ve hastalığın ana temeli anlaşılmaya başlanmıştır (Banting ve ark., 1922). 1920-1930'lu yıllarda diyabetin farklı tiplerinin olabileceği hipotezi ileri sürülmüş (MacLean, 1926), "insüline duyarlı" ve "insüline duyarlı olmayan"

DM arasındaki ayırım Himsworth tarafından yapılmıştır (Himsworth, 1936). 1950 yılı içerisinde radioimmunoassay tekniği ile dolaşımda insülin miktarı ölçülerek insülin bağımlı ve insülin bağımlı olmayan diyabet kesin olarak gösterilmiştir (Yalow ve Berson, 1960). Günümüzde diyabet, tipleri ve diyabetin oluşma mekanizmaları hala araştırma konusudur.

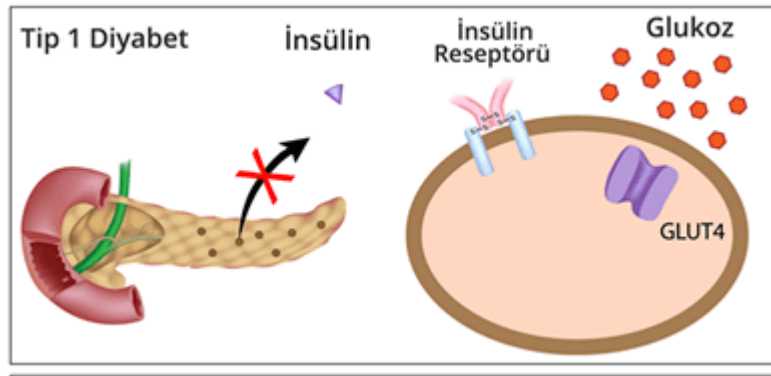
Öte yandan, insülin pankreastaki beta hücrelerinden salınır ve salınımın en önemli uyarıcısı glikozdur. İnsülinin hormon olarak başlıca fonksiyonları; glikoz ve aminoasitlerin transmembran geçişi, karaciğer ve iskelet kaslarında glikojen oluşumu, glikozun trigliseritlere dönüşümü, nükleik asit ve protein sentezidir. İnsülinin metabolizmadaki başlıca görevi kalp ve çizgili kaslara, fibroblastlara ve yağ hücrelerine GLUT4 aracılığı ile glikoz taşınmasını sağlamaktır. İnsülin, bu etkilerini hedef hücre membranı yüzeyinde yerleşik olan reseptörlerine (IRS-1, IRS-2) bağlanarak yapar. Hücre membranını boydan boya kat eden bu glikoprotein yapıları reseptör, sitoplazmaya kadar ulaşan ve hücre içi kısmında sinyal yollarını başlatan tirozin kinaz aktivitesine sahiptir (Ljubimov, 2017). Reseptör aktivasyonu sonrası, saniyeler içinde glikozun hücre içine girmesini sağlar. İnsülin etkisini genelde glikoz, lipid ve protein metabolizması üzerinden yapmaktadır. Bununla birlikte, insülinin vazodilatasyon hem de vazokonstriksiyon yaparak damar tonusunu düzenler. Dilatasyon etkisini fosfoinositol 3 kinaz (PI3 kinaz) fosforilasyonu yaparak endotelial nitrik oksit (eNOS) aktivasyonu üzerinden nitrik oksit (NO) üretimi ile yapmaktadır. Diğer yandan, insülin endotel hücrelerinde mitojen aktivasyon proteini (MAP) kinaz üzerinden vazokonstriksiyon, proinflamatuvar ve prokoagulanlardan (ET-1, adezyon molekülleri ve plazminojen aktivatör inhibitör-1) sorumludur (Montagnani ve ark., 2002; Bonetti ve ark., 2003; Potenza ve ark., 2005).

2.1.2. Diyabetin Sınıflandırılması

DM'nin birden fazla alt tipi mevcuttur ve bu tipleri genel olarak genetik hastalıklar, endokrinopatolojik durumlar, insülin reseptör bozuklukları ve kimyasal toksisite oluşmaktadır.

Tip 1 DM

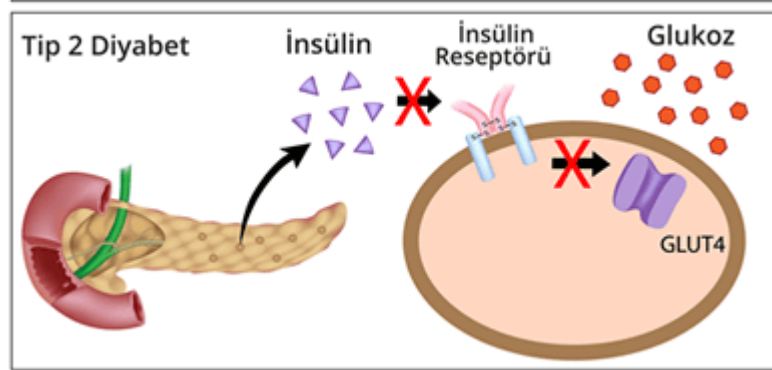
Tip 1 Diyabet mellitus (T1DM), hiperglisemi ile ortaya çıkan genetik ve çevresel faktörlerin kompleks şekilde etkilediği otoimmün bir hastalıktır (Davies ve ark., 1994). Diyabetin bu tipi tüm diyabet hastalarının %5-10'unu oluşturur. Jüvenil DM olarak da isimlendirilen bu diyabet türünde pankreasın beta hücrelerinde otoimmün olarak yıkım gerçekleşmektedir. T1DM'nin genetik kaynağı tam olarak bilinmemekle birlikte, altıncı kromozomda kodlanan ve immün sistem ile ilişkili olan genlerdeki bozukluklardan kaynaklandığı belirtilmektedir. T1DM üç şekilde ortaya çıkabilmektedir: Bunlardan birincisi en sık görülen ve daha hafif seyreden ergenlik öncesi şeklidir. Yavaş gelişir ancak beta hücre kitlesi azalmaya başlayınca fenotipik bulgular görünmeye başlar. İkincisi hızla gelişen ve ergenlik döneminde ortaya çıkan şeklidir. Üçüncüsü ise gizli otoimmün DM olarak adlandırılır (Guthrie ve Guthrie, 2004), daha çok yetişkinlerde görülür ve birinci forma benzer. Bu üç izoform pankreatik beta hücrelerinin T lenfositler tarafından harabiyeti ve insülin eksikliği nedeniyle oluşur. Sonuç hiperglisemi, poliüri, polidipsi, polifaji, sıvı-elektrolit kaybı gelişir. Artan yağ yıkımına bağlı olarak karaciğerde asetoasetik asit, betahidroksibutirik asit ve aseton gibi keton cisimcikleri oluşur. Keton cisimciklerinin kanda artması, ketoasidoz ve komayla sonuçlanabilir. Bu hastaların ömür boyu insülin almaları gerekmektedir. T1DM hem vasküler hem de vasküler olmayan önemli komplikasyonları tetikler (Lind ve ark., 2015; Livingstone ve ark., 2015).



Şekil 2. 1. Tip1 diyabet mellitus

Tip 2 DM

Diyabet hastalarının %90-95'ni teşkil eden Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM), insüline bağımlı olmayan veya erişkin tip diyabet olarak da bilinir (Association, 2010). Etiyolojisi tam olarak bilinmeyen bu tip diyabette, hastalarda insülin direnci mevcuttur ve genellikle insülin tedavisine ihtiyaç duyulmaz. Hastaların büyük çoğunluğu obezdir ve insülin direncinden bir dereceye kadar obezite sorumludur. Hastalığın obezite dışında artan yaş ve fiziksel aktivite azlığı ile de ilişkili olduğu bilinmektedir. Bütün bunların yanı sıra diyabetin bu tipinde beta hücrelerinin işlevlerini kontrol eden genlerdeki bozukluklar nedeniyle genetik yatkınlığın da önemli olabileceği bildirilmiştir. Ketoasidoz çok nadiren kendiliğinden oluşur, görüldüğünde ise genellikle infeksiyon gibi başka hastalıkların varlığı söz konusudur. Hastalık yavaş gelişir ve klasik diyabet bulguları erken evrelerde dikkati çekecek düzeyde değildir. Ancak yine de erken evrede bile makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişme riski vardır.



Şekil 2. 2. Tip 2 diyabet mellitus

MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young)

Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) olarak adlandırılan bu diyabet tipi ilk olarak Tattersall ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Tipik olarak genç yaşta, 25 yaşın altında gelişir. Avrupa'daki tüm diyabet hastalarının %1-2'ni etkilediği bildirilmektedir. Beta hücre fonksiyonunu etkileyen ve dominant olarak aktarılan monogenik bozukluklar nedeniyle gelişir. Bugüne dek farklı kromozomlarda yerleşmiş altı gen bölgesi tespit

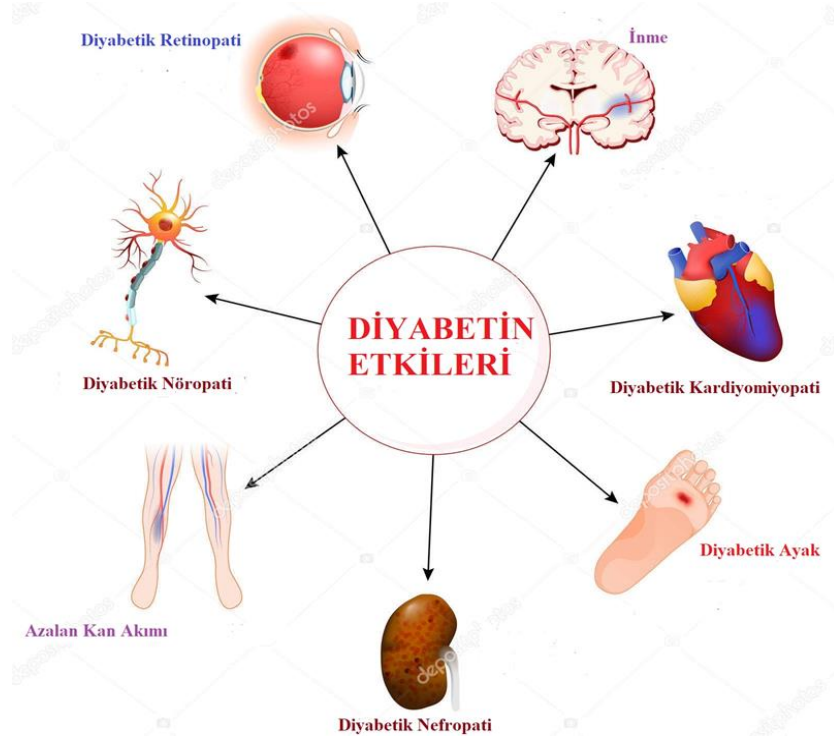
edilmiştir. En sık olarak 12. ve 7. kromozomlardaki mutasyonlar sonucunda gelişir. Yetersiz insülin salınımıyla karakterizedir ve genellikle insülin aktivitesi etkilenmemiştir.

Gestasyonel Diyabet Mellitus

Gestasyonel Diyabet Mellitus (GDM), gebelik sırasında hiperglisemiye neden olan glikoz intoleransı olarak tanımlanır (Mao ve ark., 2017). 1882 yılında Matthews Duncan tarafından diyabetin hamilelik sırasında ortaya çıkabileceği ve hamileliğin sona ermesiyle sona erebileceği gösterilmiştir (Duncan, 1882). 1950'lerde, Jackson, diyabetli kadınlarda önceki ölü doğum ve fetal makrozomi olasılığının yüksek olduğunu bildirmiştir (Jackson, 1952). GDM dünya çapındaki gebe kadınların ~% 5'inde görülür ve yüksek perinatal risk taşır (örneğin, makrozomi (Ellerbe ve ark., 2013), insülin direnci (Wang ve ark., 2013), yüksek sistolik kan basıncı (Aceti ve ark., 2012)). Ayrıca GDM obezite, dislipidemi, hipertansiyon ve metabolik sendrom gibi hastalıklarla da ilişkilendirilmiştir. GDM'nin, arka planda meydana gelen kronik insülin direncinin bir sonucu olduğu, hamilelik sırasında fenotipe GDM olarak yansıdığı öne sürülmüştür. GDM'li kadınlar obez olma eğilimindedir, bu nedenle obezite veya obeziteyi insülin direnciyle ilişkilendiren biyomoleküler mekanizmalar GDM gelişimine katkıda bulunabilir. Öte yandan, gebelerde düzeyleri artan plasental laktojen, plasental büyüme hormonu, progesteron, kortizol, prolaktin ve diğer hormonların da insülin reseptörünün aktivasyonunu bozarak periferik dokularda insülin duyarlılığının azalmasına neden olabilecekleri bildirilmektedir (Mao ve ark., 2017). GDM'de saptanan temel değişikliklerden biri fetoplasental dolaşımdaki endotel disfonksiyonudur (Leach, 2011; Leiva ve ark., 2016).

2.1.3. Diyabetin Komplikasyonları

Diyabette birçok sistem önemli oranda etkilenmekte, sakatlık ve ölümlere neden olabilmektedir. Diyabetin komplikasyonları, akut ve kronik olarak iki başlık altında incelenebilir.



Şekil 2. 3. Diyabetin genel etkileri.

Diyabetin akut komplikasyonları

Hipoglisemi

Hipoglisemi, antidiyabetik tedavinin en sık ve en ciddi yan etkisidir (Cryer, 2014). T1DM'li hastaların ~%30-40'da ve insülin tedavisi alan T2DM'li hastaların ~%10-30'da her yıl ciddi hipoglisemi görülür (Leckie ve ark., 2005; Barendse ve ark., 2012; Brod ve ark., 2012; Lawton ve ark., 2014). Çok sayıda hasta yılda birden fazla hipoglisemik atak yaşar. Hafif hipogliseminin sıklığını ölçmek, birçoğunun bildirilmemesi nedeniyle zordur. Hipoglisemi, diyabet öyküsü olan veya olmayan hastalar arasında ve ayrıca glikoz düşürücü tedaviler alan ve almayan hastalar arasında ortaya çıkabilir. Hipoglisemiye katkıda bulunan faktörler arasında ileri yaş (yaş > 65), böbrek veya karaciğer yetmezliği, uzun süreli DM, diğer diyabetik komplikasyonların varlığı, insülin dozundaki hatalar bulunabilir. Hipoglisemi kendini acıkma, titreme, terleme, baş ağrısı, konfüzyon halsizlik, güçsüzlük, sinirlilik, motor zayıflık gibi semptomlar ile belli eder (Frier, 2014).

Diyabetik Ketoasidoz

Diyabetik ketoasidozun (DKA) ana özellikleri hiperglisemi, yüksek anyon aralığı olan metabolik asidoz ve ağır ketonüridir (Basu ve ark., 1993). T1DM'li kişilerde baskın olarak ortaya çıkar, ancak bazen T2DM veya GDM'de de görülür (Dhatariya, 2016). Yetersiz insülin periferik glikoz kullanımını azaltır ve glukagonun da artmasıyla karaciğerdeki glikoneogeneze substrat sağlamak amacı ile periferik dokularda proteinler aminoasitlere parçalanır. Sonuç hiperglisemidir. Serum glikozunun ve ketoneminin sonucu olarak osmotik diürez olur ve bu durum da hipovolemi, dehidratasyon, ayrıca sodyum, potasyum, fosfat ve diğer bazı iyonların idrarla kaybı ile sonuçlanır. Öte yandan, insülin eksikliği ve katekolamin salınımı sonucu yağ dokusundan serbest 27 yağ asitleri mobilize olur. Karaciğer, yağ asitlerinden trigliserit oluşturacağı yerde yağ asitlerini keton cisimlerine ayırır. Ayrıca, insülin eksikliğinin bir sonucu olarak ortaya çıkan metabolik bozulmada adipositlerde hormona duyarlı lipaz aktivitesinin artmasına ve sonuçta trigliseritlerin parçalanmasıyla serbest yağ asitlerinin oluşmasına neden olur (Foster ve McGarry, 1983). Yağ asitleri, genellikle Trikarboksilik Asit (TCA) döngüsüne giren Asetil Koenzim A (coA) oluşturmak üzere oksitlenir. Bununla birlikte, insülin eksikliği ve yağ asiti yıkımı durumunda, TCA döngüsüne giren yüksek asetil KoA miktarı, enzim sistemlerini zorlar ve daha sonra karaciğerdeki keton cisimlerine dönüştürülür (McGarry ve ark., 1989). Baskın ketonlar asetoasetat, aseton ve beta-hidroksibutirattır (Dhatariya, 2016). Keton cisimlerinin karaciğerdeki aşırı üretimi, vücudun bu yapıları metabolize edip atabileceği miktarı aşar. Keton cisimlerinin hidrojen iyonları bikarbonat ile tampon edilir. Böylece serum bikarbonat ve PH düşer ve metabolik asidoz meydana gelir (Stentz ve ark., 2004).

Hiperglisemik Hiperozmolar Sendrom

Hiperglisemik Hiperozmolar Sendrom (HHS) ciddi hiperglisemi, hiperozmolalite ve dehidratasyon (su kaybı) ile karakterize olan ancak nonketotik bir durumdur. DM'li hastaların tahmini olarak %1'de görülür (Fishbein ve Palumbo, 1995). HHS hastalarının çoğunu T2DM'li yaşlı hastalar oluşturur, ancak çocuklar ve genç erişkinlerde de rastlanmaktadır (Rosenbloom, 2010). HHS genel mortalite oranının %20'ni oluşturmakta ve DKA hastalarından yaklaşık 10 kat fazla görülmektedir (Milionis ve Elisaf, 2005; Kitabchi ve ark., 2009; Fadini ve ark., 2011). HHS'de belirgin bir DKA gözlenmeksizin

glikoz konsantrasyonunun fazlalığı ve hiperozmolalite durumu ön plandadır. Bu metabolik düzensizlikler, insülin eksikliğinin yanı sıra bazı sinerjik faktörlerden (glukagon, katekolaminler, kortizol ve büyüme hormonu artışı gibi durumlar) kaynaklıdır (Chupin ve ark., 1981; Kitabchi ve ark., 2001). Bu hormonların artışı glikojenolizi ve karaciğerde glikoz üretimini uyararak hiperglisemiye, ozmotik diürez ve dehidratasyona neden olarak HHS'yi başlatır (Rosenbloom, 2010; Boonen ve Van den Berghe, 2014).

Diyabetin kronik komplikasyonları

Diyabet küçük damarların yanı sıra büyük arterleri de etkilediği için, diyabetin kronik komplikasyonları genel olarak mikrovasküler ve makrovasküler olarak sınıflandırılır (Khanam ve ark., 2017). Endotel kaynaklı vazokonstriktör ve vazodilatör maddelerin dengesizliği olarak tanımlanan endotel disfonksiyon, vasküler komplikasyonların patogenezinde ve ilerlemesinde önemli rol oynar (Sorrentino ve ark., 2018).

Diyabetin Mikrovasküler Komplikasyonları

Bu komplikasyonlar arasında diyabetik nefropati, diyabetik retinopati ve nöropati, hastaların yaklaşık olarak %25 ila %50'de görülmektedir. Bunun yanı sıra diyabetik erkeklerde erektil disfonksiyon prevalansı %35 ila %90 arasında bildirilmiştir (Faselis ve ark., 2019).

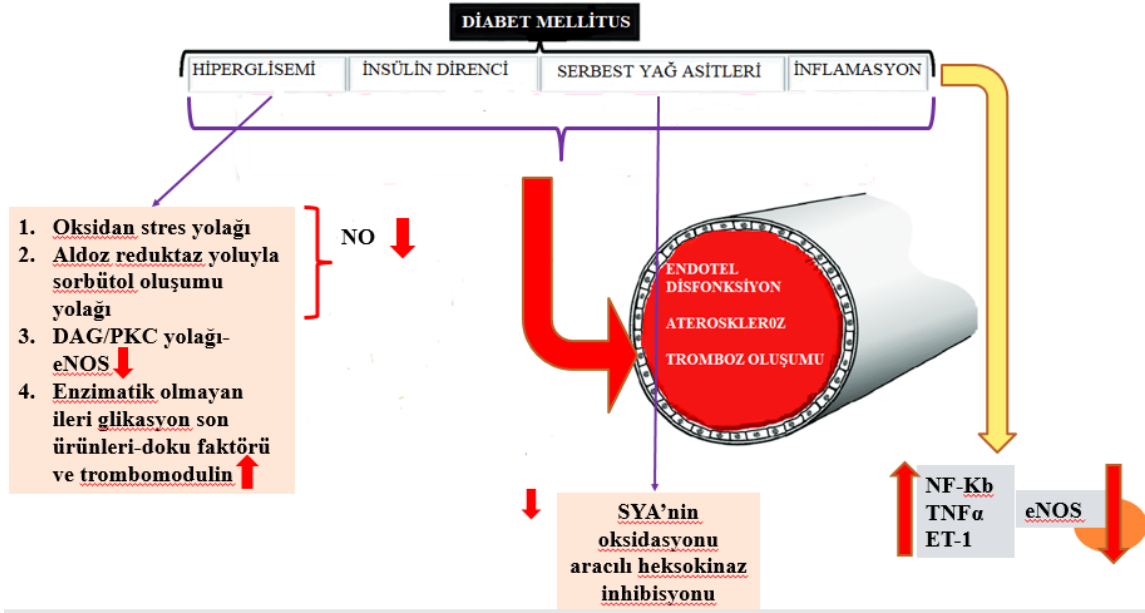
Diyabetik Retinopati

Diyabetik retinopati (DR), DM hastalarının yaklaşık % 50'ni etkileyen (Sivaprasad ve ark., 2012), diyabetik mikroanjyopatinin uzun süre devam etmesi sonucu gelişen, karmaşık bir patogenez ile karakterize ilerleyici bir retina hastalığıdır (Sohn ve ark., 2016). Metabolik ve biyokimyasal değişiklikler, büyüme faktörleri, nörotrofik faktörler, sitokinler, vazoaktif ajanlar, oksidatif stres, inflamatuvar moleküller ve adezyon molekülleri dahil olmak üzere birçok aracının DR gelişimine katkısı vardır (Sohn ve ark., 2016). Endotel hücrelerinin fonksiyon bozukluğu ve retinanın morfolojik yapısı patofizyolojik değişikliklerin gelişmesinde çok önemli bir rol oynar. Kapillerlerde membran kalınlaşması, perivasküler hücre kaybı, kan-retinal bariyer hasarı (vasküler geçirgenlik), kan damarlarının oluşumdaki aşırı fazlalık yani neovaskülarizasyon tipik

değişiklikler olarak sayılabilir (Brownlee, 2005; Nentwich ve Ulbig, 2015; Fu ve ark., 2016). DR gelişimi için risk faktörleri temel olarak hiperglisemi, hipertansiyon ve hiperlipideminin uzunluğu ve şiddetidir.

Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati (DN), DM hastalarında sık görülen ciddi mikrovasküler komplikasyonlardan biridir. DN, böbrek glomerüllerinde mikrovasküler lezyonların oluşmasıyla gelişir ve son dönem böbrek hastalığının nedenlerinden birini oluşturur (Papadopoulou-Marketou ve ark., 2017). Böbrek hastalarının yaklaşık %50'de DN gözlemlenmiştir (Kanwar ve ark., 2011). Ve diyabet hastalarında DN'nin bulunma oranı yaklaşık %30-40'tır (Reddy ve ark., 2013). Tip 1 ve 2 diyabet hastalarının yaklaşık %70'de Kronik Böbrek Hastalığı (KBH) klinik bulgularına rastlanmaktadır (Haider ve ark., 2011). DN, patolojik olarak daha çok mesangiyal dilatasyon, glomerüloskleroz ve Kimmelstiel Wilson nodülleri ile ayırt edilir (Tervaert ve ark., 2010). Bunun dışında diyabetik süreçte renal papilla nekrozu, kronik piyelonefrit, aterosklerotik renal arter darlığı, toksik nefropati gibi nedenlere bağlı olarak da renal tutulum görülebilir (Tervaert ve ark., 2010). Klinik belirtileri, mikroalbuminüriden (30-300 mg/dak) kitlesel albuminüriye (> 300mg/dak) kadar anormal idrar albumin atılımı ile karakterizedir (Zhang ve ark., 2016). Erken diyabette böbrek hemodinamiğini değiştiren, inflamasyon ve fibrozu teşvik eden kritik metabolik değişiklikler arasında, hiperaminoasidemi, glomerüler hiperfiltrasyon, hiperglisemi sayılabilir (Grabias ve Konstantopoulos, 2013; Tuttle, 2017). DN'nin aşamaları, hiperfiltrasyon ve renal hipertrofi, egzersiz sonrası mikroalbuminüri, kalıcı mikroalbuminüri, böbrek fonksiyon bozukluğu ve son dönem böbrek yetmezliği olarak beş evrede özetlenebilir (Zhang ve ark., 2016).



Şekil 2. 4. Diyabet mellitusun sebep olduğu endotel disfonksiyonun nedenleri.

Diyabetik Nöropati

Diyabetik Nöropati (DNP), diğer periferik nöropati nedenleri dışında, DM'nin seyrinde klinik düzeyde ortaya çıkabilen periferik sinir hasarıdır (Terzi ve Cengiz, 2009). DNP'nin hafif veya ağır sinir hasarı dahil bütün tipleri DM'li kişilerin %60-70'ini etkilediği bildirilmiştir. Sinir ileti ve duysal testlere dayalı çalışmalar göstermiştir ki neredeyse tüm diyabetik hastaların %66 oranında (periferik veya otonomik) nöropati mevcuttur (Dyck ve ark., 1993). Distal simetrik nöropati; DNP'nin en sık rastlanan tipidir. DNP'nin oluşmasında hiperglisemi, diyabetin süresi, hipertansiyon, hipoinsülineminin önemli rolü vardır (Terzi ve Cengiz, 2009). DNP'nin bozulmuş glikoz toleransından kaynaklandığı öne sürülmüştür (Sumner ve ark., 2003; Singleton ve Smith, 2007). DNP patogenezinde metabolik, genetik, immün ve vasküler faktörler rol oynar (Feldman ve ark., 2017). Hiperglisemi, hiperlipidemi, sinirlerde glikolizasyonun son ürünleri (AGE)'lerin birikimi, mitokondrial ve sitozolik reaktif oksijen türleri (ROS) artışı DNP patogenezinde yer alan önemli faktörlerdir (Feldman ve ark., 2017).

Diyabetin Makrovasküler Komplikasyonları

DM'de görülen makrovasküler komplikasyonlar, kardiyovasküler hastalıkların gelişmesi açısından önemli bir risk faktörüdür. DM'li hastalarda kardiyovasküler risk, diyabet olmayan insanlara göre 2-3 kat daha fazladır (Janghorbani ve ark., 2007). Vasküler komplikasyonlar hem T1DM hem de T2DM'li hastalarda yaşam kalitesinin azalmasına hatta ölüme sebep olmaktadır (Ali ve ark., 2013). DM'de kardiyovasküler hastalıkların majör tipleri ateroskleroz, miyokard enfaktüsü, inme ve kalp hastalıklarını içermektedir (Filla ve Edwards, 2016). Diyabetik hastalarda erken dönemde gelişen ateroskleroz, kardiyovasküler komplikasyonların gelişmesinde en başlıca nedeni oluşturmaktadır ve bu durumun oluşmasında vasküler endotel disfonksiyonunun rolü büyüktür (Sobngwi ve ark., 2002; Pozzilli ve Buzzetti, 2007; Achenbach ve ark., 2009; Marcus Lind, Bounias, Olsson, Gudbjörnsdottir, ve ark., 2011; Miki ve ark., 2013).

Koroner Arter Hastalığı (KAH)

Koroner arter hastalığı (KAH), koroner arterlerin daralması veya tıkanması ile kan akımının bir kısmı ya da tamamının kesilmesine bağlı ortaya çıkan bir hastalıktır. KAH'ın en bilindik nedeni "ateroskleroz"dur. T2DM, KAH'ı etkileyen önemli bir risk faktörü olup KAH gelişme riskini iki katına çıkarmaktadır (Control ve Prevention, 2011; Andersen, 2018). T2DM hastalarının %75 KAH başta olmak üzere çeşitli kardiyovasküler hastalıklar sonucunda hayatlarını kaybetmektedirler (Andersen, 2018). Hiperlipidemi, dislipidemi ve ateroskleroz KAH'ın başlıca oluşum nedenlerindedir (Pathak ve ark., 2017).

Ateroskleroz

Ateroskleroz diyabette sıkça görülen endotel disfonksiyonunun ve oksidan stresin eşlik ettiği kronik inflamatuvar vasküler bir hastalıktır. Endotelde ortaya çıkan inflamatuvar olaylar sonucu makrofaj ve T lenfositler damar duvarına bağlanırlar. Zarar gören endotel hücreleri düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) partiküllerini kan akımından alarak okside olmasını sağlar (Forbes ve Cooper, 2013). Makrofajlar okside LDL'yi (oxLDL) yabancı cisim olarak algılar, içine alır ve köpük hücrelerine dönüşerek hasarlanmış endotel bölgesine toplanırlar. Bu duruma bağlı olarak endotel hücrelerinde ve vasküler düz kas hücrelerinde proliferasyon tetiklenmiş olur (Keskin ve Balcı, 2011). Diyabetik hastalarda

LDL partikülleri glikolizasyona da uğrar ve LDL daha aterojenik hale gelir. Dislipidemi ateroskleroza hızlandırır aynı zamanda endotel disfonksiyona da neden olur.

Diyabetik Kardiyomiyopati

Kardiyomiyopati kalp kasının yapısal ve fonksiyonel bozukluğu olarak tanımlanmıştır. Kardiyak diyastolik disfonksiyon, T1DM hastalarında daha yaygındır (Raev, 1994). Yapılan çalışmalarda T1DM, hipertansiyon, sigara, obeziteden bağımsız olarak kalp yetmezliği riskini %30 oranında artırmaktadır (Lind, Bounias, Olsson, Gudbjornsdottir, ve ark., 2011). T2DM'li kişilerde de kalp fonksiyon bozukluğu gelişim riski yüksektir (Radovits ve ark., 2009). Diyabetik kardiyomiyopatinin erken evreleri, insülinin bozulmuş metabolik sinyalizasyonu, glikoz kullanımında bozukluk ve artmış mitokondriyal disfonksiyonu içeren birtakım metabolik olayları içerir (Adeghate ve Singh, 2014; Jia ve ark., 2016). Bu metabolik bozukluklar kalp kasında yeniden şekillenme, fibrotik diyastolik disfonksiyon yapar ve bunun sonucunda DM'li hastalarda ejeksiyon fraksiyonu azalır. Hastalığın daha ilerleyen aşamalarında ise kardiyak yapıdaki değişiklikler daha belirgindir: kardiyomiyosit nekrozu, kollajen birikimi, fibroz, hipertrofi, küçük koroner damarların skleroza gelişir. İleri evrede gözlenen bu değişiklikler koroner dolaşım disfonksiyonu ve aynı zamanda hem sistolik hem de diyastolik disfonksiyona neden olmaktadır (Wang ve ark., 2006; Mytas ve ark., 2009).

Hipertansiyon

Arteriyel kan basıncının normal değerlerin (sistolik 140 mmHg, diyastolik 90 mmHg) üzerinde olması durumu hipertansiyon (HT) olarak tanımlanır. HT'nin birçok nedeni vardır ve DM bunlardan biridir. Fizyolojik koşullarda insülin böbreklerden su ve tuz tutulumu sağlayarak oluşturduğu hipertansif etkisini, periferik damarlarda vazodilatasyon (NO aracılı) oluşturarak dengeler. Ancak insülin direnci varlığında vazodilatör etki bozulduğu için bu denge de bozulur. T2DM ve HT kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörüdür (Strain ve Paldanius, 2018). Hipertansif vasküler hasarın en ayırt edici özelliklerinden biri büyük arterlerde arteriyel sertliğin olmasıdır (Niiranen ve ark., 2016). Arteriyel sertlik aterosklerozun patogenezinin büyük katkı sağlar ve gelişen HT, T2DM

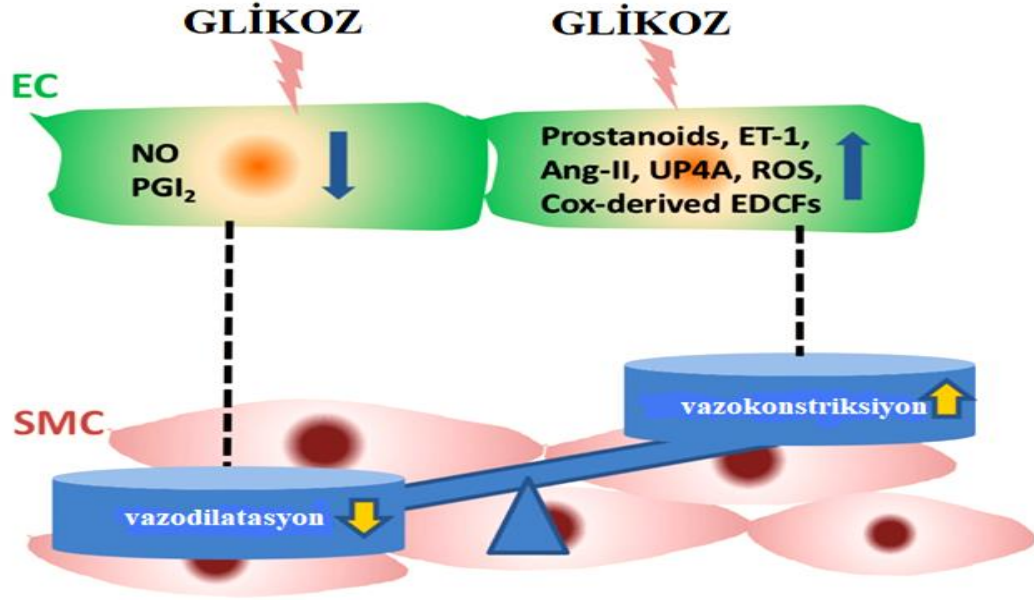
hastalarında ölüm oranını artırır. Hiperglisemi, arteriyel sertliğin önemli tetikleyicisidir (Strain ve Paldanius, 2018).

İnme

DM kardiyovasküler risk faktörünün yanı sıra serebrovasküler hastalıklarda da (özellikle inme) ölüm riskini artırır (Mast ve ark., 1995). Serebrovasküler hastalıklardan biri olan inme, beyindeki vasküler bozukluklardan dolayı beyine giden kan akımının aniden azalması veya durması olayıdır (Members ve ark., 2010). İnmenin önemli risk faktörleri arasında hipertansiyon, sigara, dislipidemi ve diyabet yer almaktadır (Chen ve ark., 2016). İnme geçiren hastaların yaklaşık %30 unda DM'ye rastlanmıştır ve bu hastaların çoğu ölümlerle sonuçlanan klinik bir tablo sergilemişlerdir (Megherbi ve ark., 2003; Ergul ve ark., 2016). Diyabetin inme oluşumunu kolaylaştırıcı etkileri vardır. Bunlar arasında, erken yaşta gelişen arteriyel sertlik, sistemik inflamasyon, kapiller bazal membranında kalınlaşma, vasküler endotel disfonksiyonu bulunmaktadır (Chen ve ark., 2016).

2.1.4. Diyabet ve Endotel Disfonksiyonu

Endotel disfonksiyonu, endotel hücrelerinin vasküler homeostazi koruma kapasitesinin yetersizliği olarak tanımlanır (Deanfield ve ark., 2007). Vasküler homeostazın bozulması gevşetici bir ajan olan NO üretimi ile, ET-1, anjiyotensin ve oksidanlar gibi kasılma ajanları arasındaki dengesizliği ifade eder. Endotel disfonksiyonunun birçok nedeni vardır ve bunlardan en çok bilineni endotele bağımlı NO biyoyararlanımının azalması veya üretiminin inhibisyonudur. Ancak proinflamatuvar, prooksidatif ve protrombotik olayların da endotel disfonksiyonuna katkı sağladığı bilinmektedir (Fuster ve ark., 1992). Endotel disfonksiyonu HT, kronik böbrek yetmezliği, koroner arter hastalığı, obezite ve diyabet gibi pek çok hastalıkla ilişkilidir (Hartge ve ark., 2006). Diyabetik hastalarda endotel fonksiyon bozukluğunun vasküler hastalıkların gelişiminde en önde gelen faktör olduğu düşünülmektedir (Schalkwijk, 2005).



Şekil 2. 5. Diyabet kaynaklı vasküler homeostazın bozulma mekanizması.

Diyabette birden fazla neden endotel disfonksiyonuna neden olabilir. Bunlar, ileri yaş, obezite, hiperlipidemi, hipertansiyon, düşük düzeyde inflamasyon, hiperglisemi, insülinle ilgili fonksiyon bozukluklarıdır (Oever ve ark., 2010). Bu faktörlerden üçü; hiperglisemi, insülin direnci ve yağ birikimi (obezite) doğrudan endotel fonksiyon bozukluğuna neden olur (Eringa ve ark., 2013).

Hipergliseminin Endotel Fonksiyon Bozukluğundaki Rolü

T1DM ve T2DM'de hipergliseminin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların patogeneğinde rol oynadığı ve endotel disfonksiyonuna neden olan faktör olduğu gösterilmiştir (Control ve Group, 1993; Group, 1995). Hiperglisemi vasküler komplikasyonları farklı mekanizmalarla oluşturmaktadır (Oever ve ark., 2010)

a) Oksidan stres yolağı: Temel olarak hiperglisemi reaktif oksijen türleri (ROS)'un fazla üretiminde önemli rol oynar. Fazla ROS üretimi oksidatif stresi indükleyerek ve NO biyoyararlanımını azaltarak endotel fonksiyon bozukluğunu geliştirir (Oever ve ark., 2010).

b) Aldoz redüktaz yoluyla sorbitol oluşumu yolağı: Birçok hücrede fazla glikoz, redüktaz enzimiyle sorbitole indirgenir. Sorbitol polyol yolu olan sorbitol dehidrojenaz ile

fruktoza dönüşür. Böylece Nikotinamid adenin dinükleotit fosfatın (NADPH) azalmasına neden olur ve NO biyoyararlanımını azaltarak disfonksiyona katkıda bulunur (Dagher ve ark., 2004).

c) Diaçilgliserol/Protein Kinaz C (DAG/PKC) yolağı: Hiperglisemi bu yolun aktivasyonunu sağlayarak vasküler fonksiyona olumsuz yönde etki eder. Hiperglisemi PKC'yi aktive ederek DAG düzeylerini artırır (Way ve ark., 2001). PKC'nin artışı vasküler düz kas hücrelerinde vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) indüksiyonu yolu ile vasküler geçirgenliği artırır (Williams ve ark., 1997), eNOS aktivitesini azaltarak veya ET-1 sentezini artırarak kan akışımın düzenini bozar (Chen ve ark., 2000).

d) Enzimatik Olmayan İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGE): Bu ajanlar kan dolaşımında çeşitli enzimler tarafından ortadan kaldırılırlar. Böbrek tarafından elimine edilemediklerinde plazma veya doku bileşenleri ile reaksiyona girebilen yeni AGE'ler üretilir. AGE'ler kendilerine özgü reseptörlerine (RAGE) bağlanarak trombomodulin ve doku faktörünün aktivasyonunu sağlar (Stern ve ark., 2002).

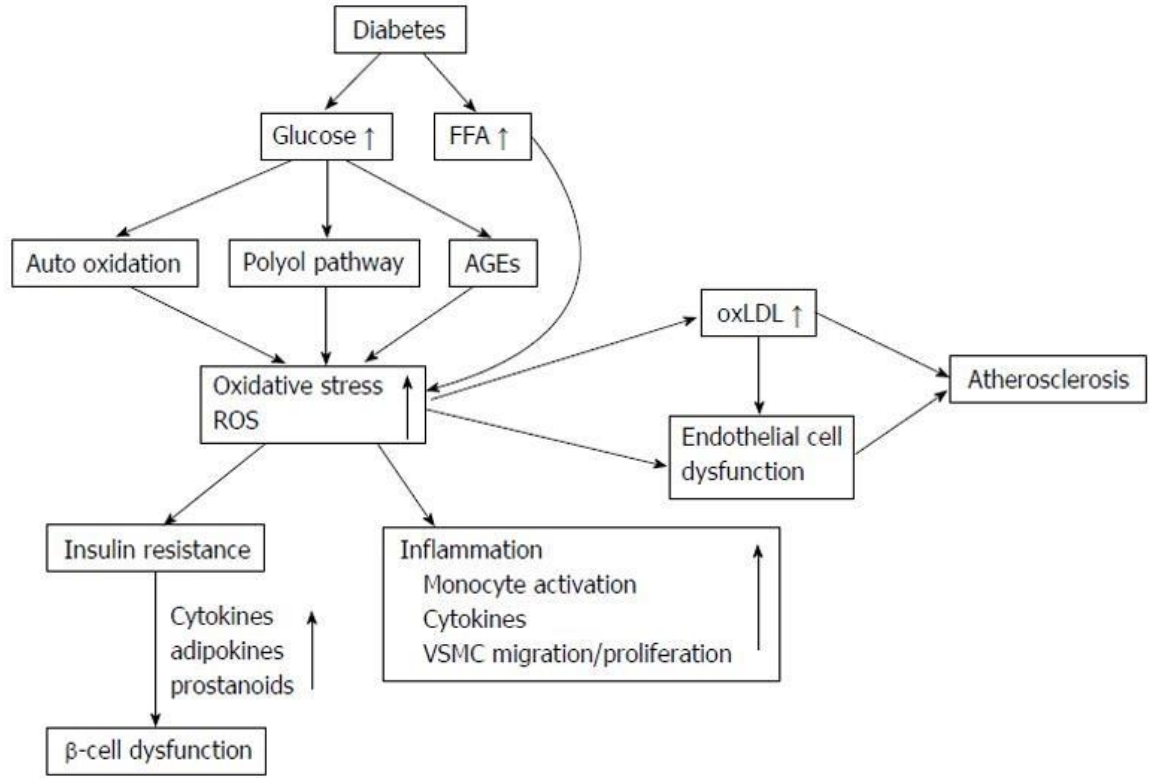
İnsülin Direncinin Endotel Disfonksiyonundaki Rolü

DM'li hastalarda vasküler endotel fonksiyon bozukluğunun diğer başlıca nedeni düşük düzeyli inflamasyon, insülin reseptör sinyalizasyonundaki bozukluk, yağ asitlerinin dolaşımdaki fazlalığı ve bunlara dayalı olarak gelişen insülin direncidir (Duplain ve ark., 2001; Le Gouill ve ark., 2007). İnsülin direnci, kan dolaşımındaki normal düzeylerde olan insüline karşı azalan cevap ve iskelet kası ve yağ dokusunda glikoz alımının azalması veya tamamen ortadan kalkması durumu olarak tanımlanmaktadır (Kahn ve Flier, 2000; Haffner, 2003). Genetik yatkınlık, obezite, inaktif yaşam, ileri yaş insülin direnci gelişimini artırır (Solymoss ve ark., 2003). İnsülin direnci gelişiminde birçok faktör rol almaktadır:

a) İnsülin direncinin temel özelliği insülin-IRS-1 sinyal yolağı olan PI-3 Kinaz bağımlı yolaktaki spesifik bozulmadır (Cusi ve ark., 2000). MAPK yolağı etkilenmediğinden dolayı insülinin MAPK ve İP-3 kinaz aracılı etkileri arasında dengesizlik gelişir (Cusi ve ark., 2000). Sonuçta insülin aracılı ET-1 salınımı artarken NO salınımı azalır. Ayrıca vasküler düz kas hücrelerinde IRS-1'in serin

bölgesinden fosforilasyonunun ET-1 aracılığıyla artırılması PI-3 kinaz aktivitesinin azalmasına ve GLUT-4 fonksiyonunun baskılanmasına katkıda bulunur (Jiang ve ark., 1999; Strawbridge ve Elmendorf, 2006). Böylece insülin direncine eşlik eden NO üretiminin azalması, vazokonstriksiyon, inflamasyon, tromboz ve endotel hasarına neden olur.

- b)** İnsülin direncinin diğer nedeni düşük düzeyli inflamasyon aracılı endotel disfonksiyonudur (Brownlee, 2001). Düşük düzeyli inflamasyon durumu proinflamatuvar sitokinlerin üretiminin artmasından kaynaklanır (Dandona ve ark., 1998; Festa ve ark., 2000). Bu sitokinlerden olan tümör nekroz faktör- α (TNF- α), hem ET-1 ve NF-kB ifadesini artırarak hem de eNOS aktivasyonunu azaltarak etki eder (Read ve ark., 1994; Shoelson ve ark., 2006). Ayrıca NF-kB hücreler arası adezyon moleküllü 1 (ICAM-1), vasküler hücre adezyon moleküllü 1 (VCAM-1) ve E-selektin ifadesini artırarak da vasküler patolojiye katkı sağlar (Min ve ark., 2005). Vasküler hastalıklarda inflamasyon belirleyicisi olan C-reaktif protein (CRP) (Jialal ve ark., 2004), vasküler eNOS ifade düzeyini azaltır ve ET-1 ifadesini ise artırır (Pasceri ve ark., 2000; Pasceri ve ark., 2001; Venugopal ve ark., 2002; Wang ve ark., 2003). Sonuçta bu şekilde insülin direncine katkı sağlamış olur.
- c)** Obezite ve Serbest Yağ Asitleri (FFA)'nin salınımı insülin direncinin bir diğer önemli nedenidir (Henry, 1995; Boden, 1997; McGarry, 1998; Kelley ve Mandarino, 2000; Lewis ve ark., 2002). İnsülin direnci adiposit türevli adiponektin metabolizmasındaki bozuklukla da ilişkilidir (Chen ve ark., 2003; Motoshima ve ark., 2004). İnsülin direncinde adiponektin düzeyleri sürekli azalır ve insülin sinyalizasyonunda bozukluk oluşturarak endotel disfonksiyonu yaratır (Lau ve ark., 2005). İnsülin direnci, yağ dokularından salınan yüksek düzeydeki FFA ile de ilişkilidir. FFA'nın oksidasyonu heksokinaz yolunu inhibe ederek glikozun hücre tarafından alınmasını engeller (Randle ve ark., 1963; Randle ve ark., 1964).



Şekil 2. 6. Diyabetten ateroskleroza ve Beta hücre harabiyetine giden yol.

2.2.Pürinerjik Sistem ve Sinyalizasyon

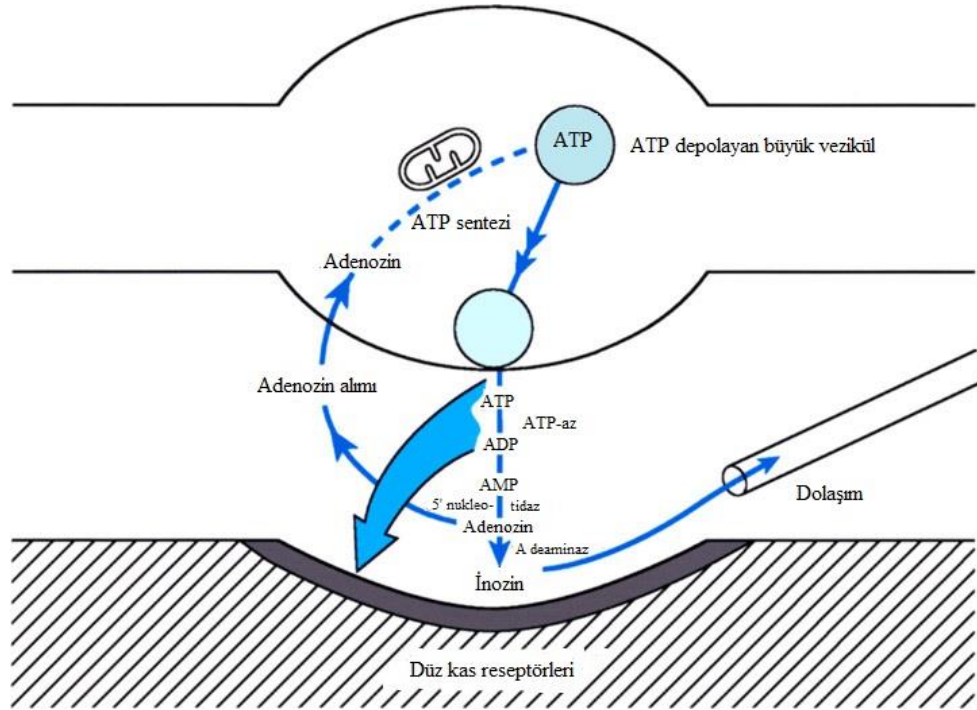
Pürin terimi 130 yıldan daha fazla bir süre önce ürik asit molekülünün detaylı karakterizasyonundan sonra Emil Fischer tarafından keşfedilmiştir (Martinez-Ramirez ve ark., 2017). Pürinerjik sinyalizasyon birçok biyolojik işlemde önemli rol oynamaktadır. Bunlar arasında ekzokrin ve endokrin sekresyon, immünolojik tepkiler, vazodilatasyon, hücresel proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz bulunmaktadır (Burnstock, 2007a). Nükleozidler ve nükleotidler olarak da bilinen pürinler, enerji ara maddeleri, temel metabolik faaliyetlerin düzenleyicileri, redoks molekülleri ve sinyal iletimi olayları için kimyasal haberciler olarak görev alırlar. Parakrin ve otokrin sinyalizasyon için hücre dışı ligandlar olarak görev yapan en önemli iki pürin Adenozin 5'trifosfat (ATP) ve adenozindir (Hardie, 2011).

ATP molekülü 80 yıl önce Heidelberg ve Lohmon, Fiske ve SubbaRow tarafından aynı anda keşif edilmiştir (Drury ve Györgyi, 1929; Burnstock, 1972). ATP'nin hem bir enerji

substratı olarak hem de tüm yaşam biçimlerinde metabolizmayı düzenlemekte önemli rolü vardır (Burnstock, 2007b). ATP neredeyse bilinen her hücre veya tek hücreli organizmada bulunur ve hücrelerarası sinyalizasyonun ilkel biçimidir (Burnstock, 2007a). AMP'nin sinyalizasyondaki rolü 1929'da kabul edilse de, ATP'nin otonom sinir sisteminde reseptörüne bağlanarak pürinerjik sinyalizasyonda rol oynadığı 1970'lerde ortaya atılmıştır (Burnstock ve ark., 1972). ATP'nin hem sinir sisteminde hem de nöronal olmayan hücrelerde önemli rolü olduğu kabul edilmiştir (Langer ve Pinto, 1976; Fedan ve ark., 1981; Sneddon ve Burnstock, 1984). Mitokondrilerde üretilen ATP 1-10 mM konsantrasyonlara ulaşır ve hücre dışına doğru konsantrasyon gradiyenti oluşturur (Burnstock ve Alexei, 2012). ATP'nin hücreler tarafından salınması çoklu mekanizmalarla gerçekleşir (Corriden ve Insel, 2010). ATP geçirgen kanallar yoluyla transmembran diffüzyonu ile; aktif taşıma ve ekzositoz yolu ile salınır. Bu salınım yolları hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda çeşitli hücrelerde gösterilmiştir. Epitelden ATP salınımı iyon kanallarının aracılığı ile veziküllerden ekzositoz yolu ile gerçekleşir. ATP'nin veziküler salınımı, ATP aracılı nörotransmisyonun en yaygın mekanizmasıdır (Verkhatsky ve Burnstock, 2014). ATP anyonik yapıya sahip olduğundan anyon kanalları ile çıkışı mümkündür (Fitz, 2007). Voltaja bağlı anyon kanallarının da mitokondriyal zar boyunca ATP geçişini sağladığı bilinmektedir. Birden fazla membran kanalı tipi, konneksin, panneksin, hemikanallar ve anyon kanalları ATP'nin salınımına aracılık eder (Corriden ve Insel, 2010). ATP'nin birçok hücre tipinden herhangi bir hasara yol açmadan salındığı bilinmektedir. Aynı zamanda ATP'nin membran bütünlüğü bozulan hücrelerden direkt olarak salındığı gösterilmiştir. ATP normal şartlarda gösterilmiş olan salınım mekanizması ile hücre dışına salınır, ancak bazı patolojik durumlarda yüksek düzeyde ATP hücre dışına geçiş yapar. Endotel hücreleri, astrositler, makrofajlar, osteoblastlar ve diğer hücre tiplerinin membran hasarı durumunda, hipoksik şartlarda ve bazı maddelere cevaben ATP'nin salındığı bilinmektedir (Burnstock, 2013).

ATP'nin merkezi sinir sistemindeki nöronlarda kısa süreli pürinerjik sinyalizasyona aracılık eden bir kotransmitter olduğu gösterilmiştir (Pankratov ve ark., 1999; Jo ve Role, 2002; Burnstock, 2007a). ATP salınımı, mekanik uyarıcılara ve hücre dışı biyokimyasal olaylara cevap olarak hücreden salınır (Schwiebert ve Zsembery, 2003). Mekanik stimülasyon, hücrelerin ozmotik basınç artışları veya büzölmeleri, fiziksel bozulmalar-

akış ve gerilme kuvvetleri, substrat-patojen etkileşimleri veya hücre dışı ortamlarda herhangi bir değişiklik meydana gelir (Watt ve ark., 1998; Tsuzaki ve ark., 2003; Yoshida ve ark., 2006). ATP ve metabolik ürünlerinin hücre dışı düzeylerinin, bu mekanik stimülasyon gibi faktörlerle arttığı deneylerle ortaya konulmuştur (Ostrom ve ark., 2000). Pürinerjik sinyalizasyonun ATP salınımı sonrası adımı, spesifik enzimler tarafından kontrol edilmektedir (Millán, 2006; Yegutkin, 2008). Bunlar membranla ilişkili dört sınıfa ayrılan ektonükleotidazlardır. Bunlar arasında nükleosit trifosfat difosfohidrolazlar-NTPDaz'lar, nükleotid pirofosfatazlar/fosfodiesterazlar-NPP'ler, alkalın-ALP ve asit-ACP fosfatazlar ve ekto-5-nükleotidaz-CD73 bulunmaktadır. Bu enzimler ATP'yi ADP, AMP ve Adenozine dönüştürür (Zimmermann ve ark., 2012). ATP ve membranda olan çeşitli enzimlerin ATP'yi yıkarak oluşturduğu ürünler, daha sonra membranda yerleşim gösteren reseptörlere bağlanır. Bu reseptörler "Pürin Reseptörleri" adlandırılmaktadır. ATP ve yıkım ürünleri, reseptörlere bağlandıktan sonra hücre içi sinyalizasyonu başlatmış olur. Bu sinyalizasyona "Pürinerjik Sinyalizasyon" adlandırılmıştır. Sonuç olarak pürinerjik sinyalizasyon ATP oluşumundan hücre membranındaki reseptörüne bağlanarak hücre içi yolları aktive etmesine kadar olan süreci kapsamaktadır.



Şekil 2.7. Pürinerjik sinyalizasyon.

2.2.1. Pürinerjik Reseptörler

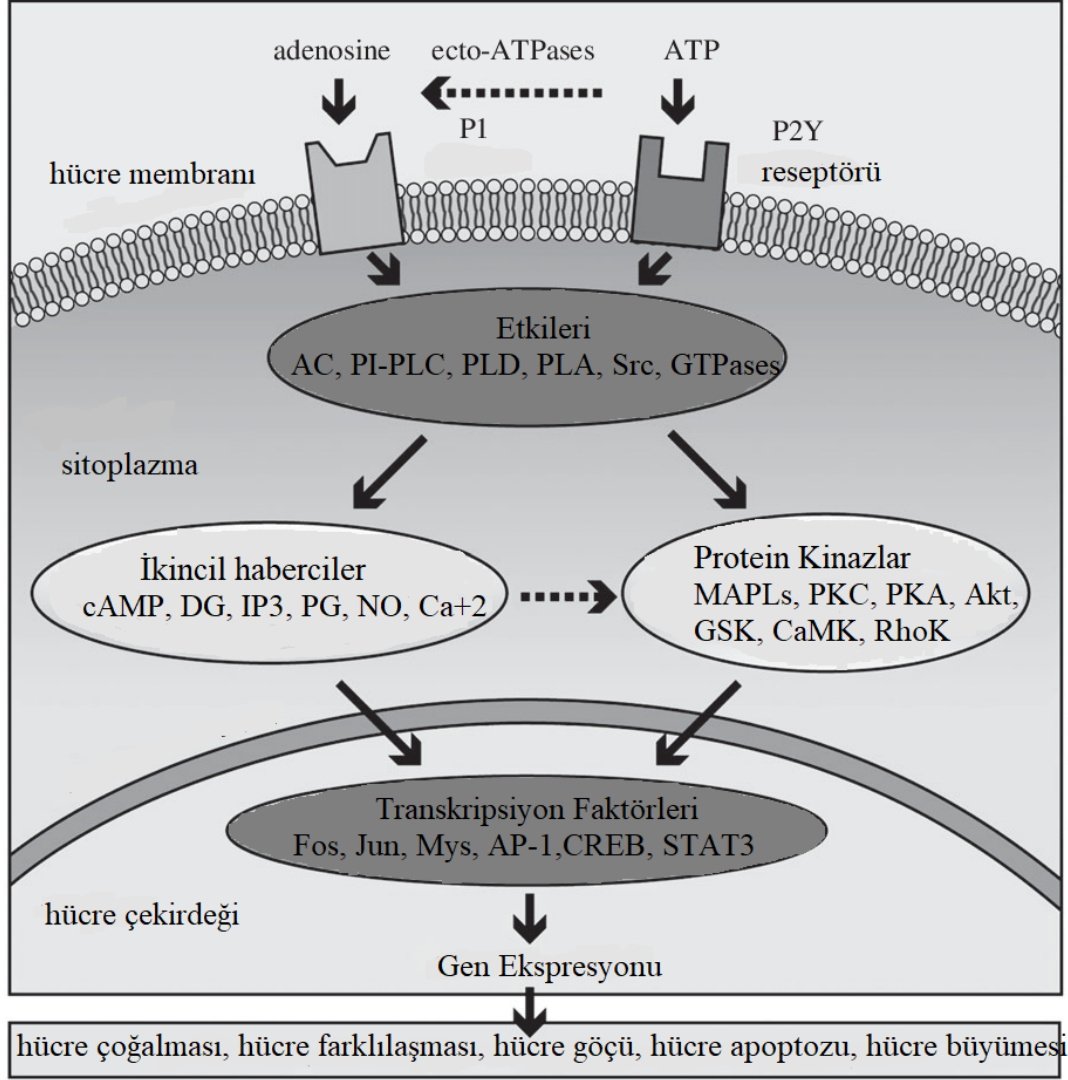
Pürinlerin hücre dışı sinyalizasyonda rol oynadığı ilk kez 1929 yılında Drury ve Szent-Györgyi tarafından ortaya atılmıştır. Pürinerjik reseptörler ilk defa 1976 yılında Burnstock tarafından tanımlanarak (Burnstock, 1976), 1978 yılında P1 ve P2 olarak isimlendirilen alt tiplerine ayrılmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarla bu reseptörlerin de alt tiplerinin bulunduğu ortaya konmuştur (Dalziel ve Westfall, 1994). P1 reseptörleri adenozinle eşleşirler ve dört alt tipten oluşurlar: A1-AR, A2a-A2aR, A2b-A2bR, A3-A3R. P2R reseptörleri ATP ve onun yıkım ürünlerinin bağlandığı substratlardır ve onlar da P2X ve P2Y isimli iki alt tipe ayrılmaktadır. P2X reseptörlerinin yedi alt tipi mevcuttur; P2X1, P2X2, P2X3, P2X4, P2X5, P2X6, P2X7. Diğer alt tip olan P2Y reseptör ailesi sekiz alt tipten oluşur; P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11, P2Y12, P2Y13, P2Y14 (Burnstock, 2007a).

Pürinerjik Reseptörlerin Genel Fonksiyonu

Pürin reseptörleri vücutta tüm periferik dokularda; bağırsakta, böbrekte kardiyovasküler ve solunum sistemlerinde, immün sistem, kas hücreleri, deri ve kemiklerde bulunur ve çok farklı mekanizmaların düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (Burnstock ve Knight, 2004; Burnstock ve Verkhratsky, 2009). Pürin reseptörleri, etkilerini ATP ve onun yıkım ürünlerinin bağlanmasından sonra yaparlar. ATP ve pürin reseptör etkileşiminin hücrede iki şekilde etkisi vardır: kısa süreli etki ve uzun süreli trofik etki (Burnstock, 2016b). Bu reseptörlerin kısa süreli etkisi endokrin ve endokrin olmayan hücrelerde gerçekleşmektedir (Burnstock, 2014a, 2014b). Kısa süreli etki ATP'nin hem adenozin reseptörleri hem de P2 reseptörleri yoluyla, sempatik sinirlerde, kan damarlarında periferik ve merkezi sinir sistemi (MSS)'de nöro-modülasyonda rol alan etkileridir (Burnstock, 2009; Gourine ve ark., 2009; Chandaka ve ark., 2011; Xu ve Khakh, 2014). Pürin reseptörleri MSS'de çok yaygın olarak bulunur ve burada nöronal uyarılabilirlik gliotransmisyonunda görev alırlar (Burnstock, 2007a; Maria P Abbracchio ve ark., 2009; Verkhratsky ve ark., 2009). Sinirler arasında pürinerjik sinaptik geçiş, ganglionlarda ve beynin farklı bölümlerinde gösterilmiştir (Edwards ve ark., 1992; Evans ve ark., 1992; Silinsky ve Gerzanich, 1993). Vasküler ve solunum sistemlerinde, ATP duysal sinirlerin aktivasyonu yolu ile refleks aktivitelere aracılık eder (Burnstock, Brouns, ve ark., 2012;

Burnstock ve Ralevic, 2014b). Pürin reseptörlerinin aktivasyonu immünolojik sistemde, kan hücrelerinde, deride, kemiklerde ve kaslarda, idrar yollarında da hızlı tepkilere de aracılık edebilir (Burnstock, Knight, ve ark., 2012; Burnstock ve ark., 2013; Burnstock ve Boeynaems, 2014; Burnstock, 2015; Burnstock ve Pelleg, 2015).

Pürin reseptörlerinin uzun süreli etkileri, embriyolojik oluşumda, kemik oluşumu ve erimesi, ateroskleroz ve kanser hücrelerinin sinyalizasyonunda önemli rol oynar (Burnstock, 2016a). Embriyolojik gelişimde pürinerjik sinyalizasyonun, büyüme faktörleri, sitokinler ve hücre dışı matriks bileşenleri dahil olmak üzere birkaç sinyal yolağı ile etkileşimi bildirilmiştir (Zimmermann, 2006). Ayrıca yetişkinlerde sinirlerden ve endotel hücrelerinden salınan bazı pürin ve primidinlerin hem ateroskleroz hem de hipertansiyonda, vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde oluşan trofik etkilere aracılık ettiği gösterilmiştir (Burnstock, 2016b). Bunun yanı sıra prostat, mesane, melanom, meme ve diğer organlardaki tümörlerin gelişiminde rol oynayan bazı pürin reseptörleri de tanımlanmıştır (Janssens ve Boeynaems, 2001; Burnstock ve Di Virgilio, 2013). Bu reseptörlerden P2Y1 ve P2Y2 hücre çoğalmasında; P2X5 hücre farklılaşmasında; P2X7 ise kanserde hücre çoğalması ve hücre ölümünde görev almaktadır (Adinolfi ve ark., 2012).



Şekil 2.8. Pürin reseptörlerinin kısa ve uzun süreli etkisi.

P1/Adenozin reseptöleri (AR)

Adenozin

Adenozin, ATP metabolizmasından üretilir ve vücutta farklı fonksiyonlar yapar. Adenozin hem hücre içi hem de hücre dışında üretilir. Hücre içinde adenozin, 5-nükleotidaz enziminin etkisiyle AMP'den üretilir. Kullanılmayan Adenozin deaminaz ile inosin ve hipoksantine ve ksantin oksidaz ile ürik aside metabolize olur. Adenozin çift yönlü nükleosid taşıyıcıları ile hücre dışına taşınabilir (Latini ve Pedata, 2001). Normal fizyolojik koşullarda, hücre dışı Adenozin seviyeleri 20 ila 300 nM arasındadır, yoğun

egzersizde, yüksek rakım koşullarında düşük seviyelere inerken, iskemi gibi patolojik koşullarda düzeyleri artar (Newby, 1984). Merkezi sinir sistemde iskemik, hipoksik ve oksidatif stres olaylarında, nörotransmitter salınımının modülasyonu, sinaptik plastisite ve nöroproteksiyon gibi önemli fonksiyonlarda yer alır (Cunha, 2001; Ferreira ve Paes-de-Carvalho, 2001; Fredholm ve ark., 2011). Adenozin, farklı dokularda farklı rol üstlenir. Kardiyovasküler sistemde hem damar kasılması hem de damar dilatasyonunu oluşturur (Li ve ark., 1998). Aynı zamanda Adenozin, T hücre çoğalmasını ve sitokin üretimini de düzenler (Haskó ve Pacher, 2008).

Adenozin reseptörlerinin Tipleri

Adenozin etkilerini AR'ler ile oluşturur. AR'ler sinir, kalp ve damar sistemi, solunum, sindirim sistemi, üreme sistemi ve immun sistemlerin yanı sıra kemik, eklemler, göz, deri ve böbreklerde geniş dağılım göstermektedirler (Aghaei ve ark., 2011). Adenozin fizyolojik etkilerini A1R A2aR A2bR ve A3R gibi dört reseptör alt tipleri ile yapar. Bu reseptörlerin dokularda dağılım düzeyleri farklılık gösterir ve A1 ve A2a reseptörleri, adenozin için yüksek affinite gösterir, A2b ve A3 reseptörleri ise nispeten düşük affinite gösterirler (Fredholm ve ark., 2011).

Adenozin reseptörlerinin moleküler yapısı

Bu dört AR'ler iyi tanımlanmış ve farmakolojik olarak incelenmiştir. Hepsi ortak yapıya sahiptir: her biri, bir sarmalda 20-27 aminoasit taşır ve plazma zarını yedi kez geçen bir protein yapı oluşturur (Fredholm ve ark., 2000). Hücre dışı amin (NH₂) terminali bir veya daha fazla glikosilasyon bölgesi içerirken, hücre içi karboksil (COOH) kısmı ise fosforilasyon için bağlanma alanları barındırır ve böylece reseptör aktivasyonu ve inaktivasyonunda rol oynar. AR tiplerinin her biri moleküler yapılarında farklı sayıda amino asit zinciri (örneğin; A2aR'nin yapısında daha uzun- 122 amino asit bulunurken, A2aR, A2bR ve A3R'nin yapılarında 30-40 amino asit) içerirler (Fredholm, IJerman, ve ark., 2001).

Adenozin reseptörlerinin vücutta dağılımı ve fonksiyonları

A1 reseptörleri, merkezi sinir sisteminde korteks, hipokampus ve serebellumdaki nöronların üzerinde geniş dağılım göstermektedir (Bertil B Fredholm ve ark., 2011). Aynı zamanda astrositler, oligodendrositler ve mikroglia üzerinde de bulunurlar (Gebicke-Haerter ve ark., 1996; Biber ve ark., 1997; Othman ve ark., 2003). A1R'nin bu geniş dağılımı nöronal uyarılabilirliğin azalması, uyku/uyanıklık döngüsünün kontrolü, ağrının düzenlenmesindeki rolü, ayrıca anksiyolitik ve lokomotor depresan etkileri kapsayan geniş yelpazeli fonksiyona sahip olduğunu göstermektedir (Stenberg ve ark., 2003; Gessi ve ark., 2011; Sawynok, 2015). Bu alt tip reseptör, kalp atriyumunda, böbrek, yağ dokusu ve pankreasta yüksek seviyelerde bulunur ve bu dokularda negatif kronotropik, ionotropik etkiler meydana getirir, renal kan akımını, renin salınımını azaltır ve insülin sekresyonunu inhibe ederek etkisini gösterir (Borea ve ark., 2018). Ayrıca bu reseptör solunum yollarındaki epitel ve düz kas hücreleri üzerinde bulunur ve konstriksiyon etkisi yapar. Bunun yanı sıra proinflamatuvar etkileri teşvik ettiği nötrofiller, eozonofiller, makrofajlar ve monositler gibi çeşitli immun hücrelerde de bulunmaktadır (Hua ve ark., 2007; Ponnoth ve ark., 2010).

A3R talamus, hipokampus, korteks ve retina gangliyonlarında, motor sinir terminallerinde, beyin arterlerinde düşük seviyede olduğu bildirilmiştir. Bu reseptörlerin aynı zamanda mikroglia ve astrositlerde de ekspresyonu gösterilmiştir. Kardiyovasküler sistemde koroner ve karotid arterde büyük ölçüde bulunduğu gösterilmiştir. Kardiyovasküler ve sinir sisteminin yanı sıra mast hücreleri, eozonofiller, monositler, makrofajlar, dentritik hücreler, lenfositler ve köpük hücreleri gibi inflamatuvar sistemi kapsayan çoğu hücrede de ifadesi ve fonksiyonel işlevi bildirilmiştir (Borea ve ark., 2016).

A2aR hem merkezi hem de periferik sistemde bulunmaktadır. Bu reseptör en çok protein ifade düzeyini, striatumda, koku tüberkülünde ve bağışıklık sisteminde gösterir. En az protein ifade düzeyi ise beyin korteksi, hipokampus, kalp, akciğer ve kan damarlarında göstermiştir. Nöronal ve sinaptik nöronlarda ifade edilir ve burada glutamat salınımı, glial reaktivite, kan beyin bariyer (KBB) geçirgenliği ve periferik immünite gibi birçok fonksiyonda yer alır. Periferik immün sisteminde lökositlerde anti-inflamatuvar, trombositlerde antiagregatör ve vasküler sistemde ise vazodilatör etkilere aracılık eder (Borea ve ark., 2018).

A2bR, esasen bağırsakta, mesanede, akciğerde, fibroblastlarda, immun sistemde, alveoler epitelde, kromaffin hücreler, tat hücreleri ve trombositlerde büyük ölçüde ifadesi bilinmektedir. Bu reseptör merkezi düzeyde astrositler, nöronlar ve mikroglia da bulunur ve kanser, böbrek, akciğer ve vasküler hastalıkların patolojisindeki inflamasyon ve immün yanıtların düzenlenmesinde rol oynar (Ferre ve ark., 1991; Koupenova ve ark., 2012; Pedata ve ark., 2016).

Adenozin reseptörlerinin etki mekanizmaları

AR' i G-protein bağımlı (GPCR) reseptörlerdir (Verzija ve Ijzerman, 2011). A1 reseptörü G_i'ye, A2 reseptörleri G_s'ye bağlanarak etki eder ve böylece cAMP'ye bağlı olarak hücre içi yolağı etkileyen ters sinyalleri tetikleyebilirler (Navarro ve ark., 2016). A1 reseptörü G_{ai}/o proteinini aktive eder ve Adenilat Siklaz'ı (AC) inhibe ederek hücre içi cAMP, PKA düzeylerinde azalma oluşturur (Geldenhuys ve ark., 2017). A1R aynı zamanda ATP'ye duyarlı K⁺ATP kanallarını uyarır. A3R fosfolipaz C (PLC)- β aktivasyonunu indükler, İP3 ve kalsiyum bağımlı kinazları (PKC) veya diğer kalsiyum bağlayıcı proteinleri uyararak hücre içi Ca⁺² seviyelerini artırır. A2a ve A2b reseptörleri G_s protein aracılı etki gösterirler (Kull ve ark., 2000). Aktive olmuş protein AC'yi indükler ve hücre içi cAMP düzeylerini artırır. Artmış cAMP PKA'nın aktivasyonunu sağlayarak hücre içi sinyalizasyonu başlatır (Fredholm ve ark., 2001). A2bR'ü aynı zamanda G_q proteini aracılığı ile PLC'yi uyararak Ca⁺² mobilizasyonuna sebep olur ve iyon kanallarını alt birimleri üzerinden düzenleyebilir. Aynı zamanda, A1R ve A2bR'leri hem merkezi hem de periferik sistemlerde MAPK aktivasyonunun uyarıcısı olarak ta görev alırlar (Schulte ve Fredholm, 2000, 2003; Sun ve Huang, 2016).

Adenozin reseptörlerinin vasküler sistemdeki görevleri

AR'lerden A2a ve A2b insan kültüre edilmiş aortik endotel ve düz kas hücrelerinde tespit edilmiştir (Feoktistov ve ark., 2002). Ve A2R'nin vazodilatör etkisi kanıtlanmıştır. Endotele bağlı damar gevşetici etkisini eNOS üzerinden yapar. Damarlarda vazodilatör etkisinin diğer bir mekanizması arteriyel düz kas hücrelerinde AC'ı aktive ederek cAMP-PKA yolağı üzerinden K⁺(ATP) kanallarının açılmasına ve bu şekilde vazodilatasyona sebep olmasıdır.

P2 Reseptörleri

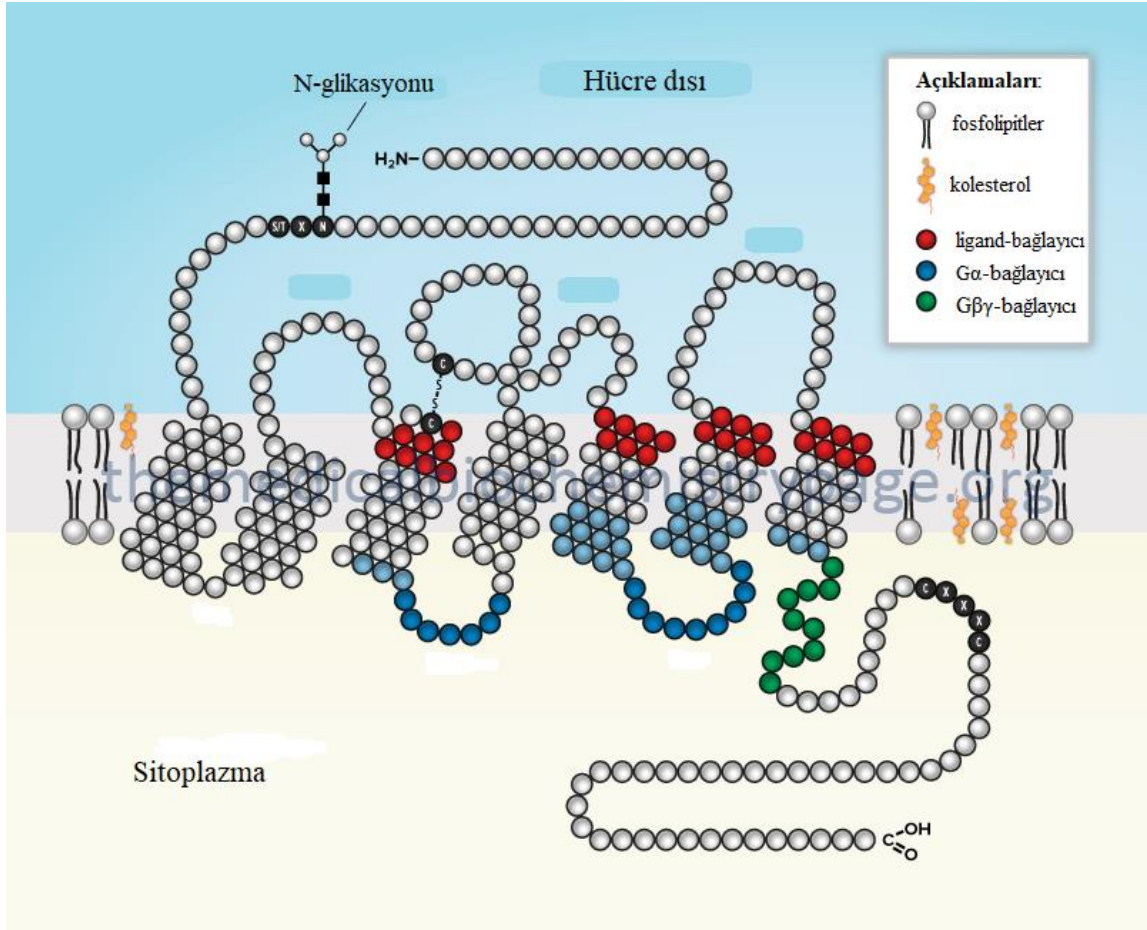
P2 reseptörleri, hücre dışı nükleotidler tarafından aktive edilir ve vasküler tonus ve kan basıncının kontrolünde önemli rol oynar (Jiang ve ark., 2017). P2 reseptörleri “iyonotropik” adlandırılan P2X reseptörlerine ve “metabotropik” adlandırılan P2Y reseptörlerine ayrılmıştır.

P2Y Reseptörlerinin Tipleri

P2Y reseptörleri ilk olarak 1993'te klonlanmıştır. P2Y reseptörünün günümüzde bilinen sekiz alt grubu vardır. Metabotropik P2Y reseptörleri, ATP ve onun yıkım ürünleri olan ADP UDP, UTP ve UDP-şeker bileşenlerinin bağlanması sonucu aktive olurlar. Bazı P2Y reseptörleri; (P2Y1, P2Y6, P2Y12, P2Y14) nükleotid difosfatlara (ADP ve UDP) bağlanırken, bazıları (P2Y2, P2Y4, P2Y6) hem pürin hem de pirimidinlere, bazıları ise (P2Y1, P2Y11, P2Y12, P2Y13) sadece pürin nükleotidlerine bağlanarak aktive edilirler (Burnstock, 2006). Bu reseptörlerin, nükleotit, pürin ve pirimidinleri bağlama affinitesi farklıdır (Kügelgen ve Harden, 2011).

P2Y Reseptörlerinin Moleküler Yapısı

P2Y reseptörleri yedi α -heliks transmembran (TM) alanı içeren tek bir polipeptidden oluşur (Costanzi ve ark., 2004). ATP ve yıkım ürünlerinin balandığı kısım TM alanları ile çevrili boşlukta yerleşir. Her bir alt tip, hücre membranını kat eden hücre dışı N-terminali ve hücre içi C-terminaline sahiptir. Reseptörün hücre dışı alanı nükleotit ligandlarını koordine etmektedir. Reseptörlerin hücre içi kısmı ikincil habercilerin birleşiminin derecesine göre yapısal çeşitlilik göstermektedir (Kügelgen ve Harden, 2011).

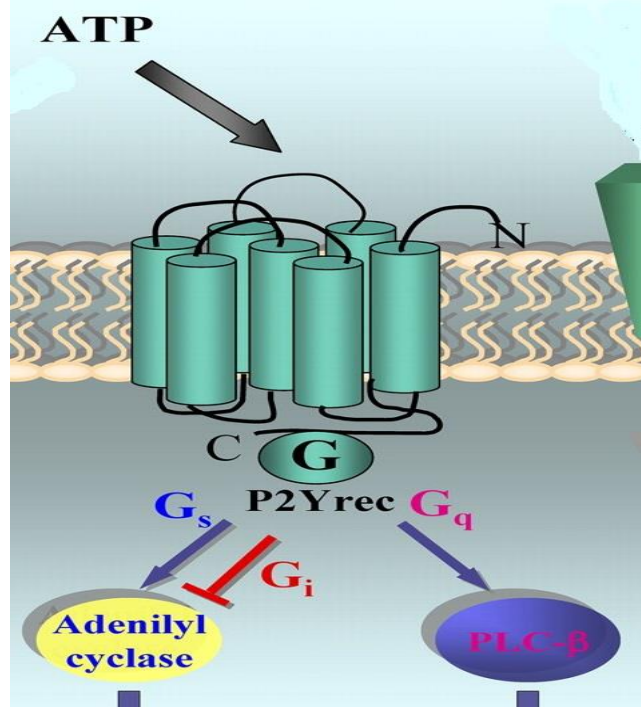


Şekil 2.9. P2Y reseptörünün moleküler yapısı.

P2Y Reseptörlerinin Etki Mekanizmaları

Farklı hormonlarda, nörotransmitterlerde, büyüme faktörlerinde ve duysal uyarılarda olduğu gibi, hücre dışı nükleotitler de G-proteinini doğrudan aktive ederler ve hücre içi mekanizmaları başlatarak fizyolojik etki yaratırlar (Kügelgen ve Harden, 2011). Her P2Y reseptörü tek bir Gq/11 proteini ile eşleşir. P2Y11 ek olarak Gs'ye bağlanırken ve P2Y12, P2Y13, P2Y14 reseptörleri ise Gi proteini ile eşleşerek etkilerini gösterirler. Hücre içi durumlara bağlı olarak P2Y reseptörleri homomerler ve heteromerler oluşturabilirler (Burnstock, 2007a). P2Y reseptörlerinden; P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11 alt tipleri ligandları bağlandığında Gq proteini bağımlı ikincil habercileri harekete geçirerek, PLC/IP3 yolağını aktive ederler, endoplazmik retikulumdan Ca^{+2} salınımını sağlar ve bu artış K^{+} kanallarını aktive ederek hiperpolarizasyona neden olur (Burnstock ve Ralevic, 2014a). P2Y12, P2Y13, P2Y14 alt tipleri ise etkilerini Gi proteini üzerinden yapar. Gi

aktive olarak AC enzimini inhibe eder ve cAMP düzeylerini azaltarak etki göstermiş olur. Bu reseptörlerden sadece P2Y11 Gq proteininin yanı sıra Gi proteini aracılı da etkisini göstererek ve cAMP düzeylerini artırarak etki eder (Kügelgen ve Harden, 2011).



Şekil 2.10. P2Y reseptörlerinin moleküler yapısı ve etki mekanizması.

P2Y Reseptörlerinin Vücutta Dağılımı ve Fonksiyonu

P2Y1 reseptörü genel olarak kalp, damar, bağ doku, immün sistem ve sinir hücrelerinde, aynı zamanda trombositlerde P2Y12 ile birlikte ifade edilir. Trombositlerde ifade edilen P2Y1/12 reseptörleri hücre içi Ca^{+2} düzeylerinin artmasına neden olur. P2Y12 reseptörünün trombosit agregasyonunda rol oynadığı yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır. P2Y2 reseptörünün bronşlar, alveollar ve submukozal bez epitelinde yaygın olarak ifade edildiği aynı zamanda, kistik fibroz ve kanserde rolü olduğu gösterilmiştir. P2Y1 ve P2Y2 reseptörleri vasküler tonusun ayarlanmasında önemli role sahiptir (Buvinic ve ark., 2006). P2Y4 reseptörü vücutta çok az dokuda ifade edilmektedir hatta neredeyse sadece plasentada ifade edildiği bildirilmiştir. P2Y6 reseptörünün düz kasta aortada, T hücrelerinde, plasentada yaygın olarak bulunduğu gösterilmiştir (Alsaqati ve ark., 2014). P2Y6 reseptörünün, arteriollerde miyojenik tonusun düzenlenmesinde rolü vardır

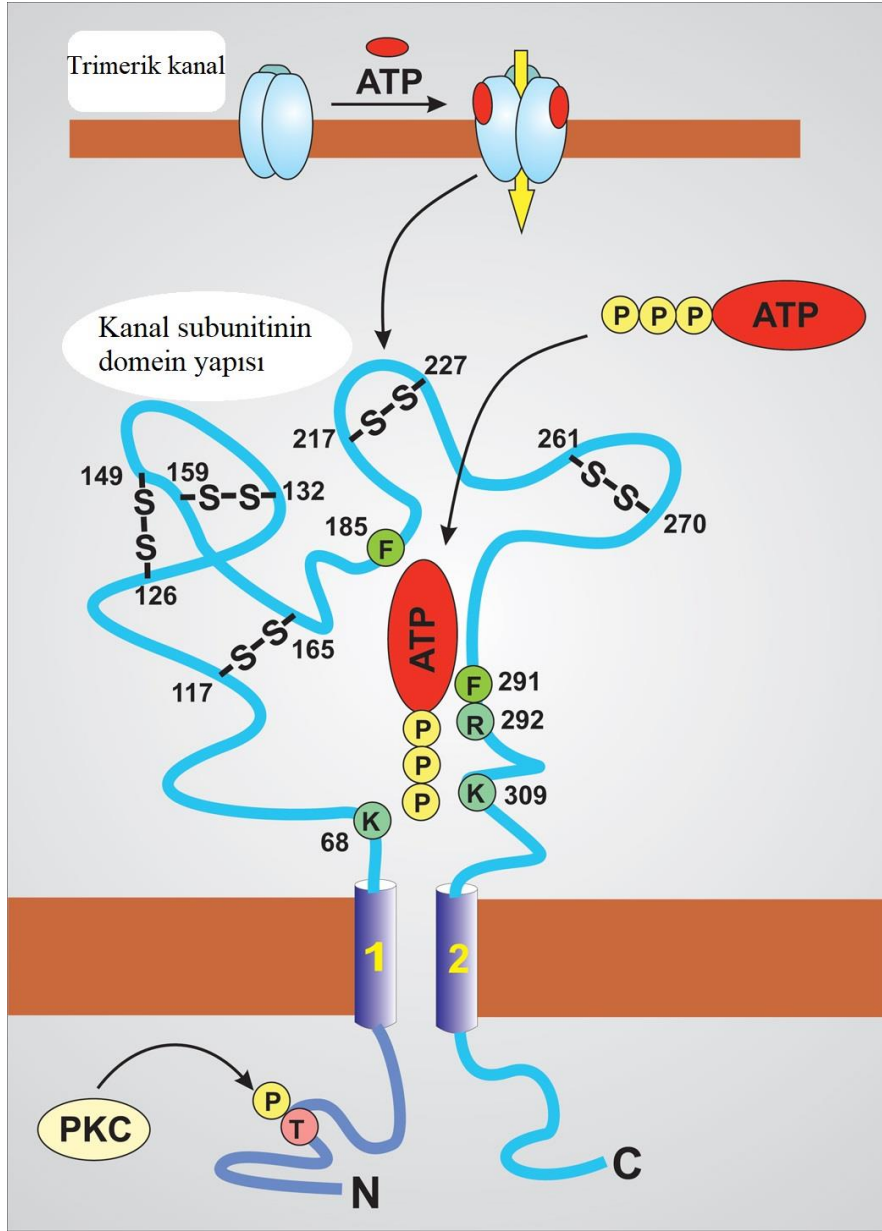
(Kauffenstein ve ark., 2016). P2Y11 reseptörü dalak, bağırsak ve granüositlerde ifade edilmektedir (Alsaqati ve ark., 2014). P2Y11 reseptörünün doğrudan veya dolaylı yolla cAMP üzerinden, endotel hücre çoğalması ve hücre göçünün azalmasında önemli rolü çalışmalarla ortaya konmuştur (Avanzato ve ark., 2016). P2Y13, dalak, beyin lenf nodları, kemik iliğinde, P2Y14 ise yağ doku, kalp, plasenta, düz kas, endotel hücresi, mide, bağırsak ve beynin çeşitli bölgelerinde bulunduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda P2Y14 reseptörünün damar tonusunun düzenlenmesinde vazokonstriksiyon yönünde rolü olduğu gösterilmiştir (Alsaqati ve ark., 2014).

P2X Reseptörlerinin Tipleri

P2 reseptörlerinin diğer tipi olan ve iyonotropik reseptörler olarak ta isimlendirilen P2X reseptörlerinin 7 alt tipi belirlenmiştir-Bunlar; P2X1, P2X2, P2X3, P2X4, P2X5, P2X6, P2X7 (Burnstock, 2007b).

P2X Reseptörlerinin Moleküler Yapısı

P2X reseptörleri, 2 kısımdan oluşan, membranda yerleşim gösteren protein yapılı, iyon kanalı görevi gören reseptörlerdir. (Hu ve Hoylaerts, 2010). Her bir alt tip, trimerik kompleks içerisinde birbirlerinin etrafına dolanan bir yapıya sahiptir (Li ve ark., 2010a). P2X reseptörlerinin alt tipleri 384 ila 595 amino asit uzunluğundadır. Bunlardan en kısa amino asit zinciri P2X4, en uzun zincir ise P2X7'yi oluşturmaktadır. Her bir alt tip TM'yi geçmeye yetecek uzunlukta iki hidrofobik bölgeye sahiptir. Alt tiplerin TM'leri %40 ila %55 oranda benzerlik göstermektedir (North, 2002b)



Şekil 2.11. P2X reseptörlerinin moleküler yapısı.

P2X Reseptörlerinin Etki Mekanizması

Agonist bağlanmaya cevap olarak, P2X reseptörleri, hücre zarı boyunca katyonların Na^+ , Ca^{2+} ve K^+ 'un difüzyonuna izin verecek bir şekil değişikliğine uğrarlar (Li ve ark., 2010b). P2X reseptörleri homomerik yapıda, bazen de heteromerler oluşturarak etkisini gösterirler. P2X1/P2X2, P2X3, P2X4, P2X6 ile; P2X2/P2X3 ile, P2X4/P2X6 ile, heteromer oluşturur (Gitterman ve Evans, 2000a; Lewis ve Evans, 2000a).

P2X Reseptörlerinin Vücutta Dağılımı

P2X1R, düz kas, trombosit, serebellum, spinal arka boynuz nöronları, immün sistemde, P2X2R, düz kas, MSS, retina, sperm, kromafin hücreler, otonom ve duyu ganglionlar, immün sistemde, P2X3R, duyu nöronları, tractus solitari çekirdeği, bazı sempatik nöronlarda, P2X4R, MSS, testis, kolon, düz kaslarda, immün sistemde, P2X5R, deri, bağırsak, mesane, timus, omurilikte çoğalan hücrelerde, P2X6R, MSS, omurilik, motor nöronlarda, P2X7R, immün sistemde, düz kaslarda, apoptotik hücreler, spermelerde, pankreas, osteoblastlarda bulunur (Burnstock, 2014c).

P2X Reseptörlerinin Vasküler Sistemde Dağılımı ve Fonksiyonu

P2X1, P2X4 ve P2X7'nin insan meme arterinin endotel hücrelerinde, radial arter ve safen vende bulunduğu gösterilmiştir. P2X4 reseptörleri, arterlere kıyasla safen vende daha fazla bulunmuştur (Ray ve ark., 2002). İnsan meme arterinde ve Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC)'te yapılan çalışmalarda, P2X1 reseptörü düz kasta, P2X4 reseptörü ise endotelde en fazla bulunan reseptörler olarak belirlenmiştir (Wang, Karlsson, Moses, Hultgårdh-Nilsson, ve ark., 2002). İmmüno testlere dayanarak, sıçan mezenterik arter, aort, orta serebral ve koroner arterlerin endotelinde P2X reseptörlerinin alt tiplerinin (P2X1, P2X2 ve P2X4) bulunduğu ortaya konmuştur (Nori ve ark., 1998; Hansen ve ark., 1999). Çalışmalarda, sıçan beynindeki endotel hücrelerde P2X2 reseptörlerinin bulunduğu gösterilmiştir (Loesch ve Burnstock, 2000a). P2X3 reseptörlerinin, sıçan timüsünün kan damarlarındaki endotel hücrelerinde olduğu gösterilmiştir (Glass ve ark., 2000a). P2X3, P2X4 ve P2X7 reseptörleri sıçan tiroidindeki endotel hücrelerinde gösterilmiştir ve P2X3'ün yüksek ifadesinin, tiroid aktivitelerindeki dinamik değişimleri ve endotel bariyerinde vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli rol aldığı ortaya atılmıştır (Glass ve Burnstock, 2001a). En kapsamlı kanıt, P2X4 reseptörleri için mevcuttur ve bunların, endotel hücrelerinden salgılanan ATP'ye verilen vazodilatasyon yanıtına aracılık ettiği belirlenmiştir. P2X4 reseptörü olmayan farelerde, azalmış dilatasyon ile akıştaki değişikliklerin normal endotel tepkilerine sahip olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca bu hayvanlarda hipertansiyon ve endotelial NO üretiminde azalma olduğu gösterilmiştir (Yamamoto ve ark., 2006). Yapılan çalışmalarda P2X4 ve P2X7 reseptörlerinin inflamatuvar koşullar altında, bu reseptörlerin protein ifade düzeylerinin

fazla olduğu bildirilmiştir (Wilson ve ark., 2007a). P2X7 reseptörlerinin aktivasyonu hem pro- hem de anti-inflamatuar reseptör ligandlarının serbest bırakılmasına neden olmuştur. Ayrıca P2X7'nin uyarılması, sığır pulmoner arter endotel hücrelerinde kaspaz-8 aktivasyonu ile lipopolisakarit (LPS) kaynaklı apoptoza neden olmaktadır (Sylte ve ark., 2005).

2.3.P2X1 Reseptörü ve Kardiyovasküler Sistemde Yapılan Damar Çalışmaları

P2X1reseptörü ilk defa Gine domuzlarında tespit edilmiştir. P2X1 reseptörünün agonisti ATP ve ATP analogu 2-metiltio-ATP ve ATP γ S'tir. Ancak bu reseptör, P2X1 reseptör agonisti olan $\alpha\beta$ -met ATP'ye daha duyarlıdır. P2X reseptörü, nonspesifik pürinerjik reseptör blokörü olan suramin tarafından bloke edilir. Ancak seçici antagonisti yine bir suramin analogu olan NF-449'dur. Yapılan çalışmalarda, P2X1 reseptörünün genellikle vazokonstriksiyon etkisini ortaya koymuştur (Inscho ve ark., 2004; Judkins ve ark., 2006; Inscho ve ark., 2011; Li ve ark., 2012; Guan ve ark., 2015). P2X1 reseptörünün vazokonstriksiyon etkisini vasküler düz kasta yerleşimi nedeni ile yaptığı söylenilmektedir. Bu fikrin tam tersi olarak, P2X1 reseptörlerinin sıçan mezenterik arterlerin endotelinde protein düzeylerinin ifade edildiği ve aktivasyonlarının büyük ölçüde EDHF yoluyla vazodilatasyona yol açtığı bildirilmiştir (Harrington ve Mitchell, 2004b). P2X1 reseptörü antagonisti kullanılarak yapılan deneylerde, endotelial P2X1 reseptörlerinin mezenterik arterlerin vazodilatasyonuna aracılık edebileceğini ve bunun çeşitli vasküler bölgelerde de fonksiyonel olarak ifade edilebileceği de öne sürmüştür (Harrington ve ark., 2007).

2.4.Diyabet ve Vasküler Pürinerjik Reseptörler

P2X7 reseptör agonisti ve antagonisti kullanılarak yapılan bir çalışmada STZ ile indüklenen diyabetik sıçan modelinde bu reseptörün böbrek vasküler aktivitesini etkilediği, kortikal kan akımında artış yaratırken glomerüler filtrasyon hızı üzerine azaltıcı etkinin bulunduğu gösterilmiştir (Kreft, Kowalski, Jankowski, Konkel, 2016). Bir başka yapılan çalışmada, hiperglisemi ile indüklenen diyabet modelinde, P2X7 reseptörünün böbreklerde makrofaj birikimini azaldığı gösterilmiştir (Menzies ve ark., 2017). T2DM olan sıçan GK (Goto-Kakizaki) sıçanlarda pürin reseptörlerinden P2X7 ve P2Y6 inhibitörleri kullanarak bu reseptörlerin sadece endotel aracılı gevşemeyi

iyileştirmediğini, aynı zamanda vazokonstriksiyonu da azaltarak kan akımında iyileşme gösterdiği bildirilmiştir (Mahdi ve ark., 2018). GK sıçanlarının mezenter arterleri ile yapılan diğer bir çalışmada araştırmacılar P2Y reseptörünün vasküler düz kaslarda vazokonstriksiyona neden olduğu ve bu etkisini siklooksijenaz/fosfolipaz A2 (COX/PLA₂) yolağı üzerinden gösterdiği belirtilmiştir (Ishida ve ark., 2011). STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda mezenter arteriollerde yapılan bir çalışmada ise P2Y1 reseptörünün eNOS üzerinden vazodilatasyon yaptığı gösterilmiştir (Ishida ve ark., 2013b). Başka bir çalışmada araştırmacılar, STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda erektil disfonksiyon üzerine P2Y1 ve P2Y2 reseptörlerinin vazodilatasyon oluşturarak olumlu etkilerde bulunduğu gösterilmiştir (Gur ve ark., 2009).

2.5.Amaç ve Hipotez

DM günümüzde oldukça yaygın ve önemli bir hastalık olup, hiperglisemi ile karakterize uzun süren bir hastalıktır. Endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz nedeniyle ilerleyici vasküler disfonksiyon gelişir ki bu durum uzun vadede gelişen diyabet komplikasyonlarının temelini oluşturmaktadır. Diyabette bozulan damar yanıtlarında pürinerjik sistemin katkısının bulunup bulunmadığına dair çalışmalar ise oldukça yetersiz olup, bu reseptörler arasında bulunan P2X1 reseptörünün rolü henüz bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı deneysel olarak oluşturulmuş diyabetik sıçan modelinde selektif bir P2X1 reseptör agonisti olan $\alpha\beta$ -met ATP'ye cevaben oluşan mezenterik damar yanıtlarının incelenmesi ve bu yanıtların gelişmesinde katkı sağlayabilecek olası yolların araştırılmasıdır. Bu amaçla, Wistar albino sıçanlarda STZ ile diyabet modeli oluşturularak P2X1 reseptörünün etkisinin direnç tipi (mezenterik arter 2.dal) damarlarda kasılma ve gevşeme yanıtlarına etkisi incelenmiştir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılan bu çalışmada 8 haftalık toplam 25 erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar, Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı ile Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Bakım ve Ünitesi tarafından temin edildi. Temin edilen sıçanlar, $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ olan ve 12 saat gün ışığı- 12 saat karanlık periyodu uygulanan bir odada tutulup, serbest olarak günlük ticari sıçan yemi tüketimine bırakıldılar. Deneye alınmadan önce hayvanların kan basınçları ölçüldü. Tüm sıçanlar feda edilene kadar iki günde bir su tüketimleri ve haftada bir ağırlık ölçümleri yapıldı. Çalışmaya alınan hayvanlar rasgele olarak Kontrol (K, n=10) ve Diyabet (K, n=15) olmak üzere iki gruba ayrıldı.

3.1. Kan Basıncının Ölçülmesi

Kan basıncı ölçümleri, sıçanların bilinci kapalı iken indirekt olarak kuyruk manşonu yöntemi “Tail-Cuff” ile yapıldı. Bu yöntemde kan basıncı kuyruğa yerleştirilmiş olan “cuff”ın şişirilmesi ve boşaltılması sırasında kan akımında değişkenliğin olduğu andaki cuff basıncı ölçülerek belirlendi. Kan akımındaki değişiklikler “chamber” volüm sensörü ile algılandı. Her denek için 5 dakika zaman ayrılarak ölçüm yapıldı ve 3 ila 4 deneme sonrası ölçümler değerlendirildi. Daha sonra programdan 3 ila 4 denemenin ortalamaları alındı (Parasuraman ve Raveendran, 2012).

3.2. Diyabet Oluşturulması

Kontrol ve DM hayvanların kan şekeri ölçümleri diyabet model oluşturulmadan önce ölçüldü. Deneysel diyabet modeli serum fizyolojik içerisinde taze olarak hazırlanmış STZ'nin çözeltisi 65 mg/kg olacak şekilde (tek doz) periton içi yolla sıçanlara enjekte edilerek oluşturuldu (Furman, 2015). STZ uygulamasından sonra denekler için, yem ve su alımı normal devam ettirildi. DM grubunda STZ indüksiyonu bir hafta sonra kan şekeri ölçümü yapıldı. Hayvanlarda diyabetin olduğu doğrulandı. Bu uygulamadan 12 hafta sonra tüm hayvanlar deneye alındı. Bu süre boyunca günlük yem-su tüketimi ve vücut ağırlığı takibi yapıldı.

3.3. Kan Glikozunun Ölçülmesi

Hayvanların bazal ve deney sonundaki kan glikoz değerleri glikometre ile ölçüldü. DM grubu deney hayvanımızın kuyruğundan alınan bir damla taze kan, ölçüm cihazının stripine emdirildi. 15 veya 20 saniye sonra kan şekeri düzeyi cihazın ekranından okundu. STZ uygulamasından 1 hafta sonra hayvanların kan şekeri düzeyleri ölçülerek 350 mg/dL ve üzerinde olan sıçanların diyabetli olduğu kabul edildi.

3.4. Deneyin Sonlandırılması ve Deney Protokolünün Uygulanması

3.4.1. Damar İzolasyonu

12 haftalık deney süresinin sonunda gereken nünuneleri toplayabilmek için (uluslararası Helsinki Deklerasyon kurallarına uygun biçimde) ötenazi yapıldı. Hayvanı feda şeklimizde servikal dislakasyonu seçme nedenimiz, çalışmamızı mezenterik direnç damarları üzerinde gerçekleştirdiğimiz için deney sonuçlarını etkileyecek faktörlerden uzak tutmaktır. Servikal dislakasyon (mekanik yolla başın gövdeden ayrılması) yolu ile denek feda edildi ve ardından abdomenleri hızlı bir şekilde açıldıktan sonra abdominal aortaları kesilerek kansızlaştırma yoluyla feda edildi. Mezenter yatak içeriğinin dışarı çıkmaması için düğümlenip çıkarıldı. Doku çıkarılarak, buz üzerinde bekletilen içerisinde Krebs solüsyonu (110mM NaCl, 5mM KCl, 24mM NaHCO₃, 1mM KH₂PO₄, 1mM MgSO₄.7H₂O, 2,5mM CaCl₂, 10mM glikoz, 0,02mM EDTA; PH=7.4) bulunan beherlere alındı. Dokunun canlılığının koruma amaçlı koyduğumuz soğuk Krebs ile yıkandıktan sonra diseksiyon aşamasına geçildi. İzole edilen mezenter yatak, soğuk Krebs eşliğinde küçük petrilere sabitlendi ve sonraki aşama olan mikrodiseksiyona geçildi. Ve bu aşamada Diseksiyon Mikroskobu yardımıyla (OLYMPUS – SZ61) periferik direnç damarları yağ dokudan izole edildi, sonrasında arter ve ven birbirinde ayrılarak, sadece ven petriden kenarlaştırıldı. Çalışacağımız 2.dal mezenter damar mikroskop altında 2 mm'e kadar uzunlukta kesilerek telli miyografa sonraki aşamaya hazır şekilde alındı.

3.4.2. İzole Damarların Asılması ve Vitalizasyon Aşamaları

İzole ettiğimiz mezenter arterin 2.dalını normal vücut koşulları olan sıcaklığı 37°C PH=7.4 şartlarda miyografa (Model 620M, Danish Myo Technology, Aarhus N,

Danimarka) alındı. 25 mikrometre çapındaki tungsten telin bir ucu düzeneğe vidalandıktan sonra, telin diğer ucundan iki ince uçlu forseps yardımıyla mezenter arterler geçirildi. Bu esnada, damarın endotel tabakası zarar görmemesine dikkat edildi. Daha sonra telin serbest kalan ucu da diğer kısma vidalandı, ardından ikinci tel birinci tele paralel bir şekilde yine damarın tabakalarına hasar vermeyecek şekilde damarın içinden geçirildi ve ikinci tel düzeneğin transduser tarafına vidalandı. Telli miyografa damarlar yerleştirildikten sonra her bir banyodaki 5 ml Krebs solüsyonu, %95 O₂- %5 CO₂ içeren gaz karışımı ile gazlandırılıp sıcaklığı 37°C ve PH=7.4'te tutulmaya devam edildi.

Telli miyografa yerleştirdiğimiz damarların istirahat gerimi olan bazal duvar gerimini ölçmeden, damarlar 15 dakikalık dinlenme periyoduna bırakıldı. Bu periyodun ardından, mikroskop yardımıyla mikrometrik ölçüm skalası kullanılarak dört banyodaki her bir damarın boyu ölçüldü ve iki tel arasında belirli dış damar çapı değerleri de hesaba katılarak damar duvarının oluşturduğu gerim saptanıp bilgisayar yazılımı yardımı ile (LabChart Pro V7, Adinstruments, Bella Vista, Avusturalya) çap-gerim grafiği çizdirildi. Bazal damar gerimini belirlemek için, in vivo şartlarda 90 mmHg kan basıncı değerinde oluşan gerim yazılım programı vasıtasıyla otomatik olarak hesaplandı. Direnç damarları bulduğumuz değerlere getirilerek bazal gerim değerleri aynı kalacak şekilde her 15 dakikada bir yıkanarak toplam 60 dakika boyunca dinlendirildi.

Bir saatlik dinlenme periyodunun ardından damarlara vitalizasyon (ön uyarılma) aşaması uygulandı. Bu işlem için su banyosunda 37 C° de ısıtılmış 20mM Potasyum Klorür (KCl) içeren Krebs solüsyonunu uyguladıktan sonra 10⁻⁷M konsantrasyonunda Phe [(R)-(-)-Phenylephrine hydrochloride, Sigma P6126, St. Louis, USA] ilavesi yapıldı. Telli Miyograf sistemine 5ml 20mM KCl içeren Krebs eklenip, aynı şekilde 10⁻⁷M konsantrasyonda olacak şekilde Phe ilavesi yapıldı. Bu işlem 3 kere aralıksız tekrar edildi. Vitalizasyon işlemi sonlandıktan sonra damarlar Krebs solüsyonu ile yıkanıp, 15 dakikada bir solüsyonun yenilenmesi şartıyla 30 dakikalık ikinci dinlenme periyoduna geçildi.

Dinlenme periyodu bittikten sonra damar lümeninin iç kısmı olan endotel tabakasının sağlıklı olup olmadığını kontrol etmek için ise; banyolara 10⁻⁶ M konsantrasyonunda Phe ilave edildikten sonra yine 10⁻⁶M konsantrasyonunda ACh (Acetylcholine chloride, Sigma A6625, St. Louis, USA) ilavesi yapılarak, gevşeme cevabının yüzde olarak değeri

hesaplandı ve %60 ve üzeri gevşeme cevabı veren damarlar endoteli sağlam olarak kabul edilip, %60'ın altındakiler deney protokolünden çıkarıldı. Endotel sağlamlığı kontrol edildikten ve deney protokolüne dahil edilecek damarlar onaylandıktan sonra damarların kasılma ve gevşeme yanıtları aşağıdaki protokollerle incelendi.

3.4.3. Deney Protokolü

Aşama I: Bu aşamada selektif P2X1 reseptör agonisti kullanılarak deney gruplarından elde edilen direnç damarı yanıtlarına etkisi incelendi.

✚ ATP'ye damar yanıtı:

Damar banyosunda ARL ($10^{-5}M$) (ektonükleotidaz inhibitörü)'nin varlığında submaksimal dozda Phe ($1 \mu M$) ile kasılmayı takiben kümülatif ATP (10^{-4} - $10^{-6}M$) dozlarına verilen damar cevapları incelendi.

✚ P2X1 reseptörü spesifik agonist yanıtı:

Submaksimal dozda Phe ($1 \mu M$) ile kasılmayı takiben $\alpha\beta$ -met ATP'nin artan dozlarına (10^{-4} - $10^{-6}M$) verilen damar cevapları incelendi.

✚ P2X1 reseptörü spesifik antagonisti varlığında $\alpha\beta$ -met ATP'ye damar yanıtı:

Damar banyosunda spesifik P2X1 reseptörü spesifik antagonisti varlığında $\alpha\beta$ -met ATP (10^{-4} - $10^{-6}M$)'ye cevaben oluşan yanıtlar kaydedildi. Damar segmenti yanıtların alınmasından önce reseptör antagonisti ($50\mu M$) doz ile 20dk inkübe edildi.

Aşama-II: Bu aşamada amaç, ilk aşamanın sonucunda elde edilebilecek gevşeme yanıtlarına hangi mekanizma veya mekanizmaların aracılık ettiğinin incelenmesidir. Bu aşamada spesifik P2X1 reseptörüne cevaben oluşan damar yanıtları damar banyosunda;

✚ Endotelyal NO sentaz (eNOS) nonspesifik inhibitörü (L-NAME; $10^{-4}M$),

✚ Siklooksijenaz inhibitörü (indometazin; $10^{-5}M$)

✚ Potasyum kanal inhibitörü tetraetilamonyum (TEA; $10^{-6}M$) veya Apamin (AP; $10^{-6}M$) varlığında incelendi.

Damar segmenti yanıtların alınmasından önce 30dk inkübasyon sağlandı.

3.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Tüm sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verildi. Art arda yapılan ölçümlerle elde edilen farklı ajan dozlarındaki kasılma/gevşeme cevaplarının değerlendirilmesinde tekrarlayan ölçümlerin varyans analizi (repeated measures ANOVA) ve post-hoc test olarak Tukey testi kullanıldı. İkili grupların kıyaslanması ise Student-t testi ile gerçekleştirildi. $P < 0.05$ ve altı değerler istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

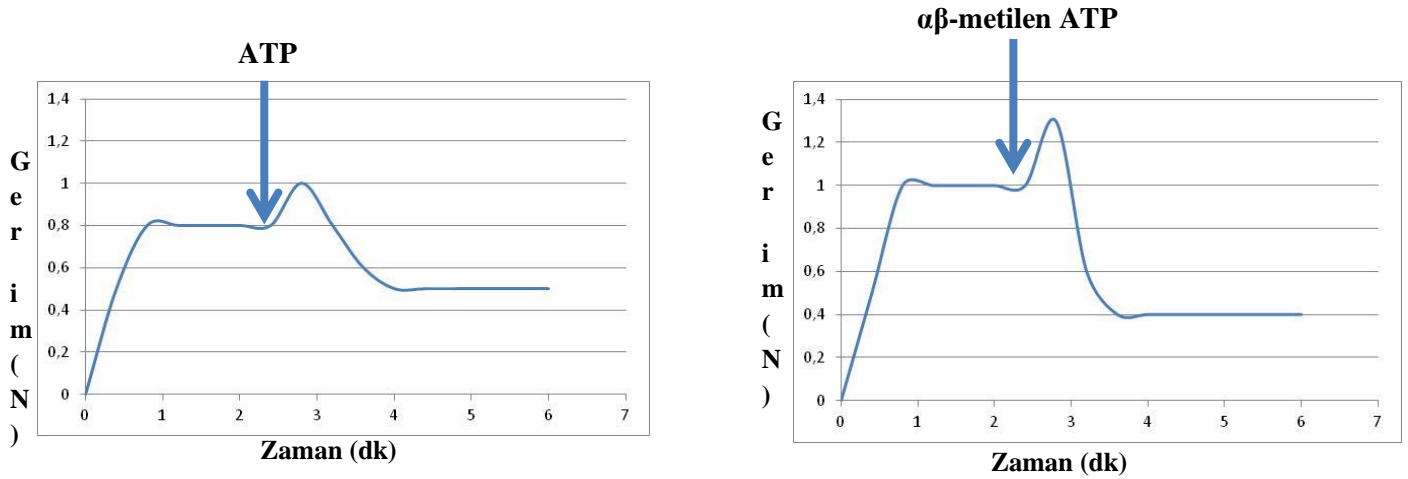
Tablo 4. 1 K ve DM hayvanların kan glikozu, vücut ağırlıkları, yem, su tüketimleri ve sistolik kan basıncı değerleri.

	K		DM	
	Deney öncesi	Deney sonu	Deney öncesi	Deney sonu
Kan glikozu (mg/dl)	133,1±5,1	163,5±14,30	129,8±4,6	483,1±31,0***###
Ağırlık (g)	221,9±2,5	414,9±12,0	242,8±8,4	202,5±11,6***##
Yem tüketimi (g/gün)	30,34±2,8	33,94±4,5	32,34±5,0	81,38±2,5***###
Su tüketimi (ml/gün)	51,02±3,4	48,52±5,9	52,45±4,9	128,8±6,7***###
Sistolik Kan basıncı (mm Hg)	136,6±4,3	142,8±3,7	145,9±3,5	144,8±4,5

Tüm değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

***p<0.001 K grubu ölçümlerinden fark, ##p<0.01, ###p<0.001 Diyabet öncesi ölçümlerden farkı göstermektedir.

4.1.ATP ve $\alpha\beta$ -met ATP'ye cevaben oluşan bifazik damar yanıtları



Şekil 4.1. A Mezenterik arterlerin 10^{-4} M ATP'ye verdiği vazodilatör yanıt traseleri

Şekil 4.1. B Mezenterik arterlerin 10^{-4} M $\alpha\beta$ -met ATP'ye verdiği vazodilatör yanıt traseleri

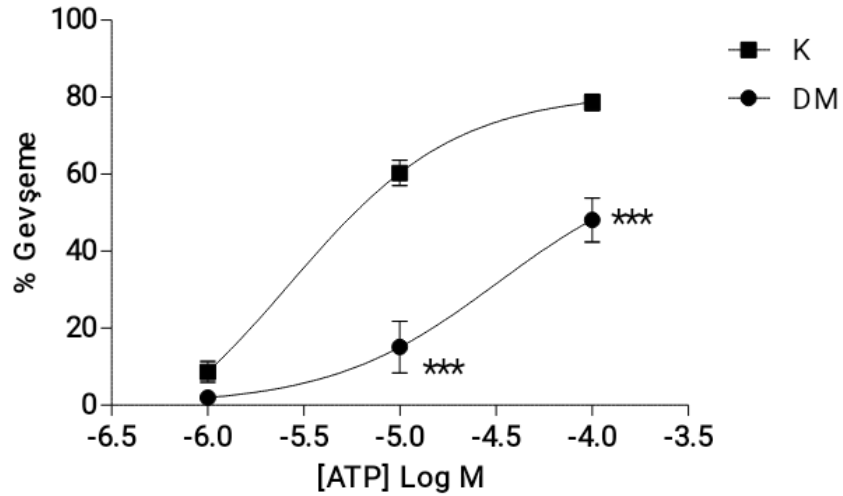
ATP ve $\alpha\beta$ -met ATP mezenterik arteriyollerde önce geçici bir kasılma ardından etkin ve kalıcı bir gevşeme yanıtına neden olmuştur ATP ve $\alpha\beta$ -met ATP'ye verilen bu bifazik yanıt traselerine birer örnek sırasıyla Şekil 1A ve 1B'de sunulmuştur.

4.2.ATP'ye damar yanıtları

Damar banyosunda ARL (500 U/ml) varlığında, submaksimal dozda Phe (1 μ M) ile kasılmayı takiben artan ATP dozlarına (10^{-4} - 10^{-6} M) verilen damar yanıtları Şekil 2A'da izlenmektedir. ATP'nin artan dozlarına cevaben kontrol grubunda diyabet grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az vazodilatasyon yanıtı gelişmiştir ($p<0.001$).

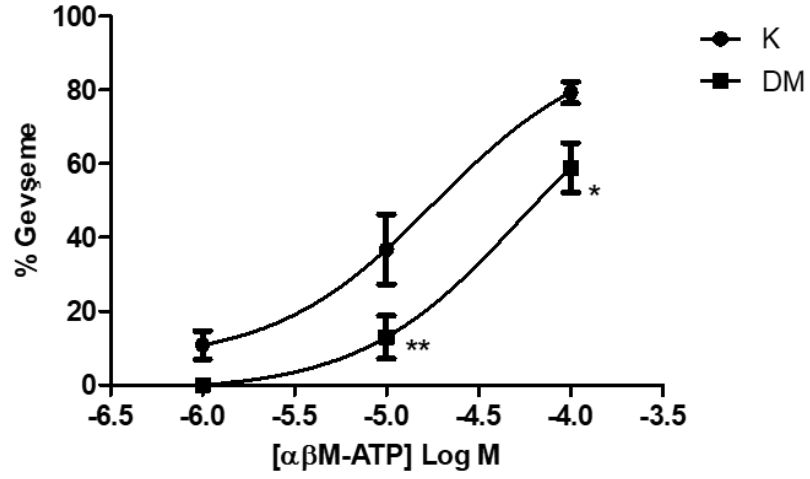
4.3. Selektif P2X1 reseptör agonisti olan $\alpha\beta$ -metilen ATP'ye gevşeme yanıtları: açısından diyabet grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha az dilatasyon yanıtı izlenmiştir. (Şekil 2B).

A



Şekil 4.2. A K ve DM gruplarında mezenter 2.dal damarların ATP doz yanıt eğrisi. *** $p<0,001$ K (Kontrol)'dan fark.

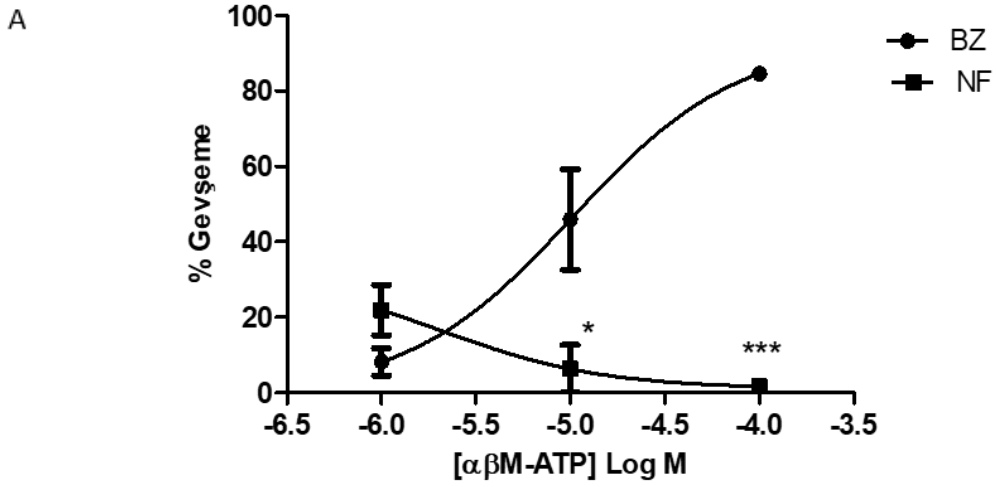
B



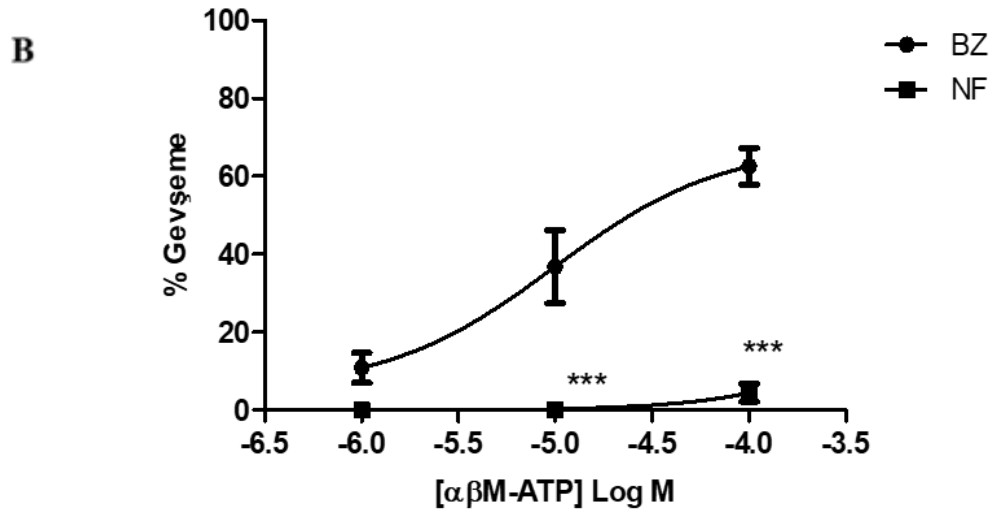
Şekil 4.2. B K ve DM gruplarında mezenter 2.dal damarların $\alpha\beta$ -met ATP doz yanıt eğrisi. * $p<0,05$; ** $p<0,01$ K (Kontrol)'dan fark.

4.4. Selektif P2X1 reseptör agonistine alınan damar yanıtları:

Spesifik P2X1 reseptör antagonisti varlığında ve yokluğunda P2X1 reseptör agonistine alınan damar yanıtları şekil 3'te izlenmektedir. Submaksimal dozda Phe ($1 \mu\text{M}$) ile kasılmayı takiben selektif P2X1 reseptör agonisti olan $\alpha\beta$ -met ATP'nin artan dozlarına (10^{-4} - 10^{-6}M) her iki grupta gevşeme yanıtı alınmış, banyoda selektif P2X1 reseptör antagonisti (NF-449 10^{-4}M) varlığında ise hem kontrol hem diyabet grubunda gevşeme yanıtları önemli düzeyde baskılanmıştır ($p<0.05$, $p<0.001$).



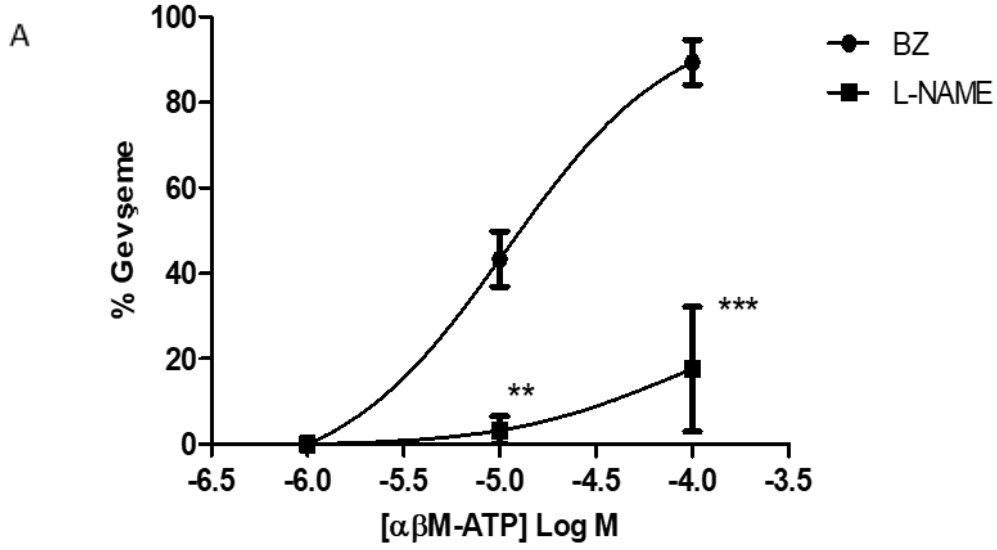
Şekil 4.3 A Kontrol grubunda mezenter 2.dal damarların damar banyosunda NF varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ metilen ATP'ye verdikleri doz yanıt eğrisi. * $p<0,05$; *** $p<0,001$ BZ (bazal)'den fark.



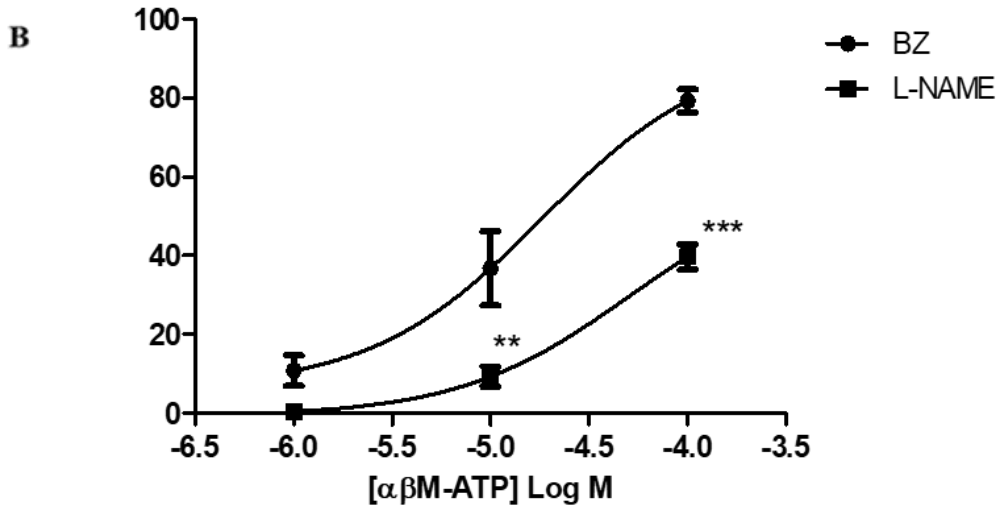
Şekil 4.3 B DM grubunda mezenter 2.dal damarların damar banyosunda P2X1 reseptör antagonisti NF varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi. *** $p<0,001$ BZ (bazal)'den fark.

4.5. Selektif P2X1 reseptör agonistine alınan damar yanıtlarına eNOS'un katkısı:

Damar banyosunda eNOS nonselektif inhibitörü (L-NAME:10⁻⁴M) varlığında ve yokluğunda, submaksimal dozda Phe (1 µM) ile kasılmayı takiben αβ-met ATP'nin artan dozlarına (10⁻⁴- 10⁻⁶ M) alınan damar yanıtları şekil 4'te gösterilmiştir. Damar banyosunda L-NAME varlığı, αβ-met ATP'ye gevşeme yanıtını hem kontrol hem diyabet grubunda önemli ölçüde baskılamıştır (p<0.01, p<0.001)



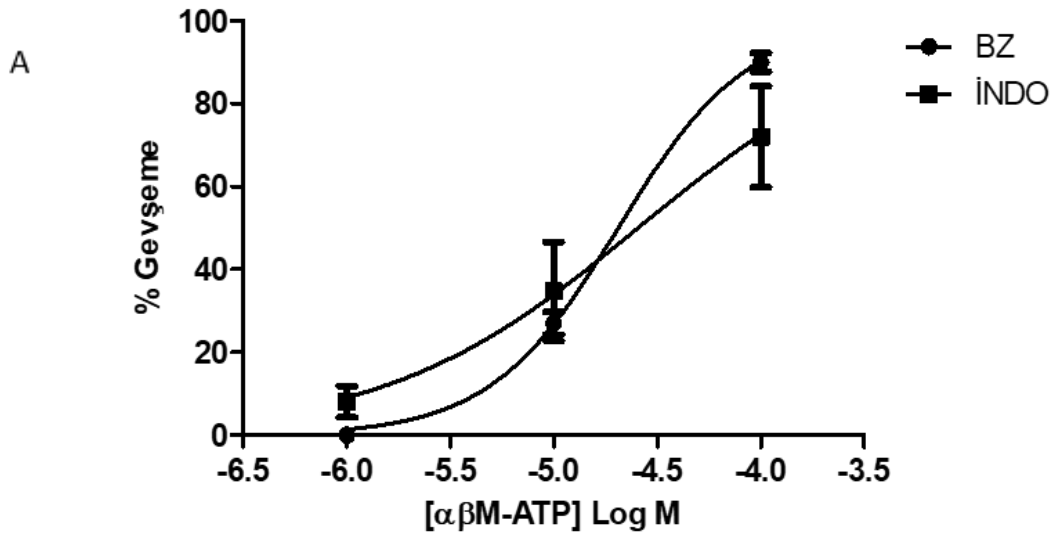
Şekil 4.4 A Kontrol grubunda damar banyosunda L-NAME varlığında ve yokluğunda αβ-met ATP'ye verilen doz yanıt eğrisi. **p<0.01; ***p<0,001 BZ (bazal)'den fark.



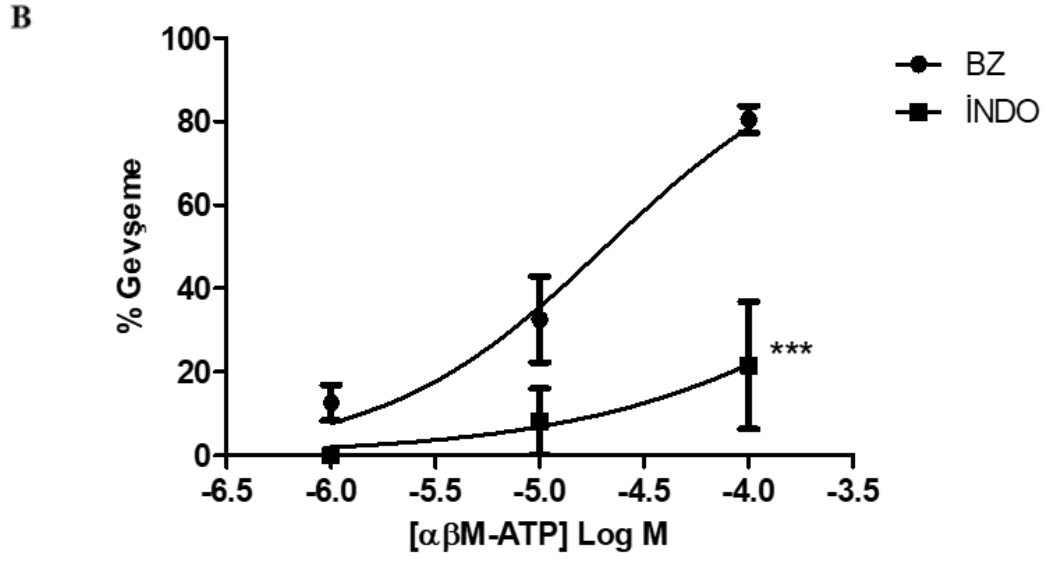
Şekil 4.4 B DM grubunda L-NAME varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ metilen ATP doz yanıt eğrisi. ** $p<0.01$; *** $p<0,001$ BZ (bazal)'den fark.

4.6. Spesifik P2X1 reseptör agonistine alınan damar yanıtlarına PGI₂'nin katkısı

Damar banyosunda siklooksijenaz inhibitörü (indometazin; 10^{-5} M) varlığında ve yokluğunda, submaksimal dozda Phe ($1 \mu\text{M}$) ile kasılmayı takiben $\alpha\beta$ -met ATP'nin artan dozlarına (10^{-4} - 10^{-6} M) alınan damar yanıtları şekil 4'de gösterilmiştir. İndo diyabet grubunda $\alpha\beta$ -met ATP'ye gevşeme yanıtını istatistiksel olarak önemli derecede baskılamıştır. Buna karşılık kontrol grubunda $\alpha\beta$ -met ATP'ye alınan gevşeme yanıtlarına anlamlı olarak etki etmemiştir.

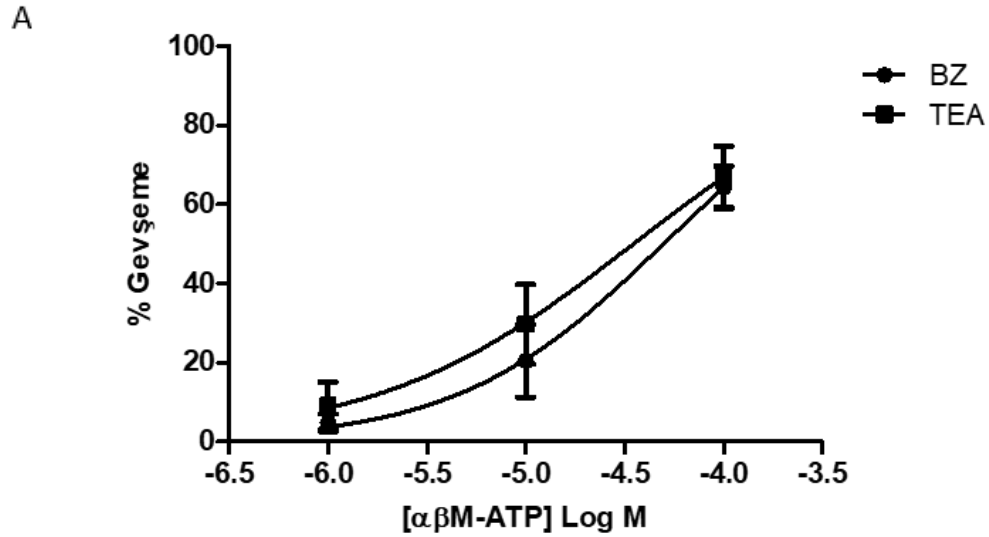


Şekil 4.5 A Kontrol grubunda indometazin varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ -met ATP doz yanıt eğrisi



Şekil 4.5 B DM grubunda indometazin varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ -met ATP doz yanıt eğrisi. *** $p < 0,001$ BZ (bazal)'den fark.

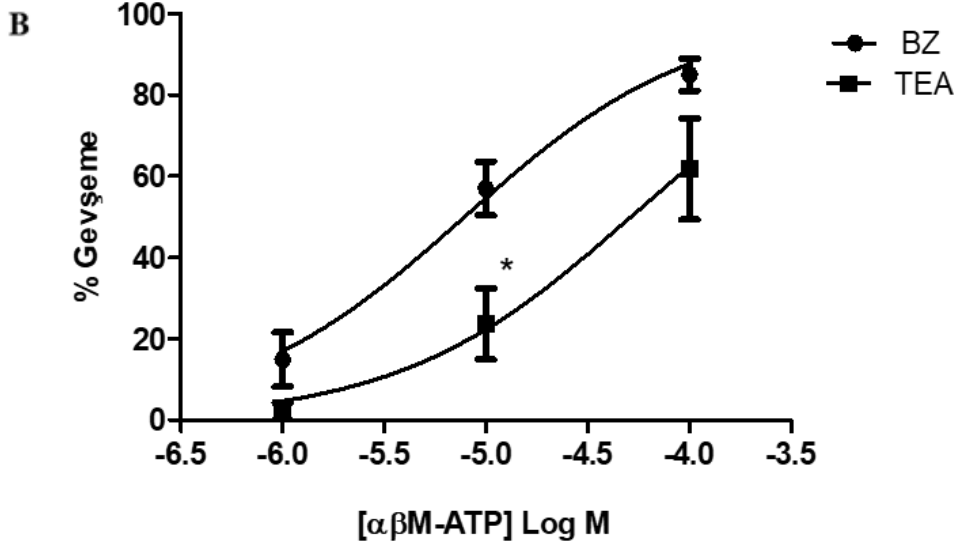
4.7. Spesifik P2X1 reseptör agonistine alınan damar yanıtlarına EDHF'nin katkısı



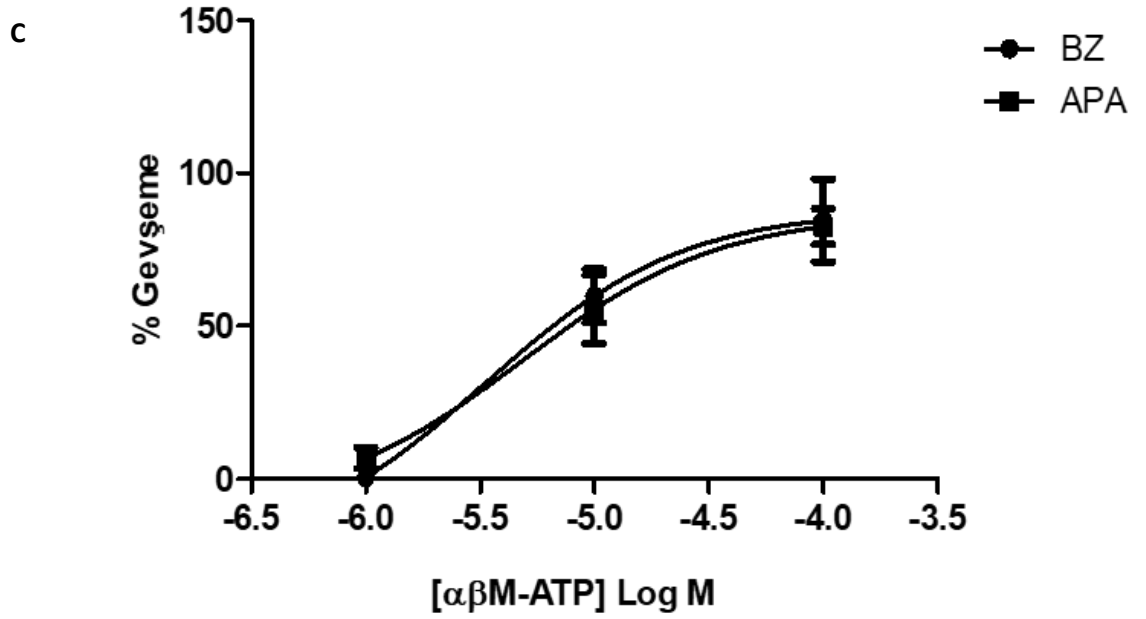
Şekil 4.6. A Kontrol grubunda TEA varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ -met ATP doz yanıt eğrisi

Spesifik P2X1 reseptör agonistine alınan damar yanıtlarına K^+ kanallarının katkısının incelenmesi amacıyla damar banyosunda TEA veya Apamin (APA) varlığında ve yokluğunda alınan damar yanıtları şekil 6'da gösterilmiştir. Damar banyosunda TEA veya

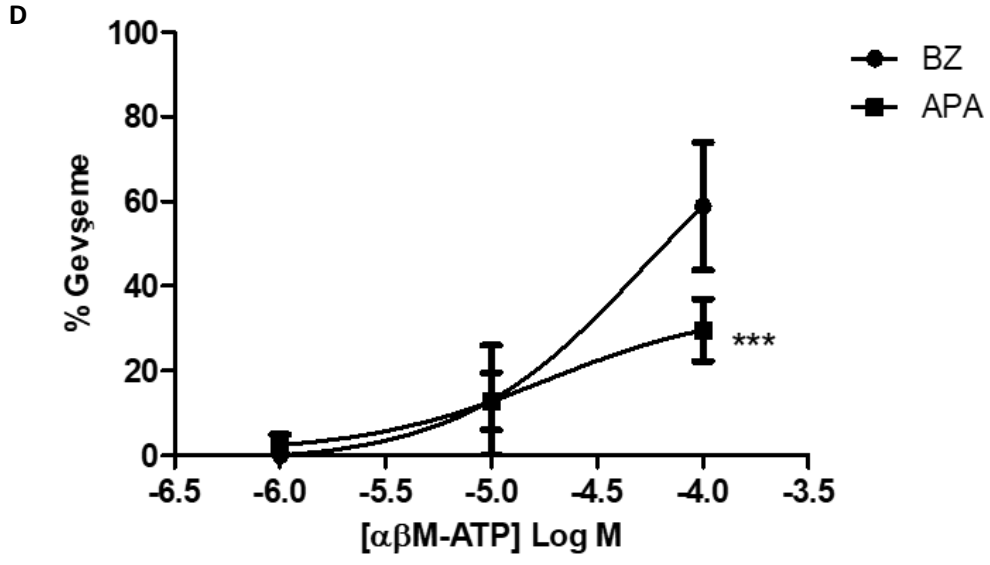
APA varlığı kontrol grubunda $\alpha\beta$ -met ATP'ye alınan damar yanıtlarını etkilemezken, diyabet grubunda istatistiksel olarak önemli düzeyde baskılanmaya neden olmuştur (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.001$).



Şekil 4.6. B DM grubunda TEA varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ -met ATP doz yanıt eğrisi. * $p<0.05$ bazal (BZ) koşullardan fark



Şekil 4.6. C K grubunda Apamin varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ -met ATP doz yanıt eğrisi



Şekil 4.6. D DM grubunda Apamin varlığında ve yokluğunda $\alpha\beta$ -met ATP doz yanıt eğrisi. ***p<0.001 bazal (BZ) koşullardan fark.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada damar sisteminde yaygın olarak bulunan ve vasküler tonusun düzenlenmesine katkı sağlayan P2X1 reseptörlerinin deneysel diyabet modelinde direnç damarlarının gevşeme yanıtlarına etkisi ve etki mekanizması incelenmiştir. Bunun için öncelikle ATP ve güçlü selektif bir P2X1 reseptör agonisti olan $\alpha\beta$ -met ATP'ye damar yanıtları incelenmiş ve diyabet grubunda bu yanıtların bozulduğu saptanmıştır. ATP ve $\alpha\beta$ -metATP damarlarda geçici bir kasılmanın ardından gevşeme yanıtına neden olmuştur, bu gevşeme yanıtları spesifik P2X1 reseptör antagonisti varlığında tamamen ortadan kalkmıştır. ATP, gevşetici etkisini NO yolağı üzerinden gösterirken, $\alpha\beta$ -met ATP'nin gevşetici etkisini büyük oranda NO, kısmen de PGI₂ ve EDHF yolaklarını kullanarak gerçekleştirdiği ortaya konmuştur.

Çalışmamızda diyabet modelinin oluşturulmasında STZ kullanılmış ve STZ uygulanan hayvanların kan glikoz düzeyleri bu hayvanlarda T2DM'nin oluştuğunu kanıtlar nitelikte ortalama 483 mg/dl olarak bulunmuştur. Kan glikozu için saptadığımız bu düzeyler STZ aracılı diyabet modeli gelişimi açısından literatürle uyumludur. Ayrıca STZ uygulamasından sonra 12 hafta boyunca her iki grupta yem ve su takibi yapılmıştır. DM grubu ile K grubu kıyaslandığında DM sıçanlarının yem ve su tüketimlerinin önemli düzeyde arttığı, buna karşın kilo kaybına uğradıkları saptanmıştır. Bu bulgular literatür bilgileri ile uyumlu olup, diyabet modelinin başarıyla gerçekleştirildiğinin birer göstergesidir (Vareniuk ve ark., 2008).

Öte yandan, STZ enjeksiyonu öncesinde ve 12 haftanın sonunda kuyruk arterinden alınan sistolik arteriyel kan basıncı (SAKB) değerleri incelendiğinde deney gruplarında 12 haftalık süreç içerisinde SAKB'de önemli bir değişiklik saptanmamıştır. Bazı araştırmalar STZ ile oluşturulan diyabet modelinde hipertansiyon geliştiğini savunsa da (Zheng ve ark., 2007) bizim bulgularımızla uyumlu olarak kan basıncında değişiklik saptanmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Sartoretto ve ark., 2007). Bu farklı sonuçlar, kullanılan deney hayvanının türü, cinsiyeti, uygulanan STZ dozu ve/veya diyabet süresinden kaynaklanıyor olabilir. Biz çalışmamızda literatürde yaygın olarak kullanılan ve düşük doz olarak nitelendirilen STZ kullandık (65 mg/kg) ve diyabet süresini 12 hafta olarak

belirledik. Nitekim bizim çalışmamızdakine benzer şekilde, STZ dozunun 60 mg/kg olarak ve diyabet süresinin 14 hafta olarak belirlendiği bir çalışmada, STZ hayvanlarında kan basıncında yükselme olmadığı saptanmıştır (Sartoretto ve ark., 2007).

ATP bir nörotransmitter olmasının yanı sıra önemli bir ekstrasellüler sinyal molekülüdür ve pürinerjik sinyalizasyonla vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli rol oynar. Sempatik peri-vasküler sinirlerden noradrenalinle birlikte ko-transmitter olarak salınan ATP vazokonstriksiyona neden olurken, endotel hücrelerinden shear stres veya hipoksiye cevaben salınan ATP daha çok gevşeme yanıtına neden olmaktadır. ATP'nin bu farklı etkileri, bağlandığı reseptör tipi ve reseptörü taşıyan hücrenin türüne göre değişmektedir (Burnstock, 1993).

ATP'nin bu etkilerine vasküler düz kas ve endotelde yerleşmiş olan pürinerjik reseptörler aracılık eder. ATP'nin vazodilatör etkisi endotelde yerleşmiş olan P2X ve P2Y reseptörleri aracılığıyla ortaya çıkar. ATP'nin endotelde bulunan pürinerjik reseptörlere bağlanması genel olarak NO, PGI₂ veya EDHF aracılı vazodilatasyona neden olurken, düz kasta bulunan reseptörlerine bağlanması vazokonstriksiyona neden olur. İn vitro koşullarda yapılan deneylerde yaygın kanı, ATP'nin geçici bir vazokonstriksiyonun ardından kalıcı ve belirgin vazodilatatör etkisinin bulunduğu şeklindedir (Burnstock, 2017).

Bizim çalışmamızda da K ve DM grubu hayvanlardan elde edilen damarlarda ATP geçici ve hafif bir kasılma yanıtını izleyen kalıcı bir gevşeme yanıtına neden olmuştur. Bununla birlikte, çalışmamızın asıl amacı olan diyabette P2X1 reseptör aracılı damar yanıtları incelendiğinde, ATP yanıtlarına benzer şekilde önce hafif bir kasılma ve ardından kalıcı bir gevşeme yanıtı gözlenmiştir. Öte yandan, vasküler dokuda yerleşmiş olan P2X1 reseptörleri ile ilgili yapılan ilk çalışmalar bu reseptörlerin başlıca vasküler düz kasta yerleşmiş olup, aktifleşmeleri ile birlikte vazokonstriksiyon yanıtı oluşturduğu şeklindedir (Guan ve ark., 2015). Oysa ilk olarak Harrington ve Mitchell tarafından 2004'te yapılan bir çalışmada P2X1 reseptörlerinin mezenter damar endotelinde de bulunduğu ve uyarıldıklarında önce geçici bir vazokonstriksiyon, ardından kalıcı vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiştir (Harrington ve Mitchell, 2004a) Bu ve devamında yapılan araştırmalar bizim bulgularımızla örtüşmektedir (Harrington ve ark., 2007). Bizim

çalışmamız aynı zamanda P2X1 reseptörlerinin oluşturduğu bifazik yanıtı diyabetik hayvanlarda ilk kez ortaya koymuştur.

Çalışmamızın sonuçlarına göre hem ATP hem de $\alpha\beta$ -met ATP doza bağlı gevşeme yanıtları oluşturmakla birlikte bu yanıtlar K grubuna kıyasla DM grubunda daha düşük bulunmuştur. Ek olarak, hem ATP hem de $\alpha\beta$ -met ATP'ye cevaben oluşan gevşeme yanıtları P2X1 reseptör antagonisti varlığında tamamen ortadan kalkmıştır. Bu bulgu, hem ATP (Mayhan, 1994), hem de $\alpha\beta$ -met ATP'ye alınan gevşeme yanıtlarının ağırlıklı olarak P2X1 reseptör aracılı olduğunu doğrulamaktadır.

Çalışmamızda diyabette ATP ve $\alpha\beta$ -met ATP'ye verilen gevşeme yanıtlarının kontrol grubuna kıyasla daha düşük olması diyabette yaygın olarak gelişen endotel disfonksiyonundan kaynaklanmış olabilir (Oever ve ark., 2010). Nitekim endotel hücrelerinde P2X reseptörlerinin uyarımı hücrelerden NO, PGI₂, EDHF gibi endotel kaynaklı gevşetici faktörlerin salınmasına neden olur (Yamamoto ve ark., 2006; Ralevic, 2015a). Diyabette endotel disfonksiyonu erken dönemde gelişmeye başlayan ve sık rastlanan bir vasküler komplikasyondur. Endotel disfonksiyonunun gelişiminde başlıca hiperglisemi, insülin direnci, oksidan stres ve inflamasyon aracılı eNOS aktivitesinin ve NO biyo-yararlanımının azalması suçlanmaktadır (Jansson, 2007; Oever ve ark., 2010; Polovina ve Potpara, 2014).

Biz bu çalışmada P2X1 reseptör aracılı ortaya çıkan damar yanıtlarının hangi yolak ve/veya yolaklar üzerinden gerçekleştiğinin ortaya konması amacıyla endotel kaynaklı üç gevşetici faktörün her birinin inhibitörünü kullanarak damar yanıtlarını inceledik. Bu deneylerin sonucunda K grubunda L-NAME varlığında $\alpha\beta$ -met ATP'ye alınan gevşeme yanıtlarının büyük oranda kısmen ortadan kalktığı, diğer endotel kaynaklı gevşetici faktörler olan PGI₂ ve EDHF inhibitörlerinin ise herhangi bir değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır. Bu sonuçlarla çelişkili olarak mezenter damar yatağında yapılan bir başka çalışmada P2X1 aracılı vazodilatasyonun başlıca endotelden salgılanan EDHF'ye bağlı olduğu belirtilmiştir (Harrington ve Mitchell, 2004a). Ancak bu çalışmada genç erişkin sıçanların kullanılmış olmasına karşılık bizim çalışmamızda diyabet süresi nedeniyle daha yaşlı sıçanların kullanılması bu farklı sonuçların nedenlerinde biri olabilir. Dahası vasküler dokuda yaşla beraber P2X1 reseptörlerinin ekspresyonunun azaldığı da

gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2006). DM grubunda ise $\alpha\beta$ -metilen ATP'nin oluşturduğu vazodilatasyon yanıtı sadece L-NAME ile değil, İndo, TEA ve Apamin varlığında da inhibe olmuştur. Bu sonuçlar NO, PGI₂ ve EDHF (TEA, apamin) yolaklarının hepsinin de P2X1 reseptör aracılı dilatasyon yanıtına katkıda bulunduğunu göstermektedir.

Diyabetik hayvanlarda benzer bir çalışma yapılmadığından bulgularımızı karşılaştıramamakla birlikte bazı patolojik durumlarda özellikle vasküler pürinerjik sistemde birtakım değişiklikler oluşabileceği bildirilmiş, hatta bu değişikliklerin söz konusu hastalığın patogenezinde de rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Kreft, Kowalski, Jankowski, Konkel, 2016; Menzies ve ark., 2017). Bu değişiklikler arasında diyabetik sıçanlarda iletim ve direnç tipi damarlarda saptanan endotel disfonksiyonuna pürinerjik reseptör-NO sinyalizasyonun bozulması, pürinerjik reseptör ekspresyonunun değişmesi ve/veya pürinerjik reseptör sensitivitesindeki değişiklikler yer almaktadır (Ishida ve ark., 2013a).

Sonuç olarak, DM grubunda mezenter arterin 2. dalını kullanarak gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada P2X1 reseptör agonisti olan $\alpha\beta$ -met ATP hem sağlıklı hem de diyabetik hayvanlarda gevşemeye neden olmakla birlikte, bu gevşeme yanıtı diyabetik koşullarda önemli düzeyde azalmaktadır. Aynı zamanda gevşeme yanıtına aracılık eden hücre içi mekanizmalar da kontrol ve diyabetik hayvanlarda birbirinden farklı olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlardan kısmen de olsa diyabette ortaya çıkabilecek pürinerjik sinyalizasyon değişiklikleri ve/veya reseptör sensitivite değişikliklerinin sorumlu olabileceği düşünülebilir. Bizim çalışmamız diyabette bozulduğu bilinen vasküler tonusun düzenlenmesinde P2X1 aracılı mekanizmaların da yer alabileceğini ilk kez ortaya koymuştur. Ancak bu konuda hücre içi mekanizmaları ayrıntılı şekilde inceleyen ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Pürinerjik sistem, vasküler doku dahil olmak üzere vücutta yaygın olarak bulunan ve geniş çapta etkilere sahip olan bir sistemdir (Burnstock ve Ralevic, 2014a). Toplumda sıkça görülen diyabet ise özellikle endotel disfonksiyonu ve vasküler komplikasyonları nedeniyle ciddi organ yetmezliklerine neden olabilmektedir (Keskin ve Balcı, 2011). Dolayısıyla çalışmamızda diyabetik hayvanlarda ATP ve P2X1 reseptör agonisti olan $\alpha\beta$ -met ATP'ye cevaben oluşan gevşeme yanıtlarının azalmış olması diyabette gelişen endotel disfonksiyonunda pürinerjik sistemin de rol alabileceğini ilk kez ortaya koymuştur.

Öte yandan, pürinerjik sinyalizasyon ise ATP ve yıkım ürünlerinin pürinerjik reseptörlere bağlanarak hücre içi sinyal yolağını aktive etmesidir ve ortaya çıkan yanıt reseptörün eşleştiği sinyal yolağına göre değişir (Motoshima ve ark., 2004).

Çalışmamızda P2X1 reseptör aracılı ortaya çıkan damar yanıtlarına aracılık eden yolaklar incelendiğinde, kontrol hayvanlarında yalnızca NO yolağının katkısının bulunduğu saptanırken, diyabetik hayvanlarda NO, PGI₂ ve EDHF yolaklarının her üçünün de P2X1 reseptör aracılı dilatasyon yanıtına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bu durum, diyabette ortaya çıkabilecek vasküler pürinerjik sinyalizasyon değişikliklerine bağlı olabilir. Diyabette pek çok komplikasyonun kökeninde vasküler bozuklukların yattığı düşünüldüğünde, P2X1 aracılı vasküler yolağın diyabet patogenezinin aydınlatmasına önemli ve yeni bilgiler sağlayabileceği inancındayız.

KAYNAKLAR

Abbracchio, M. P., Burnstock, G., Boeynaems, J. M., Barnard, E. A., Boyer, J. L., Kennedy, C., . . . Weisman, G. A. International union of pharmacology lviii: Update on the p2y_g protein-coupled nucleotide receptors: From molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacol Rev.* 2006; 58 (3): 281-341.

Abbracchio, M. P., Burnstock, G., Verkhratsky, A., & Zimmermann, H. Purinergic signalling in the nervous system: An overview. *Trends in neurosciences.* 2009; 32 (1): 19-29.

Aceti, A., Santhakumaran, S., Logan, K. M., Philipps, L. H., Prior, E., Gale, C., . . . Modi, N. The diabetic pregnancy and offspring blood pressure in childhood: A systematic review and meta-analysis. *Diabetologia.* 2012; 55 (11): 3114-3127.

Achenbach, P., Lampasona, V., Landherr, U., Koczwara, K., Krause, S., Grallert, H., . . . Bonifacio, E. Autoantibodies to zinc transporter 8 and slc30a8 genotype stratify type 1 diabetes risk. *Diabetologia.* 2009; 52 (9): 1881-1888.

Adeghate, E., & Singh, J. Structural changes in the myocardium during diabetes-induced cardiomyopathy. *Heart Fail Rev.* 2014; 19 (1): 15-23.

Adinolfi, E., Raffaghello, L., Giuliani, A. L., Cavazzini, L., Capece, M., Chiozzi, P., . . . Di Virgilio, F. Expression of p2x₇ receptor increases in vivo tumor growth. *Cancer research.* 2012; 72 (12): 2957-2969.

Aghaei, M., Panjehpour, M., Karami-Tehrani, F., & Salami, S. Molecular mechanisms of a₃ adenosine receptor-induced g₁ cell cycle arrest and apoptosis in androgen-dependent and independent prostate cancer cell lines: Involvement of intrinsic pathway. *Journal of cancer research and clinical oncology.* 2011; 137 (10): 1511.

Alexandru, N., Badila, E., Weiss, E., Cochior, D., Stepien, E., & Georgescu, A. Vascular complications in diabetes: Microparticles and microparticle associated micrnas as active players. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016; 472 (1): 1-10.

Ali, A., Iqbal, F., Taj, A., Iqbal, Z., Amin, M. J., & Iqbal, Q. Z. Prevalence of microvascular complications in newly diagnosed patients with type 2 diabetes. *Pak J Med Sci.* 2013; 29 (4): 899-902.

Alsaqati, M., Latif, M., Chan, S., & Ralevic, V. Novel vasocontractile role of the p2y14 receptor: Characterization of its signalling in porcine isolated pancreatic arteries. *British journal of pharmacology.* 2014; 171 (3): 701-713.

Andersen, G. (2018). Diabetes, coronary artery disease and collaboration. In.

Association, A. D. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care.* 2010; 33 (Supplement 1): S62-S69.

Avanzato, D., Genova, T., Pla, A. F., Bernardini, M., Bianco, S., Bussolati, B., . . . Cassoni, P. Activation of p2x7 and p2y11 purinergic receptors inhibits migration and normalizes tumor-derived endothelial cells via camp signaling. *Scientific reports.* 2016; 6: 32602.

Banting, F. G., Best, C. H., Collip, J. B., Campbell, W. R., & Fletcher, A. A. Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus. *Canadian Medical Association Journal.* 1922; 12 (3): 141.

Barendse, S., Singh, H., Frier, B., & Speight, J. The impact of hypoglycaemia on quality of life and related patient-reported outcomes in type 2 diabetes: A narrative review. *Diabetic medicine.* 2012; 29 (3): 293-302.

Basu, A., Close, C. F., Jenkins, D., Krentz, A. J., Natrass, M., & Wright, A. D. Persisting mortality in diabetic ketoacidosis. *Diabet Med.* 1993; 10 (3): 282-284.

Biber, K., Klotz, K.-N., Berger, M., Gebicke-Härter, P. J., & van Calker, D. Adenosine a1 receptor-mediated activation of phospholipase c in cultured astrocytes depends on the level of receptor expression. *Journal of Neuroscience.* 1997; 17 (13): 4956-4964.

Boden, G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and niddm. *Diabetes.* 1997; 46 (1): 3-10.

Bonetti, P. O., Lerman, L. O., & Lerman, A. Endothelial dysfunction: A marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23 (2): 168-175.

Boonen, E., & Van den Berghe, G. Endocrine responses to critical illness: Novel insights and therapeutic implications. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2014; 99 (5): 1569-1582.

Borea, P. A., Gessi, S., Merighi, S., & Varani, K. Adenosine as a multi-signalling guardian angel in human diseases: When, where and how does it exert its protective effects? *Trends in pharmacological sciences.* 2016; 37 (6): 419-434.

Borea, P. A., Gessi, S., Merighi, S., Vincenzi, F., & Varani, K. Pharmacology of adenosine receptors: The state of the art. *Physiological reviews.* 2018; 98 (3): 1591-1625.

Brod, M., Rana, A., & Barnett, A. H. Impact of self-treated hypoglycaemia in type 2 diabetes: A multinational survey in patients and physicians. *Current medical research and opinion.* 2012; 28 (12): 1947-1958.

Brownlee, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001; 414 (6865): 813.

Brownlee, M. The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. *diabetes.* 2005; 54 (6): 1615-1625.

Burnstock, G. Purinergic nerves. *Pharmacological reviews.* 1972; 24 (3): 509-581.

Burnstock, G. Purinergic receptors. *Journal of theoretical biology.* 1976; 62 (2): 491-503.

Burnstock, G. Hypoxia, endothelium, and purines. *Drug development research.* 1993; 28 (3): 301-305.

Burnstock, G. Purinergic signalling. *Br J Pharmacol.* 2006; 147 Suppl 1: S172-181.

Burnstock, G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. *Physiological reviews.* 2007a; 87 (2): 659-797.

Burnstock, G. Purine and pyrimidine receptors. *Cellular and molecular life sciences*. 2007b; 64 (12): 1471.

Burnstock, G. (2009). Purines and sensory nerves. In *Sensory nerves* (pp. 333-392): Springer.

Burnstock, G. Purinergic signalling: Pathophysiology and therapeutic potential. *The Keio journal of medicine*. 2013; 62 (3): 63-73.

Burnstock, G. Purinergic signalling in endocrine organs. *Purinergic Signalling*. 2014a; 10 (1): 189-231.

Burnstock, G. Purinergic signalling in the gastrointestinal tract and related organs in health and disease. *Purinergic signalling*. 2014b; 10 (1): 3-50.

Burnstock, G. Purinergic signalling: From discovery to current developments. *Experimental physiology*. 2014c; 99 (1): 16-34.

Burnstock, G. Blood cells: An historical account of the roles of purinergic signalling. *Purinergic signalling*. 2015; 11 (4): 411-434.

Burnstock, G. Short- and long-term (trophic) purinergic signalling. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2016a; 371 (1700).

Burnstock, G. Short-and long-term (trophic) purinergic signalling. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2016b; 371 (1700): 20150422.

Burnstock, G. Purinergic signaling in the cardiovascular system. *Circulation research*. 2017; 120 (1): 207-228.

Burnstock, G., & Alexei, V. *Purinergic signalling and the nervous system*: Springer Science & Business Media; 2012, p:

Burnstock, G., Arnett, T. R., & Orriss, I. R. Purinergic signalling in the musculoskeletal system. *Purinergic signalling*. 2013; 9 (4): 541-572.

Burnstock, G., & Boeynaems, J.-M. Purinergic signalling and immune cells. *Purinergic signalling*. 2014; 10 (4): 529-564.

Burnstock, G., Brouns, I., Adriaensen, D., & Timmermans, J.-P. Purinergic signaling in the airways. *Pharmacological reviews*. 2012; 64 (4): 834-868.

Burnstock, G., & Di Virgilio, F. Purinergic signalling and cancer. *Purinergic signalling*. 2013; 9 (4): 491-540.

Burnstock, G., Dumsday, B., & Smythe, A. Atropine resistant excitation of the urinary bladder: The possibility of transmission via nerves releasing a purine nucleotide. *British journal of pharmacology*. 1972; 44 (3): 451-461.

Burnstock, G., & Knight, G. E. Cellular distribution and functions of p2 receptor subtypes in different systems. *Int Rev Cytol*. 2004; 240 (1): 31-304.

Burnstock, G., Knight, G. E., & Greig, A. V. Purinergic signaling in healthy and diseased skin. *Journal of Investigative Dermatology*. 2012; 132 (3): 526-546.

Burnstock, G., & Pelleg, A. Cardiac purinergic signalling in health and disease. *Purinergic signalling*. 2015; 11 (1): 1-46.

Burnstock, G., & Ralevic, V. Purinergic signaling and blood vessels in health and disease. *Pharmacol Rev*. 2014a; 66 (1): 102-192.

Burnstock, G., & Ralevic, V. Purinergic signaling and blood vessels in health and disease. *Pharmacological reviews*. 2014b; 66 (1): 102-192.

Burnstock, G., & Verkhatsky, A. Evolutionary origins of the purinergic signalling system. *Acta physiologica*. 2009; 195 (4): 415-447.

Buvinic, S., Poblete, M. I., Donoso, M. V., Delpiano, A. M., Briones, R., Miranda, R., & Huidobro-Toro, J. P. P2y1 and p2y2 receptor distribution varies along the human placental vascular tree: Role of nucleotides in vascular tone regulation. *The Journal of physiology*. 2006; 573 (2): 427-443.

Chan, C. M., Unwin, R. J., Bardini, M., Oglesby, I. B., Ford, A. P., Townsend-Nicholson, A., & Burnstock, G. Localization of p2x1 purinoceptors by autoradiography and immunohistochemistry in rat kidneys. *Am J Physiol.* 1998; 274 (4): F799-804.

Chandaka, G. K., Salzer, I., Drobny, H., Boehm, S., & Schicker, K. W. Facilitation of transmitter release from rat sympathetic neurons via presynaptic p2y1 receptors. *British journal of pharmacology.* 2011; 164 (5): 1522-1533.

Chen, H., Montagnani, M., Funahashi, T., Shimomura, I., & Quon, M. J. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry.* 2003; 278 (45): 45021-45026.

Chen, R., Ovbiagele, B., & Feng, W. Diabetes and stroke: Epidemiology, pathophysiology, pharmaceuticals and outcomes. *The American journal of the medical sciences.* 2016; 351 (4): 380-386.

Chen, S., Apostolova, M. D., Cherian, M. G., & Chakrabarti, S. Interaction of endothelin-1 with vasoactive factors in mediating glucose-induced increased permeability in endothelial cells. *Laboratory Investigation.* 2000; 80 (8): 1311.

Chupin, M., Charbonnel, B., & Chupin, F. C-peptide blood levels in keto-acidosis and in hyperosmolar non-ketotic diabetic coma. *Acta diabetologia latina.* 1981; 18 (2): 123-128.

Control, C. f. D., & Prevention. National diabetes fact sheet: National estimates and general information on diabetes and prediabetes in the united states, 2011. Atlanta, GA: US department of health and human services, centers for disease control and prevention. 2011; 201 (1): 2568-2569.

Control, D., & Group, C. T. R. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *New England journal of medicine.* 1993; 329 (14): 977-986.

Corriden, R., & Insel, P. A. Basal release of atp: An autocrine-paracrine mechanism for cell regulation. *Sci. Signal.* 2010; 3 (104): re1-re1.

Costanzi, S., Mamedova, L., Gao, Z. G., & Jacobson, K. A. Architecture of p2y nucleotide receptors: Structural comparison based on sequence analysis, mutagenesis, and homology modeling. *J Med Chem.* 2004; 47 (22): 5393-5404.

Cryer, P. E. Glycemic goals in diabetes: Trade-off between glycemic control and iatrogenic hypoglycemia. *Diabetes.* 2014; 63 (7): 2188-2195.

Cunha, R. Adenosine as a neuromodulator and as a homeostatic regulator in the nervous system: Different roles, different sources and different receptors. *Neurochemistry international.* 2001; 38 (2): 107-125.

Cusi, K., Maezono, K., Osman, A., Pendergrass, M., Patti, M. E., Pratipanawatr, T., . . . Mandarino, L. J. Insulin resistance differentially affects the pi 3-kinase–and map kinase–mediated signaling in human muscle. *The Journal of clinical investigation.* 2000; 105 (3): 311-320.

Dagher, Z., Park, Y. S., Asnaghi, V., Hoehn, T., Gerhardinger, C., & Lorenzi, M. Studies of rat and human retinas predict a role for the polyol pathway in human diabetic retinopathy. *Diabetes.* 2004; 53 (9): 2404-2411.

Dalziel, H. H., & Westfall, D. P. Receptors for adenine nucleotides and nucleosides: Subclassification, distribution, and molecular characterization. *Pharmacological reviews.* 1994; 46 (4): 449-466.

Danaei, G., Finucane, M. M., Lu, Y., Singh, G. M., Cowan, M. J., Paciorek, C. J., . . . Ezzati, M. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: Systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet.* 2011; 378 (9785): 31-40.

Dandona, P., Weinstock, R., Thusu, K., Abdel-Rahman, E., Aljada, A., & Wadden, T. Tumor necrosis factor- α in sera of obese patients: Fall with weight loss. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 1998; 83 (8): 2907-2910.

Davies, J. L., Kawaguchi, Y., Bennett, S. T., Copeman, J. B., Cordell, H. J., Pritchard, L. E., . . . et al. A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature*. 1994; 371 (6493): 130-136.

Deanfield, J. E., Halcox, J. P., & Rabelink, T. J. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007; 115 (10): 1285-1295.

Demel, S. L., & Galligan, J. J. Impaired purinergic neurotransmission to mesenteric arteries in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Hypertension*. 2008; 52 (2): 322-329.

Dhatariya, K. Blood ketones: Measurement, interpretation, limitations, and utility in the management of diabetic ketoacidosis. *Rev Diabet Stud*. 2016; 13 (4): 217-225.

Drury, A., & Szent-Györgyi, A. v. The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart 1. *The Journal of physiology*. 1929; 68 (3): 213-237.

Duncan, J. M. On puerperal diabetes. *Trans Obstet Soc Lond*. 1882; 24: 256.

Duplain, H., Burcelin, R. m., Sartori, C., Cook, S. p., Egli, M., Lepori, M., . . . Thorens, B. Note added in proof. *Circulation*. 2001; 104 (3): 342-345.

Dyck, P. J., Kratz, K., Karnes, J., Litchy, W. J., Klein, R., Pach, J., . . . Melton, L. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: The rochester diabetic neuropathy study. *Neurology*. 1993; 43 (4): 817-817.

Edwards, F. A., Gibb, A. J., & Colquhoun, D. Atp receptor-mediated synaptic currents in the central nervous system. *Nature*. 1992; 359 (6391): 144.

Ellerbe, C. N., Gebregziabher, M., Korte, J. E., Mauldin, J., & Hunt, K. J. Quantifying the impact of gestational diabetes mellitus, maternal weight and race on birthweight via quantile regression. *PLoS One*. 2013; 8 (6): e65017.

Ergul, A., Hafez, S., Fouda, A., & Fagan, S. C. Impact of comorbidities on acute injury and recovery in preclinical stroke research: Focus on hypertension and diabetes. *Translational stroke research*. 2016; 7 (4): 248-260.

Eringa, E. C., Serne, E. H., Meijer, R. I., Schalkwijk, C. G., Houben, A. J., Stehouwer, C. D., . . . van Hinsbergh, V. W. Endothelial dysfunction in (pre) diabetes: Characteristics, causative mechanisms and pathogenic role in type 2 diabetes. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2013; 14 (1): 39-48.

Evans, R. J., Derkach, V., & Surprenant, A. Atp mediates fast synaptic transmission in mammalian neurons. *Nature*. 1992; 357 (6378): 503.

Fadini, G. P., de Kreutzenberg, S. V., Rigato, M., Brocco, S., Marchesan, M., Tiengo, A., & Avogaro, A. Characteristics and outcomes of the hyperglycemic hyperosmolar non-ketotic syndrome in a cohort of 51 consecutive cases at a single center. *Diabetes research and clinical practice*. 2011; 94 (2): 172-179.

Faselis, C., Katsimardou, A., Imprialos, K., Deligkaris, P., Kallistratos, M., & Dimitriadis, K. Microvascular complications of type 2 diabetes mellitus. *Current vascular pharmacology*. 2019.

Fedan, J. S., Hogaboom, G. K., O'Donnell, J. P., Colby, J., & Westfall, D. P. Contribution by purines to the neurogenic response of the vas deferens of the guinea pig. *European journal of pharmacology*. 1981; 69 (1): 41-53.

Feldman, E. L., Nave, K.-A., Jensen, T. S., & Bennett, D. L. New horizons in diabetic neuropathy: Mechanisms, bioenergetics, and pain. *Neuron*. 2017; 93 (6): 1296-1313.

Feoktistov, I., Goldstein, A. E., Ryzhov, S., Zeng, D., Belardinelli, L., Voynoyasenetskaya, T., & Biaggioni, I. Differential expression of adenosine receptors in human endothelial cells: Role of a_{2b} receptors in angiogenic factor regulation. *Circulation research*. 2002; 90 (5): 531-538.

Ferre, S., Von Euler, G., Johansson, B., Fredholm, B. B., & Fuxe, K. Stimulation of high-affinity adenosine a₂ receptors decreases the affinity of dopamine d₂ receptors in rat

striatal membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1991; 88 (16): 7238-7241.

Ferreira, J. M., & Paes-de-Carvalho, R. Long-term activation of adenosine a2a receptors blocks glutamate excitotoxicity in cultures of avian retinal neurons. *Brain research*. 2001; 900 (2): 169-176.

Festa, A., D'Agostino Jr, R., Howard, G., Mykkanen, L., Tracy, R. P., & Haffner, S. M. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: The insulin resistance atherosclerosis study (iras). *Circulation*. 2000; 102 (1): 42-47.

Filla, L. A., & Edwards, J. L. Metabolomics in diabetic complications. *Molecular BioSystems*. 2016; 12 (4): 1090-1105.

Fishbein, H., & Palumbo, P. Acute metabolic complications in diabetes. *Diabetes in America*. 1995; 2: 283-292.

Fitz, J. G. Regulation of cellular atp release. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*. 2007; 118: 199.

Forbes, J. M., & Cooper, M. E. Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev*. 2013; 93 (1): 137-188.

Foster, D. W., & McGarry, J. D. The metabolic derangements and treatment of diabetic ketoacidosis. *N Engl J Med*. 1983; 309 (3): 159-169.

Fredholm, B. B., AP, I. J., Jacobson, K. A., Klotz, K. N., & Linden, J. International union of pharmacology. Xxv. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol Rev*. 2001; 53 (4): 527-552.

Fredholm, B. B., Arslan, G., Halldner, L., Kull, B., Schulte, G., & Wasserman, W. Structure and function of adenosine receptors and their genes. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2000; 362 (4-5): 364-374.

Fredholm, B. B., IJzerman, A. P., Jacobson, K. A., Klotz, K.-N., & Linden, J. International union of pharmacology. Xxv. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacological reviews*. 2001; 53 (4): 527-552.

Fredholm, B. B., IJzerman, A. P., Jacobson, K. A., Linden, J., & Müller, C. E. International union of basic and clinical pharmacology. Lxxxii. Nomenclature and classification of adenosine receptors—an update. *Pharmacological reviews*. 2011; 63 (1): 1-34.

Frier, B. M. Hypoglycaemia in diabetes mellitus: Epidemiology and clinical implications. *Nature Reviews Endocrinology*. 2014; 10 (12): 711.

Fu, D., Jeremy, Y. Y., Yang, S., Wu, M., Hammad, S. M., Connell, A. R., . . . Lyons, T. J. Survival or death: A dual role for autophagy in stress-induced pericyte loss in diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 2016; 59 (10): 2251-2261.

Furman, B. L. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current protocols in pharmacology*. 2015; 70 (1): 5.47. 41-45.47. 20.

Fuster, V., Badimon, L., Badimon, J. J., & Chesebro, J. H. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *New England journal of medicine*. 1992; 326 (5): 310-318.

GEBICKE-HAERTER, P. J., CHRISTOFFEL, F., TIMMER, J., NORTHOFF, H., BERGER, M., & VAN CALKER, D. Both adenosine a1-and a2-receptors are required to stimulate microglial proliferation. *Neurochemistry international*. 1996; 29 (1): 37-42.

Geldenhuis, W., Hanif, A., Yun, J., & Nayeem, M. Exploring adenosine receptor ligands: Potential role in the treatment of cardiovascular diseases. *Molecules*. 2017; 22 (6): 917.

Gessi, S., Merighi, S., Fazzi, D., Stefanelli, A., Varani, K., & Borea, P. A. Adenosine receptor targeting in health and disease. *Expert opinion on investigational drugs*. 2011; 20 (12): 1591-1609.

Gitterman, D., & Evans, R. Properties of p2x and p2y receptors are dependent on artery diameter in the rat mesenteric bed. *British journal of pharmacology*. 2000a; 131 (8): 1561-1568.

Gitterman, D. P., & Evans, R. J. Properties of p2x and p2y receptors are dependent on artery diameter in the rat mesenteric bed. *Br J Pharmacol*. 2000b; 131 (8): 1561-1568.

Glass, R., & Burnstock, G. Immunohistochemical identification of cells expressing atp-gated cation channels (p2x receptors) in the adult rat thyroid. *The Journal of Anatomy*. 2001a; 198 (5): 569-579.

Glass, R., & Burnstock, G. Immunohistochemical identification of cells expressing atp-gated cation channels (p2x receptors) in the adult rat thyroid. *J Anat*. 2001b; 198 (Pt 5): 569-579.

Glass, R., Loesch, A., Bodin, P., & Burnstock, G. P2x4 and p2x6 receptors associate with ve-cadherin in human endothelial cells. *Cell Mol Life Sci*. 2002; 59 (5): 870-881.

Glass, R., Townsend-Nicholson, A., & Burnstock, G. P2 receptors in the thymus: Expression of p2x and p2y receptors in adult rats, an immunohistochemical and in situ hybridisation study. *Cell and tissue research*. 2000a; 300 (2): 295-306.

Glass, R., Townsend-Nicholson, A., & Burnstock, G. P2 receptors in the thymus: Expression of p2x and p2y receptors in adult rats, an immunohistochemical and in situ hybridisation study. *Cell Tissue Res*. 2000b; 300 (2): 295-306.

Goonetilleke, L., Ralevic, V., & Dunn, W. R. Influence of pressure on adenosine triphosphate function as a sympathetic neurotransmitter in small mesenteric arteries from the spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens*. 2013; 31 (2): 312-320.

Gourine, A. V., Wood, J. D., & Burnstock, G. Purinergic signalling in autonomic control. *Trends in neurosciences*. 2009; 32 (5): 241-248.

Grabias, B. M., & Konstantopoulos, K. The physical basis of renal fibrosis: Effects of altered hydrodynamic forces on kidney homeostasis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2013; 306 (5): F473-F485.

Group, U. K. P. D. S. Relative efficacy of randomly allocated diet, sulphonylurea, insulin, or metformin in patients with newly diagnosed non-insulin dependent diabetes followed for three years (ukpds 13). *BMJ*. 1995; 310: 83-88.

Guan, Z., Singletary, S. T., Cha, H., Van Beusecum, J. P., Cook, A. K., Pollock, J. S., . . . Inscho, E. W. Pentosan polysulfate preserves renal microvascular p2x1 receptor reactivity and autoregulatory behavior in doca-salt hypertensive rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2015; 310 (6): F456-F465.

Gur, S., Kadowitz, P. J., Abdel-Mageed, A. B., Kendirci, M., Sikka, S. C., Burnstock, G., & Hellstrom, W. J. Management of erectile function by penile purinergic p2 receptors in the diabetic rat. *The Journal of urology*. 2009; 181 (5): 2375-2382.

Guthrie, R. A., & Guthrie, D. W. Pathophysiology of diabetes mellitus. *Crit Care Nurs Q*. 2004; 27 (2): 113-125.

Haddock, R. E., & Hill, C. E. Sympathetic overdrive in obesity involves purinergic hyperactivity in the resistance vasculature. *J Physiol*. 2011; 589 (Pt 13): 3289-3307.

Haffner, S. M. Pre-diabetes, insulin resistance, inflammation and cvd risk. *Diabetes research and clinical practice*. 2003; 61: S9-S18.

Haider, D., Peric, S., Friedl, A., Fuhrmann, V., Wolzt, M., Hörl, W., & Soleiman, A. Kidney biopsy in patients with diabetes mellitus. *Clinical nephrology*. 2011; 76 (3): 180-185.

Hansen, M., Dutton, J., Balcar, V., Barden, J., & Bennett, M. P2x (purinergic) receptor distributions in rat blood vessels. *Journal of the autonomic nervous system*. 1999; 75 (2-3): 147-155.

Hardie, D. G. Sensing of energy and nutrients by amp-activated protein kinase. *The American journal of clinical nutrition*. 2011; 93 (4): 891S-896S.

Harhun, M. I., Povstyan, O. V., & Gordienko, D. V. Purinoreceptor-mediated current in myocytes from renal resistance arteries. *Br J Pharmacol*. 2010; 160 (4): 987-997.

Harrington, L., & Mitchell, J. P2x1 receptors and the endothelium. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2005; 100: 111-112.

Harrington, L. S., Evans, R. J., Wray, J., Norling, L., Swales, K. E., Vial, C., . . . Mitchell, J. A. Purinergic 2x1 receptors mediate endothelial dependent vasodilation to atp. *Molecular pharmacology*. 2007; 72 (5): 1132-1136.

Harrington, L. S., & Mitchell, J. A. Novel role for p2x receptor activation in endothelium-dependent vasodilation. *Br J Pharmacol*. 2004a; 143 (5): 611-617.

Harrington, L. S., & Mitchell, J. A. Novel role for p2x receptor activation in endothelium-dependent vasodilation. *British journal of pharmacology*. 2004b; 143 (5): 611-617.

Hartge, M. M., Kintscher, U., & Unger, T. Endothelial dysfunction and its role in diabetic vascular disease. *Endocrinology and Metabolism Clinics*. 2006; 35 (3): 551-560.

Haskó, G., & Pacher, P. A2a receptors in inflammation and injury: Lessons learned from transgenic animals. *Journal of leukocyte biology*. 2008; 83 (3): 447-455.

Henry, R. R. Impaired muscle fat metabolism: A cause or effect of visceral obesity? *J Clin Invest*. 1995; 95 (4): 1427-1428.

Himsworth, H. P. Diabetes mellitus. Its differentiation into insulin-sensitive and insulin-insensitive types. *Lancet*. 1936; 230: 127-130.

Hu, H., & Hoylaerts, M. F. The p2x1 ion channel in platelet function. *Platelets*. 2010; 21 (3): 153-166.

Hua, X., Erikson, C. J., Chason, K. D., Rosebrock, C. N., Deshpande, D. A., Penn, R. B., & Tilley, S. L. Involvement of a1 adenosine receptors and neural pathways in adenosine-

induced bronchoconstriction in mice. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2007; 293 (1): L25-L32.

Inscho, E. W., Cook, A. K., Clarke, A., Zhang, S., & Guan, Z. P2x1 receptor-mediated vasoconstriction of afferent arterioles in angiotensin ii–infused hypertensive rats fed a high-salt diet. *Hypertension*. 2011; 57 (4): 780-787.

Inscho, E. W., Cook, A. K., Imig, J. D., Vial, C., & Evans, R. J. Renal autoregulation in p2x1 knockout mice. *Acta Physiol Scand*. 2004; 181 (4): 445-453.

Ishida, K., Matsumoto, T., Taguchi, K., Kamata, K., & Kobayashi, T. Mechanisms underlying altered extracellular nucleotide-induced contractions in mesenteric arteries from rats in later-stage type 2 diabetes: Effect of ang ii type 1 receptor antagonism. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2011; 301 (5): H1850-H1861.

Ishida, K., Matsumoto, T., Taguchi, K., Kamata, K., & Kobayashi, T. Mechanisms underlying reduced p2y(1) -receptor-mediated relaxation in superior mesenteric arteries from long-term streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta Physiol (Oxf)*. 2013a; 207 (1): 130-141.

Ishida, K., Matsumoto, T., Taguchi, K., Kamata, K., & Kobayashi, T. Mechanisms underlying reduced p 2 y 1-receptor-mediated relaxation in superior mesenteric arteries from long-term streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta Physiologica*. 2013b; 207 (1): 130-141.

Jackson, W. P. U. Studies in pre-diabetes. *British medical journal*. 1952; 2 (4786): 690.

Janghorbani, M., Hu, F. B., Willett, W. C., Li, T. Y., Manson, J. E., Logroscino, G., & Rexrode, K. M. Prospective study of type 1 and type 2 diabetes and risk of stroke subtypes: The nurses' health study. *Diabetes care*. 2007; 30 (7): 1730-1735.

Janssens, R., & Boeynaems, J. M. Effects of extracellular nucleotides and nucleosides on prostate carcinoma cells. *British journal of pharmacology*. 2001; 132 (2): 536-546.

- Jansson, P. A. Endothelial dysfunction in insulin resistance and type 2 diabetes. *Journal of internal medicine*. 2007; 262 (2): 173-183.
- Jia, G., DeMarco, V. G., & Sowers, J. R. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in diabetic cardiomyopathy. *Nat Rev Endocrinol*. 2016; 12 (3): 144-153.
- Jialal, I., Devaraj, S., & Venugopal, S. K. C-reactive protein: Risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension*. 2004; 44 (1): 6-11.
- Jiang, L.-H., Mousawi, F., Yang, X., & Roger, S. Atp-induced ca^{2+} -signalling mechanisms in the regulation of mesenchymal stem cell migration. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2017; 74 (20): 3697-3710.
- Jiang, Z. Y., Zhou, Q.-L., Chatterjee, A., Feener, E. P., Myers, M. G., White, M. F., & King, G. L. Endothelin-1 modulates insulin signaling through phosphatidylinositol 3-kinase pathway in vascular smooth muscle cells. *Diabetes*. 1999; 48 (5): 1120-1130.
- Jo, Y.-H., & Role, L. W. Coordinate release of atp and gaba at in vitrosynapses of lateral hypothalamic neurons. *Journal of Neuroscience*. 2002; 22 (12): 4794-4804.
- Judkins, C. P., Sobey, C. G., Dang, T. T., Miller, A. A., Dusting, G. J., & Drummond, G. R. NADPH-induced contractions of mouse aorta do not involve NADPH oxidase: A role for P2X receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2006; 317 (2): 644-650.
- Kahn, B. B., & Flier, J. S. Obesity and insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*. 2000; 106 (4): 473-481.
- Kanwar, Y. S., Sun, L., Xie, P., Liu, F.-y., & Chen, S. A glimpse of various pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2011; 6: 395-423.
- Kauffenstein, G., Tamarelle, S., Prunier, F., Roy, C., Ayer, A., Toutain, B., . . . Loufrani, L. Central role of P2Y6 UDP receptor in arteriolar myogenic tone. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2016; 36 (8): 1598-1606.

Kelley, D. E., & Mandarino, L. J. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: A reexamination. *Diabetes*. 2000; 49 (5): 677-683.

Keskin, Ö., & Balcı, B. Diabetes mellitus ve kardiovasküler komplikasyonlar. *Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi*. 2011; (2): 81-85.

Khanam, P. A., Hoque, S., Begum, T., Habib, S. H., & Latif, Z. A. Microvascular complications and their associated risk factors in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2017; 11: S577-S581.

Kitabchi, A. E., Umpierrez, G. E., Miles, J. M., & Fisher, J. N. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. *Diabetes care*. 2009; 32 (7): 1335-1343.

Kitabchi, A. E., Umpierrez, G. E., Murphy, M. B., Barrett, E. J., Kreisberg, R. A., Malone, J. I., & Wall, B. M. Management of hyperglycemic crises in patients with diabetes. *Diabetes care*. 2001; 24 (1): 131-153.

Koupenova, M., Johnston-Cox, H., Vezeridis, A., Gavras, H., Yang, D., Zannis, V., & Ravid, K. A2b adenosine receptor regulates hyperlipidemia and atherosclerosis. *Circulation*. 2012; 125 (2): 354-363.

Kreft, E., Kowalski, R., Jankowski, M., & Szczepanska-Konkel, M. Renal vasculature reactivity to agonist of p2x7 receptor is increased in streptozotocin-induced diabetes. *Pharmacol Rep*. 2016; 68 (1): 71-74.

Kreft, E., Kowalski, R., Jankowski, M., & Szczepańska-Konkel, M. Renal vasculature reactivity to agonist of p2x7 receptor is increased in streptozotocin-induced diabetes. *Pharmacological Reports*. 2016; 68 (1): 71-74.

Kull, B., Svenningsson, P., & Fredholm, B. B. Adenosine a2a receptors are colocalized with and activate golf in rat striatum. *Molecular pharmacology*. 2000; 58 (4): 771-777.

Langer, S., & Pinto, J. Possible involvement of a transmitter different from norepinephrine in the residual responses to nerve stimulation of the cat nictitating membrane after

pretreatment with reserpine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1976; 196 (3): 697-713.

Latini, S., & Pedata, F. Adenosine in the central nervous system: Release mechanisms and extracellular concentrations. *Journal of neurochemistry*. 2001; 79 (3): 463-484.

Lau, D. C., Dhillon, B., Yan, H., Szmitko, P. E., & Verma, S. Adipokines: Molecular links between obesity and atherosclerosis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2005; 288 (5): H2031-H2041.

Lawton, J., Rankin, D., Elliott, J., Heller, S. R., Rogers, H. A., De Zoysa, N., . . . Group, U. N. D. S. Experiences, views, and support needs of family members of people with hypoglycemia unawareness: Interview study. *Diabetes Care*. 2014; 37 (1): 109-115.

Le Gouill, E., Jimenez, M., Binnert, C., Jayet, P.-Y., Thalmann, S., Nicod, P., . . . Vollenweider, P. Endothelial nitric oxide synthase (enos) knockout mice have defective mitochondrial β -oxidation. *Diabetes*. 2007; 56 (11): 2690-2696.

Leach, L. Placental vascular dysfunction in diabetic pregnancies: Intimations of fetal cardiovascular disease? *Microcirculation*. 2011; 18 (4): 263-269.

Leckie, A. M., Graham, M. K., Grant, J. B., Ritchie, P. J., & Frier, B. M. Frequency, severity, and morbidity of hypoglycemia occurring in the workplace in people with insulin-treated diabetes. *Diabetes Care*. 2005; 28 (6): 1333-1338.

Leiva, A., Fuenzalida, B., Westermeier, F., Toledo, F., Salomón, C., Gutiérrez, J., . . . Sobrevia, L. Role for tetrahydrobiopterin in the fetoplacental endothelial dysfunction in maternal supraphysiological hypercholesterolemia. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016; 2016.

Lewis, C., & Evans, R. Lack of run-down of smooth muscle p2x receptor currents recorded with the amphotericin permeabilized patch technique, physiological and pharmacological characterization of the properties of mesenteric artery p2x receptor ion channels. *British journal of pharmacology*. 2000a; 131 (8): 1659-1666.

Lewis, C. J., & Evans, R. J. Lack of run-down of smooth muscle p2x receptor currents recorded with the amphotericin permeabilized patch technique, physiological and pharmacological characterization of the properties of mesenteric artery p2x receptor ion channels. *Br J Pharmacol.* 2000b; 131 (8): 1659-1666.

Lewis, C. J., & Evans, R. J. P2x receptor immunoreactivity in different arteries from the femoral, pulmonary, cerebral, coronary and renal circulations. *J Vasc Res.* 2001; 38 (4): 332-340.

Lewis, G. F., Carpentier, A., Adeli, K., & Giacca, A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 2002; 23 (2): 201-229.

Li, J.-m., Fenton, R. A., Wheeler, H. B., Powell, C. C., Peyton, B. D., Cutler, B. S., & Dobson Jr, J. G. Adenosine a2areceptors increase arterial endothelial cell nitric oxide. *Journal of Surgical Research.* 1998; 80 (2): 357-364.

Li, L., Wu, T., Wei, C., Han, J.-k., Jia, Z.-h., Wu, Y.-l., & Ren, L.-m. Exhaustive swimming differentially inhibits p2x 1 receptor-and α 1-adrenoceptor-mediated vasoconstriction in isolated rat arteries. *Acta Pharmacologica Sinica.* 2012; 33 (2): 221.

Li, M., Kawate, T., Silberberg, S. D., & Swartz, K. J. Pore-opening mechanism in trimeric p2x receptor channels. *Nature communications.* 2010a; 1: 44.

Li, M., Kawate, T., Silberberg, S. D., & Swartz, K. J. Pore-opening mechanism in trimeric p2x receptor channels. *Nat Commun.* 2010b; 1: 44.

Lind, M., Bounias, I., Olsson, M., Gudbjörnsdottir, S., Svensson, A. M., & Rosengren, A. Glycaemic control and incidence of heart failure in 20,985 patients with type 1 diabetes: An observational study. *Lancet.* 2011; 378 (9786): 140-146.

Lind, M., Bounias, I., Olsson, M., Gudbjörnsdottir, S., Svensson, A.-M., & Rosengren, A. Glycaemic control and incidence of heart failure in 20 985 patients with type 1 diabetes: An observational study. *The Lancet.* 2011; 378 (9786): 140-146.

Lind, M., Svensson, A. M., & Rosengren, A. Glycemic control and excess mortality in type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2015; 372 (9): 880-881.

Livingstone, S. J., Levin, D., Looker, H. C., Lindsay, R. S., Wild, S. H., Joss, N., . . . Colhoun, H. M. Estimated life expectancy in a scottish cohort with type 1 diabetes, 2008-2010. *Jama.* 2015; 313 (1): 37-44.

Ljubimov, A. V. Diabetic complications in the cornea. *Vision Res.* 2017; 139: 138-152.

Loesch, A., & Burnstock, G. Ultrastructural localisation of atp-gated p2x2 receptor immunoreactivity in vascular endothelial cells in rat brain. *Endothelium.* 2000a; 7 (2): 93-98.

Loesch, A., & Burnstock, G. Ultrastructural localisation of atp-gated p2x2 receptor immunoreactivity in vascular endothelial cells in rat brain. *Endothelium.* 2000b; 7 (2): 93-98.

MacLean, H. Some observations on diabetes and insulin in general practice. *Postgraduate medical journal.* 1926; 1 (6): 73.

Mahdi, A., Jiao, T., Tratsiakovich, Y., Yang, J., Östenson, C.-G., Pernow, J., & Zhou, Z. Altered purinergic receptor sensitivity in type 2 diabetes-associated endothelial dysfunction and up4a-mediated vascular contraction. *International journal of molecular sciences.* 2018; 19 (12): 3942.

Mao, X., Chen, X., Chen, C., Zhang, H., & Law, K. P. Metabolomics in gestational diabetes. *Clin Chim Acta.* 2017; 475: 116-127.

Martinez-Ramirez, A., Diaz-Munoz, M., Butanda-Ochoa, A., & Vazquez-Cuevas, F. Nucleotides and nucleoside signaling in the regulation of the epithelium to mesenchymal transition (emt). *Purinergic signalling.* 2017; 13 (1): 1-12.

Mast, H., Thompson, J. L., Lee, S.-H., Mohr, J., & Sacco, R. L. Hypertension and diabetes mellitus as determinants of multiple lacunar infarcts. *Stroke.* 1995; 26 (1): 30-33.

Mathis, D., Vence, L., & Benoist, C. Beta-cell death during progression to diabetes. *Nature*. 2001; 414 (6865): 792-798.

Matsumoto, T., Tostes, R. C., & Webb, R. C. Uridine adenosine tetraphosphate-induced contraction is increased in renal but not pulmonary arteries from doca-salt hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 301 (2): H409-417.

Matsumoto, T., Tostes, R. C., & Webb, R. C. Alterations in vasoconstrictor responses to the endothelium-derived contracting factor uridine adenosine tetraphosphate are region specific in doca-salt hypertensive rats. *Pharmacol Res*. 2012; 65 (1): 81-90.

Mayhan, W. G. Effect of diabetes mellitus on response of the basilar artery to activation of atp-sensitive potassium channels. *Brain research*. 1994; 636 (1): 35-39.

McGarry, J. D. Glucose-fatty acid interactions in health and disease. *Am J Clin Nutr*. 1998; 67 (3 Suppl): 500s-504s.

McGarry, J. D., Woeltje, K. F., Kuwajima, M., & Foster, D. W. Regulation of ketogenesis and the renaissance of carnitine palmitoyltransferase. *Diabetes Metab Rev*. 1989; 5 (3): 271-284.

Megherbi, S.-E., Milan, C., Minier, D., Couvreur, G., Osseby, G.-V., Tilling, K., . . . Moreau, T. Association between diabetes and stroke subtype on survival and functional outcome 3 months after stroke: Data from the european biomed stroke project. *Stroke*. 2003; 34 (3): 688-694.

Members, W. G., Lloyd-Jones, D., Adams, R. J., Brown, T. M., Carnethon, M., Dai, S., . . . Furie, K. Executive summary: Heart disease and stroke statistics—2010 update: A report from the american heart association. *Circulation*. 2010; 121 (7): 948-954.

Menzies, R. I., Booth, J. W., Mullins, J. J., Bailey, M. A., Tam, F. W., Norman, J. T., & Unwin, R. J. Hyperglycemia-induced renal p2x7 receptor activation enhances diabetes-related injury. *EBioMedicine*. 2017; 19: 73-83.

Miki, T., Yuda, S., Kouzu, H., & Miura, T. Diabetic cardiomyopathy: Pathophysiology and clinical features. *Heart failure reviews*. 2013; 18 (2): 149-166.

Milionis, H. J., & Elisaf, M. S. Therapeutic management of hyperglycaemic hyperosmolar syndrome. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2005; 6 (11): 1841-1849.

Millán, J. L. Alkaline phosphatases. *Purinergic signalling*. 2006; 2 (2): 335.

Min, J.-K., Kim, Y.-M., Kim, S. W., Kwon, M.-C., Kong, Y.-Y., Hwang, I. K., . . . Kwon, Y.-G. Tnf-related activation-induced cytokine enhances leukocyte adhesiveness: Induction of icam-1 and vcam-1 via tnf receptor-associated factor and protein kinase c-dependent nf- κ b activation in endothelial cells. *The Journal of Immunology*. 2005; 175 (1): 531-540.

Montagnani, M., Golovchenko, I., Kim, I., Koh, G. Y., Goalstone, M. L., Mundhekar, A. N., . . . Draznin, B. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances mitogenic actions of insulin in endothelial cells. *J Biol Chem*. 2002; 277 (3): 1794-1799.

Motoshima, H., Wu, X., Mahadev, K., & Goldstein, B. J. Adiponectin suppresses proliferation and superoxide generation and enhances enos activity in endothelial cells treated with oxidized ldl. *Biochemical and biophysical research communications*. 2004; 315 (2): 264-271.

Mytas, D. Z., Stougiannos, P. N., Zairis, M. N., Foussas, S. G., Pyrgakis, V. N., & Kyriazis, I. A. Diabetic myocardial disease: Pathophysiology, early diagnosis and therapeutic options. *J Diabetes Complications*. 2009; 23 (4): 273-282.

Nassi, A., Malorgio, F., Tedesco, S., Cignarella, A., & Gaion, R. M. Upregulation of inducible no synthase by exogenous adenosine in vascular smooth muscle cells activated by inflammatory stimuli in experimental diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2016; 15: 32.

Navarro, G., Cordoní, A., Zelman-Femiak, M., Brugarolas, M., Moreno, E., Aguinaga, D., . . . Mallol, J. Quaternary structure of a g-protein-coupled receptor heterotetramer in complex with g i and g s. *BMC biology*. 2016; 14 (1): 26.

Nentwich, M. M., & Ulbig, M. W. Diabetic retinopathy-ocular complications of diabetes mellitus. *World journal of diabetes*. 2015; 6 (3): 489.

Newby, A. C. Adenosine and the concept of 'retaliatory metabolites'. *Trends in Biochemical Sciences*. 1984; 9 (2): 42-44.

Niiranen, T. J., Kalesan, B., Hamburg, N. M., Benjamin, E. J., Mitchell, G. F., & Vasan, R. S. Relative contributions of arterial stiffness and hypertension to cardiovascular disease: The framingham heart study. *J Am Heart Assoc*. 2016; 5 (11).

Nori, S., Fumagalli, L., Bo, X., Bogdanov, Y., & Burnstock, G. Coexpression of mrnas for p2x1, p2x2 and p2x4 receptors in rat vascular smooth muscle: An in situ hybridization and rt-pcr study. *Journal of vascular research*. 1998; 35 (3): 179-185.

North, R. A. Molecular physiology of p2x receptors. *Physiol Rev*. 2002a; 82 (4): 1013-1067.

North, R. A. Molecular physiology of p2x receptors. *Physiological reviews*. 2002b; 82 (4): 1013-1067.

Oliveira, S. D., Coutinho-Silva, R., & Silva, C. L. Endothelial p2x7 receptors' expression is reduced by schistosomiasis. *Purinergic Signal*. 2013; 9 (1): 81-89.

Ostrom, R. S., Gregorian, C., & Insel, P. A. Cellular release of and response to atp as key determinants of the set-point of signal transduction pathways. *Journal of Biological Chemistry*. 2000; 275 (16): 11735-11739.

Othman, T., Yan, H., & Rivkees, S. A. Oligodendrocytes express functional a1 adenosine receptors that stimulate cellular migration. *Glia*. 2003; 44 (2): 166-172.

Pankratov, Y., Lalo, U., Castro, E., Miras-Portugal, M. T., & Krishtal, O. (1999). Atp receptor-mediated component of the excitatory synaptic transmission in the hippocampus. *In Progress in brain research* (Vol. 120, pp. 237-249): Elsevier.

Papadopoulou-Marketou, N., Chrousos, G. P., & Kanaka-Gantenbein, C. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes: A review of early natural history, pathogenesis, and diagnosis. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2017; 33 (2): e2841.

Parasuraman, S., & Raveendran, R. Measurement of invasive blood pressure in rats. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*. 2012; 3 (2): 172.

Pasceri, V., Chang, J., Willerson, J. T., & Yeh, E. T. Modulation of c-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation*. 2001; 103 (21): 2531-2534.

Pasceri, V., Willerson, J. T., & Yeh, E. T. Direct proinflammatory effect of c-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000; 102 (18): 2165-2168.

Pathak, L. A., Shirodkar, S., Ruparelia, R., & Rajebahadur, J. Coronary artery disease in women. *Indian Heart J*. 2017; 69 (4): 532-538.

Pedata, F., Dettori, I., Coppi, E., Melani, A., Fusco, I., Corradetti, R., & Pugliese, A. M. Purinergic signalling in brain ischemia. *Neuropharmacology*. 2016; 104: 105-130.

Phillips, J. K., & Hill, C. E. Neuroreceptor mRNA expression in the rat mesenteric artery develops independently of innervation. *Int J Dev Neurosci*. 1999; 17 (4): 377-386.

Polovina, M. M., & Potpara, T. S. Endothelial dysfunction in metabolic and vascular disorders. *Postgraduate medicine*. 2014; 126 (2): 38-53.

Ponnoth, D. S., Nadeem, A., Tilley, S., & Mustafa, S. J. Involvement of $\alpha 1$ adenosine receptors in altered vascular responses and inflammation in an allergic mouse model of asthma. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2010; 299 (1): H81-H87.

Potenza, M. A., Marasciulo, F. L., Chieppa, D. M., Brigiani, G. S., Formoso, G., Quon, M. J., & Montagnani, M. Insulin resistance in spontaneously hypertensive rats is associated with endothelial dysfunction characterized by imbalance between NO and ET-1 production. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005; 289 (2): H813-822.

Pozzilli, P., & Buzzetti, R. A new expression of diabetes: Double diabetes. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2007; 18 (2): 52-57.

Radovits, T., Korkmaz, S., Loganathan, S., Barnucz, E., Bomicke, T., Arif, R., . . . Szabo, G. Comparative investigation of the left ventricular pressure-volume relationship in rat models of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009; 297 (1): H125-133.

Raev, D. C. Which left ventricular function is impaired earlier in the evolution of diabetic cardiomyopathy? An echocardiographic study of young type i diabetic patients. *Diabetes Care*. 1994; 17 (7): 633-639.

Ralevic, V. P2x receptors in the cardiovascular system. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling*. 2012; 1 (5): 663-674.

Ralevic, V. P2x receptors in the cardiovascular system and their potential as therapeutic targets in disease. *Current medicinal chemistry*. 2015a; 22 (7): 851-865.

Ralevic, V. P2x receptors in the cardiovascular system and their potential as therapeutic targets in disease. *Curr Med Chem*. 2015b; 22 (7): 851-865.

Ralevic, V., & Dunn, W. R. Purinergic transmission in blood vessels. *Auton Neurosci*. 2015; 191: 48-66.

Ramirez, A. N., & Kunze, D. L. P2x purinergic receptor channel expression and function in bovine aortic endothelium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002; 282 (6): H2106-2116.

Randle, P. J., Garland, P. B., Hales, C. N., & Newsholme, E. A. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*. 1963; 1 (7285): 785-789.

Randle, P. J., Newsholme, E. A., & Garland, P. B. Regulation of glucose uptake by muscle. 8. Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, and of alloxan-diabetes and

starvation, on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. *Biochem J.* 1964; 93 (3): 652-665.

Ray, F. R., Huang, W., Slater, M., & Barden, J. A. Purinergic receptor distribution in endothelial cells in blood vessels: A basis for selection of coronary artery grafts. *Atherosclerosis.* 2002; 162 (1): 55-61.

Read, M. A., Whitley, M. Z., Williams, A. J., & Collins, T. Nf-kappa b and i kappa b alpha: An inducible regulatory system in endothelial activation. *Journal of Experimental Medicine.* 1994; 179 (2): 503-512.

Reddy, M. A., Park, J. T., & Natarajan, R. (2013). *Epigenetic modifications in the pathogenesis of diabetic nephropathy.* Paper presented at the Seminars in nephrology.

Rosenbloom, A. L. Hyperglycemic hyperosmolar state: An emerging pediatric problem. *The Journal of pediatrics.* 2010; 156 (2): 180-184.

Sartoretto, J. L., Oliveira, M. A., Nigro, D., Carvalho, M. H. C., Tostes, R. C., & Fortes, Z. B. Constrictor responses to noradrenaline, hemodynamic profile, and superoxide levels measured by hydroethidine oxidation in diabetic rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 2007; 30 (10): 1938-1942.

Sawynok, J. (2015). Adenosine receptor targets for pain. *Neuroscience*, published online october 21, 2015. In.

Schalkwijk, C. Vascular complications in diabetes mellitus: The role of endothelial dysfunction. *Clinical science.* 2005; 109 (2): 143-159.

Scherrer, U., Randin, D., Vollenweider, P., Vollenweider, L., & Nicod, P. Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. *J Clin Invest.* 1994; 94 (6): 2511-2515.

Schulte, G., & Fredholm, B. B. Human adenosine a1, a2a, a2b, and a3 receptors expressed in chinese hamster ovary cells all mediate the phosphorylation of extracellular-regulated kinase 1/2. *Molecular pharmacology.* 2000; 58 (3): 477-482.

Schulte, G., & Fredholm, B. B. Signalling from adenosine receptors to mitogen-activated protein kinases. *Cellular signalling*. 2003; 15 (9): 813-827.

Schwiebert, E. M., & Zsembery, A. Extracellular atp as a signaling molecule for epithelial cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2003; 1615 (1-2): 7-32.

Schwiebert, L. M., Rice, W. C., Kudlow, B. A., Taylor, A. L., & Schwiebert, E. M. Extracellular atp signaling and p2x nucleotide receptors in monolayers of primary human vascular endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002; 282 (2): C289-301.

Shaw, J. E., Sicree, R. A., & Zimmet, P. Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010; 87 (1): 4-14.

Shen, J. B., Cronin, C., Sonin, D., Joshi, B. V., Gongora Nieto, M., Harrison, D., . . . Liang, B. T. P2x purinergic receptor-mediated ionic current in cardiac myocytes of calsequestrin model of cardiomyopathy: Implications for the treatment of heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007; 292 (2): H1077-1084.

Shoelson, S. E., Lee, J., & Goldfine, A. B. Inflammation and insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*. 2006; 116 (7): 1793-1801.

Silinsky, E. M., & Gerzanich, V. On the excitatory effects of atp and its role as a neurotransmitter in coeliac neurons of the guinea-pig. *The Journal of Physiology*. 1993; 464 (1): 197-212.

Singleton, J. R., & Smith, A. G. Neuropathy associated with prediabetes: What is new in 2007? *Current diabetes reports*. 2007; 7 (6): 420-424.

Sivaprasad, S., Gupta, B., Crosby-Nwaobi, R., & Evans, J. Prevalence of diabetic retinopathy in various ethnic groups: A worldwide perspective. *Survey of ophthalmology*. 2012; 57 (4): 347-370.

Sneddon, P., & Burnstock, G. Inhibition of excitatory junction potentials in guinea-pig vas deferens by α , β -methylene-atp: Further evidence for atp and noradrenaline as cotransmitters. *European journal of pharmacology*. 1984; 100 (1): 85-90.

Sobngwi, E., Mauvais-Jarvis, F., Vexiau, P., Mbanya, J., & Gautier, J. Diabetes in africans. Part 2: Ketosis-prone atypical diabetes mellitus. *Diabetes & metabolism*. 2002; 28 (1): 5-12.

Sohn, E. H., van Dijk, H. W., Jiao, C., Kok, P. H., Jeong, W., Demirkaya, N., . . . van Velthoven, M. E. Retinal neurodegeneration may precede microvascular changes characteristic of diabetic retinopathy in diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016; 113 (19): E2655-E2664.

Solymoss, B. C., Bourassa, M. G., Lespérance, J., Levesque, S., Marcil, M., Varga, S., & Campeau, L. Incidence and clinical characteristics of the metabolic syndrome in patients with coronary artery disease. *Coronary artery disease*. 2003; 14 (3): 207-212.

Sorrentino, F. S., Matteini, S., Bonifazzi, C., Sebastiani, A., & Parmeggiani, F. Diabetic retinopathy and endothelin system: Microangiopathy versus endothelial dysfunction. *Eye*. 2018; 32 (7): 1157.

Stenberg, D., Litonius, E., Halldner, L., Johansson, B., Fredholm, B. B., & Porkka-Heiskanen, T. Sleep and its homeostatic regulation in mice lacking the adenosine a1 receptor. *Journal of sleep research*. 2003; 12 (4): 283-290.

Stentz, F. B., Umpierrez, G. E., Cuervo, R., & Kitabchi, A. E. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes*. 2004; 53 (8): 2079-2086.

Stern, D. M., Du Yan, S., Yan, S. F., & Schmidt, A. M. Receptor for advanced glycation endproducts (rage) and the complications of diabetes. *Ageing research reviews*. 2002; 1 (1): 1-15.

Strain, W. D., & Paldanius, P. Diabetes, cardiovascular disease and the microcirculation. *Cardiovascular diabetology*. 2018; 17 (1): 57.

Strawbridge, A. B., & Elmendorf, J. S. Endothelin-1 impairs glucose transporter trafficking via a membrane-based mechanism. *Journal of cellular biochemistry*. 2006; 97 (4): 849-856.

Sumner, C., Sheth, S., Griffin, J., Cornblath, D., & Polydefkis, M. The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance. *Neurology*. 2003; 60 (1): 108-111.

Sun, Y., & Huang, P. Adenosine a2b receptor: From cell biology to human diseases. *Frontiers in chemistry*. 2016; 4: 37.

Sylte, M. J., Kuckleburg, C. J., Inzana, T. J., Bertics, P. J., & Czuprynski, C. J. Stimulation of p2x receptors enhances lipooligosaccharide-mediated apoptosis of endothelial cells. *Journal of leukocyte biology*. 2005; 77 (6): 958-965.

Tervaert, T. W. C., Mooyaart, A. L., Amann, K., Cohen, A. H., Cook, H. T., Drachenberg, C. B., . . . de Heer, E. Pathologic classification of diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2010; 21 (4): 556-563.

TERZİ, M., & CENGİZ, N. Diyabetik nöropati. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2009; 21 (1).

Tsuzaki, M., Bynum, D., Almekinders, L., Yang, X., Faber, J., & Banes, A. Atp modulates load-inducible il-1 β , cox 2, and mmp-3 gene expression in human tendon cells. *Journal of cellular biochemistry*. 2003; 89 (3): 556-562.

Tuttle, K. R. Back to the future: Glomerular hyperfiltration and the diabetic kidney. *Diabetes*. 2017; 66 (1): 14-16.

v. Mering, J., & Minkowski, O. Diabetes mellitus nach pankreasexstirpation. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 1890; 26 (5): 371-387.

van den Oever, I. A., Raterman, H. G., Nurmohamed, M. T., & Simsek, S. Endothelial dysfunction, inflammation, and apoptosis in diabetes mellitus. *Mediators of inflammation*. 2010; 2010.

Vareniuk, I., Pavlov, I., & Obrosova, I. Inducible nitric oxide synthase gene deficiency counteracts multiple manifestations of peripheral neuropathy in a streptozotocin-induced mouse model of diabetes. *Diabetologia*. 2008; 51 (11): 2126-2133.

Venugopal, S. K., Devaraj, S., Yuhanna, I., Shaul, P., & Jialal, I. Demonstration that c-reactive protein decreases enos expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation*. 2002; 106 (12): 1439-1441.

Verkhrasky, A., Krishtal, O. A., & Burnstock, G. Purinoceptors on neuroglia. *Molecular neurobiology*. 2009; 39 (3): 190-208.

Verkhratsky, A., & Burnstock, G. Biology of purinergic signalling: Its ancient evolutionary roots, its omnipresence and its multiple functional significance. *Bioessays*. 2014; 36 (7): 697-705.

Verzija, D., & Ijzerman, A. P. Functional selectivity of adenosine receptor ligands. *Purinergic Signal*. 2011; 7 (2): 171-192.

Visovatti, S. H., Hyman, M. C., Goonewardena, S. N., Anyanwu, A. C., Kanthi, Y., Robichaud, P., . . . Pinsky, D. J. Purinergic dysregulation in pulmonary hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2016; 311 (1): H286-298.

von Kügelgen, I., & Harden, T. K. (2011). Molecular pharmacology, physiology, and structure of the p2y receptors. In *Advances in pharmacology* (Vol. 61, pp. 373-415): Elsevier.

Vonend, O., Okonek, A., Stegbauer, J., Habel, S., Quack, I., & Rump, L. C. Renovascular effects of sympathetic cotransmitters atp and npy are age-dependent in spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Res*. 2005; 66 (2): 345-352.

Wallace, A., Knight, G. E., Cowen, T., & Burnstock, G. Changes in purinergic signalling in developing and ageing rat tail artery: Importance for temperature control. *Neuropharmacology*. 2006; 50 (2): 191-208.

Wang, C.-H., Li, S.-H., Weisel, R. D., Fedak, P. W., Dumont, A. S., Szmítko, P., . . . Verma, S. C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle. *Circulation*. 2003; 107 (13): 1783-1790.

Wang, J., Song, Y., Wang, Q., Kralik, P. M., & Epstein, P. N. Causes and characteristics of diabetic cardiomyopathy. *Rev Diabet Stud.* 2006; 3 (3): 108-117.

Wang, L., Karlsson, L., Moses, S., Hultgardh-Nilsson, A., Andersson, M., Borna, C., . . . Erlinge, D. P2 receptor expression profiles in human vascular smooth muscle and endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2002; 40 (6): 841-853.

Wang, L., Karlsson, L., Moses, S., Hultgårdh-Nilsson, A., Andersson, M., Borna, C., . . . Erlinge, D. P2 receptor expression profiles in human vascular smooth muscle and endothelial cells. *Journal of cardiovascular pharmacology.* 2002; 40 (6): 841-853.

Wang, Q., Huang, R., Yu, B., Cao, F., Wang, H., Zhang, M., . . . Zhu, Z. Higher fetal insulin resistance in chinese pregnant women with gestational diabetes mellitus and correlation with maternal insulin resistance. *PLoS One.* 2013; 8 (4): e59845.

Watt, W. C., Lazarowski, E. R., & Boucher, R. C. Cystic fibrosis transmembrane regulator-independent release of atp its implications for the regulation of p2y2receptors in airway epithelia. *Journal of Biological Chemistry.* 1998; 273 (22): 14053-14058.

Way, K., Katai, N., & King, G. Protein kinase c and the development of diabetic vascular complications. *Diabetic Medicine.* 2001; 18 (12): 945-959.

Wilkin, T. J. The accelerator hypothesis: A review of the evidence for insulin resistance as the basis for type i as well as type ii diabetes. *Int J Obes (Lond).* 2009; 33 (7): 716-726.

Williams, B., Gallacher, B., Patel, H., & Orme, C. Glucose-induced protein kinase c activation regulates vascular permeability factor mrna expression and peptide production by human vascular smooth muscle cells in vitro. *Diabetes.* 1997; 46 (9): 1497-1503.

Wilson, H., Varcoe, R., Stokes, L., Holland, K., Francis, S., Dower, S., . . . Crossman, D. P2x receptor characterization and il-1/il-1ra release from human endothelial cells. *British journal of pharmacology.* 2007a; 151 (1): 96-108.

Wilson, H. L., Varcoe, R. W., Stokes, L., Holland, K. L., Francis, S. E., Dower, S. K., . . . Crossman, D. C. P2x receptor characterization and il-1/il-1ra release from human endothelial cells. *Br J Pharmacol.* 2007b; 151 (1): 115-127.

Xu, J., & Khakh, B. S. Slow neuromodulation mediated by atp p2x receptors. *Neuron.* 2014; 83 (2): 257-259.

Yalow, R. S., & Berson, S. A. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *The Journal of clinical investigation.* 1960; 39 (7): 1157-1175.

Yamamoto, K., Sokabe, T., Matsumoto, T., Yoshimura, K., Shibata, M., Ohura, N., . . . Kato, S. Impaired flow-dependent control of vascular tone and remodeling in p2x4-deficient mice. *Nature medicine.* 2006; 12 (1): 133.

Yegutkin, G. G. Nucleotide-and nucleoside-converting ectoenzymes: Important modulators of purinergic signalling cascade. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research.* 2008; 1783 (5): 673-694.

Yoshida, H., Kobayashi, D., Ohkubo, S., & Nakahata, N. Atp stimulates interleukin-6 production via p2y receptors in human hacat keratinocytes. *European journal of pharmacology.* 2006; 540 (1-3): 1-9.

Zaccardi, F., Webb, D. R., Yates, T., & Davies, M. J. Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: A 90-year perspective. *Postgrad Med J.* 2016; 92 (1084): 63-69.

Zhang, L., Long, J., Jiang, W., Shi, Y., He, X., Zhou, Z., . . . Matsushita, K. Trends in chronic kidney disease in china. *New England Journal of Medicine.* 2016; 375 (9): 905-906.

Zheng, L., Du, Y., Miller, C., Gubitosi-Klug, R., Kern, T., Ball, S., & Berkowitz, B. Critical role of inducible nitric oxide synthase in degeneration of retinal capillaries in mice with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 2007; 50 (9): 1987-1996.

Zimmermann, H. Nucleotide signaling in nervous system development. *Pflügers Archiv.* 2006; 452 (5): 573-588.

Zimmermann, H., Zebisch, M., & Sträter, N. Cellular function and molecular structure of ecto-nucleotidases. *Purinergic signalling*. 2012; 8 (3): 437-502.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Günel	Uyruğu	Azerbaycan
Soyadı	ABDULLAYEVA	Tel no	05050773139
Doğum tarihi	16.11.1988	e-posta	gunel.pasha@hotmail.com

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	Azerbaycan 5 numaralı okul	2004
Lisans	Azerbaycan Devlet Pedogoji Üniversitesi	2011
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı	-