

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOZOTOSİN İLE İNDÜKLENEN DİYABETLİ SIÇAN  
AORT VE KORPUS CAVERNOSUM DOKULARINDA  
MİTOTEMPO'NUN ENDOTEL ÜZERİNE MUHTEMEL  
KORUYUCU ETKİSİ**

ESER YILDIZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Burak Cem SONER

KONYA 2019

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOZOTOSİN İLE İNDÜKLENEN DİYABETLİ SIÇAN  
AORT VE KORPUS CAVERNOSUM DOKULARINDA  
MİTOTEMPO'NUN ENDOTEL ÜZERİNE MUHTEMEL  
KORUYUCU ETKİSİ**

ESER YILDIZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Burak Cem SONER

KONYA 2019

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **ESER YILDIZ**' ın “**Streptozotosin İle İndüklenen Diyabetli Sıçan Aort ve Korpus Cavernosum Dokularında Mitotempo'nun Endotel Üzerine Muhtemel Koruyucu Etkisi**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya,Türkiye/

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Burak Cem SONER

İzmir Demokrasi Üniversitesi

Tıbbi Farmakoloji A.D

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

N.E.Ü. Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji A.D



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Hülagü BARIŞKANER

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji A.D



Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 01/08/2019, tarih ve 16/01 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü



## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “**Possible Protective Effect Of Mitotempo On Endothelium In Rat Aortic And Corpus cavernosum Tissues Induced By Streptozotocin**” by “**Eser YILDIZ**” that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of **Master of Science** in department of “**Tibbi Farmakoloji Anabilim Dalı**” Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan

Konya,Turkey

Principal Advisor

Assoc. Prof. Dr. Burak Cem SONER

I.D.U. Medicine Faculty, Department of Medical Pharmacology

Examination Committee Member

Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

N.E.U. Medicine Faculty

Department of Medical Pharmacology



Examination Committee Member

Prof. Dr. Hülâgü BARIŞKANER

Selçuk U. Medicine Faculty

Department of Medical Pharmacology



This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences



## BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurullar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aktardığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

24.06.2019

Eser YILDIZ



[Ödevler](#)[Öğrenciler](#)[Not Defteri](#)[Kütüphaneler](#)[Takvim](#)[Tartışma](#)[Tercihler](#)

Bu sayfa hakkında

Bu sizin ödev kutunuzdur. Bir yazılı ödevi görüntülemek için yazılı ödevin başlığını seçin. Bir Benzerlik Raporunu görüntülemek için yazılı ödevin benzerlik sütunundaki Benzerlik Raporu ikonunu seçin. Tıklanabilir durumda olmayan bir ikon Benzerlik Raporunun henüz oluşturulmadığını gösterir.

tez

## Gelen Kutusu | Görüntüleniyor: yeni ödevler ▼

Dosyayı Gönder Çevrimiçi Derecelendirme Raporu | Ödev ayarlarını düzenle | E-posta bildirmeyenler

[Sil](#) [İndir](#) [Şuraya taşı...](#)

| <input type="checkbox"/> | Yazar       | Başlık                                      | Benzerlik | web | yayın | student papers | Puanla | cevap | Dosya      | Ödev Numarası | Tarih       |
|--------------------------|-------------|---------------------------------------------|-----------|-----|-------|----------------|--------|-------|------------|---------------|-------------|
| <input type="checkbox"/> | eser yıldız | Streptozotosin ile İndüklenen Diyabetli ... | %3<br>%3  | 1%  | 0%    | 3%             | --     | --    | ödev indir | 1143365576    | 13-Haz-2019 |

Doç.Dr. Burak Cem SONER

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans eğitim süresince ve özellikle tez çalışmam sırasında değerli vakti ve deneyimleriyle bana yol gösteren destek olan ilgisini ve önerilerini esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Burak Cem SONER'e sonsuz teşekkür ver saygılarımı sunarım. Eğitimim boyunca bilimsel destekleri için Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN'e ve Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK'a, Doç. Dr. Salim İnan'a, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KILIÇ'a ve Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|                                                                           |      |
|---------------------------------------------------------------------------|------|
| <i>İçerik</i> .....                                                       | i    |
| <i>Tez Onay Sayfası</i> .....                                             | ii   |
| <i>Approval</i> .....                                                     | iii  |
| <i>Beyanat</i> .....                                                      | iv   |
| <i>Teşekkür</i> .....                                                     | v    |
| <i>İçindekiler</i> .....                                                  | vi   |
| <i>Şekiller Listesi</i> .....                                             | viii |
| <i>Kısaltmalar Listesi</i> .....                                          | ix   |
| <i>Özet</i> .....                                                         | x    |
| <i>Abstract</i> .....                                                     | xi   |
| <b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....                                             | 1    |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....                                            | 2    |
| 2.1. Diyabet .....                                                        | 2    |
| 2.2. Sınıflandırılması .....                                              | 2    |
| 2.2.1. Tip 1 diyabet .....                                                | 2    |
| 2.2.2. Tip 2 Diyabet .....                                                | 2    |
| 2.2.3. Gestasyonel Diyabet .....                                          | 2    |
| 2.3. Epidemiyolojisi .....                                                | 2    |
| 2.4. Diyabet Tanı Kriterleri .....                                        | 3    |
| 2.5. Komplikasyonları .....                                               | 4    |
| 2.5.1. Diyabetik Retinopati .....                                         | 4    |
| 2.5.2. Diyabetik Nöropati .....                                           | 4    |
| 2.5.3. Diyabetik Nefropati .....                                          | 4    |
| 2.6. Makrovasküler Komplikasyonlar .....                                  | 4    |
| 2.6.1. Serebrovasküler Hastalık .....                                     | 5    |
| 2.6.2. Periferik Arter Hastalığı .....                                    | 5    |
| 2.7. Endotelial Disfonksiyon ve Diyabet .....                             | 5    |
| 2.8. Erektile Disfonksiyon ve Diyabet .....                               | 8    |
| 2.9. Diyabet ve Oksidatif Stres .....                                     | 10   |
| 2.9.1. Hiperglisemi Nedenli Oksidatif Stresin Moleküler Mekanizması ..... | 10   |
| 2.9.2. Hiperglisemi Kaynaklı Mitokondriyal Oksidatif Stres .....          | 11   |
| 2.10. Oksidatif Stres ve Endotelial Disfonksiyon .....                    | 12   |

|           |                                                                                               |           |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.11.     | Oksidatif Stres Ve Eretil Disfonksiyon .....                                                  | 14        |
| 2.12.     | Mitokondriyal Atioksidan sistemler .....                                                      | 16        |
| 2.13.     | Mitotempo Hakında Genel Bilgiler .....                                                        | 18        |
| <b>3.</b> | <b>GEREÇ ve YÖNTEMLER .....</b>                                                               | <b>19</b> |
| 3.1.      | Etik Kurul Onayı, Sıçanların Gruplandırılması .....                                           | 19        |
| 3.2.      | İzole Organ Banyosu Deney Protokolü .....                                                     | 19        |
| 3.3.      | Kullanılan Aygıtlar .....                                                                     | 20        |
| 3.3.1.    | İzole Organ Banyosu .....                                                                     | 20        |
| 3.3.2.    | Force displacement transducer .....                                                           | 21        |
| 3.3.3.    | Sirkülatörlü su banyosu .....                                                                 | 21        |
| 3.3.4.    | İzole Organ Banyosu Seti .....                                                                | 21        |
| 3.4.      | Kullanılan Kimyasallar .....                                                                  | 21        |
| 3.5.      | Verilerin Analizi .....                                                                       | 21        |
| <b>4.</b> | <b>BULGULAR .....</b>                                                                         | <b>23</b> |
| 4.1.      | Kan Glikoz Düzeyleri .....                                                                    | 23        |
| 4.2.      | Aorta Dokusunun Fenilefrin ile Kasılma Yanıtları .....                                        | 23        |
| 4.3.      | Aorta Dokusu Fenilefrin Kasılması Sonrası Asetilkolin ile Gevşeme Yanıtları .....             | 24        |
| 4.4.      | Korpus Kavernozum dokusu Fenilefrin ile Kasılma Yanıtları .....                               | 24        |
| 4.5.      | Korpus Kavernozum Dokusu Fenilefrin Kasılması Sonrası Asetilkolin İle Gevşeme Yanıtları ..... | 25        |
| <b>5.</b> | <b>TARTIŞMA .....</b>                                                                         | <b>26</b> |
| <b>6.</b> | <b>SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>                                                                | <b>28</b> |
| <b>7.</b> | <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                                        | <b>29</b> |
| <b>8.</b> | <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                                                         | <b>33</b> |
| <b>9.</b> | <b>EKLER .....</b>                                                                            | <b>34</b> |
| 9.1.      | Etik Onay .....                                                                               | 34        |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

**Şekil 1:** Hiperglisemi nedenli endotel disfonksiyon ve oksidatif stres

**Şekil 2:** Ereksiyon mekanizması

**Şekil 3:** Hiperglisemik şartlar altında mitokondrital süperoksit üretimi

**Şekil 4:** Vasküler fonksiyonda oksidatif stres ve nitrik oksit etkisinin dengesi

**Şekil 5:** ROS üretimi ve dismutasyon

**Şekil 6:** Mitotempo antioksidan mekanizması

**Şekil 7:** Deney protokolünün başlamasının ardından haftalık ölçülen kan glikoz değerleri

**Şekil 8:** Kontrol grubu, diyabetik grup (DM) ve diyabet ile mitotempo tedavisinin birlikte uygulandığı gruplara ait aorta FE kasılma yanıtları.

**Şekil 9:** Kontrol grubu, diyabetik grup (DM) ve diyabet ile mitotempo tedavisinin birlikte uygulandığı gruplara ait korpus kavernosum dokusuna ait FE kasılma yanıtları.

## **KISALTMALAR LİSTESİ**

**Ach:** Asetilkolin

**AGE:** İleri glikasyon ürünleri

**AT II:** Anjiyotensin II

**ED:** Eretil disfonksiyon

**FE:** Fenilefrin

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Hidrojen peroksit

**KK:** Korpus kavernosum

**NO:** Nitrik oksit

**NOS:** Nitrik oksit sentaz

**eNOS:**Endotelial nitrik oksit sentaz

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>:** Süperoksit radikali

**ROS:** Reaktif oksijen türleri

**SOD:** Süperoksit dismutaz

## ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Streptozotosin İle İndüklenen Diyabetli Sıçan Aort ve KorpusCavernosum  
Dokularında Mitotempo'nun Endotel Üzerine Muhtemel Koruyucu Etkisi

Eser YILDIZ

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ/KONYA 2019

Bu çalışmada streptozotosin ile indüklenen diyabetli sıçanlara 4hafta boyunca 0.7mg/kg oral gavaj yoluyla mitotempo uygulanarak diyabetin oluşturduğu endotelial disfonksiyon ve erektil disfonksiyon üzerine etkileri incelenmiştir.

Kontrol grubu, diyabet grubu ve diyabet + mitotempo uygulanmış olan gruplardan sakrifiye edildikten sonra elde edilen torasik aortlar ve korpus kavernosumlar 37 °C'de sabit tutulan ve %95 O<sub>2</sub>+%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan 10ml Krebs-Henseleit (KHS) içeren organ banyolarına alındı. Uygulanan prosedürlere verilen cevaplar izometrik olarak kaydedildi. 10<sup>-6</sup> M fenilefrin FE uygulanması ile doku kasılma yanıtlarında diyabetes mellitus (DM) grubu ile kontrol ve mitotempo grupları arasında hem aort hem de KK yanıtları anlamlı bir fark görülmemiştir. Doku kasılmasının ardından aort ve KK dokularında 10<sup>-9</sup> M ve 10<sup>-5</sup> M kümülatif Asetilkolin (Ach) uygulaması ile gevşeme yanıtları incelenmiştir. Ach kontrol grubunda ve diyabet + mitotempo grubunda diyabet grubuna kıyasla anlamlı olarak daha fazla gevşemeye neden olmuştur (p<0.05).

Bu sonuçlar streptozotosin ile indüklenen diyabetli sıçanlarda mitotempo uygulamasının torasik aortlar ve korpus kavernosumlarda Ach ile gevşeme yanıtlarını artırarak diyabetin oluşturduğu endotelial disfonksiyon ve erektil disfonksiyonda etkili olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:**Diyabet;endotelial disfonksiyon; erektil disfonksiyon;mitotempo;streptozotosin

## ABSTRACT

REPUBLIC of TURKEY

NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

Possible Protective Effect of Mitotempo on Endothelium in Rat Aortic and Corpus  
Cavernosum Tissues Induced by Streptozotocin

Eser Yıldız

Department of Medical Pharmacology

MASTER'S THESIS/KONYA 2019

The aim of this study was to investigate the effects of endothelial dysfunction and erectile dysfunction by administering mitotempo by oral gavage of 0.7 mg / kg for 4 weeks to streptozotocin-induced diabetes rats.

After sacrificing the control group, the diabetic group and the diabetic and mitotempo treated groups, the obtained thoracic aortas and corpus cavernosums were taken containing 10ml Krebs-Henseleit (KHS), kept constant at 37° C and gasified with 95% O<sub>2</sub> and %5 CO<sub>2</sub>organ baths. Responses to the procedures were recorded isometric. There was no significant difference between DM and control and Mitotempo groups in the response to tissue contraction with 10<sup>-6</sup> M phenylephrine FE. After tissue contraction, relaxation responses of aortic and KK tissues by using 10<sup>-9</sup> M and 10<sup>-5</sup> M cumulative acetylcholine were examined. Ach caused significantly more relaxation in the control group and in the diabetes + mitotempo group than in the diabetes group (p<0.05).

These results indicate that mitotempo administration in streptozotocin-induced diabetic rats is effective in endothelial dysfunction and erectile dysfunction by increasing Ach relaxation responses in thoracic aorta and corpus cavernosum.

**Key words:** Diabetes mellitus; endothelial dysfunction; erectile dysfunction; mitotempo; streptozotocin

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diyabet karbonhidrat protein ve yağ metabolizmasını değiştirebilen kronik metabolik bir bozukluk olmakla birlikte kardiyovasküler hastalıklarda (KVH) önemli rol oynamaktadır. KVH dünyada ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Ayrıca DM'nin makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonları damar endoteli ve korpus kavernosum (KK) gibi çeşitli dokularda bozukluklara neden olmaktadır.

Endotel parakrin, endokrin ve otokrin fonksiyonları sahip olup ve fizyolojik koşullar altında vasküler homeostazinin devamı için gereklidir. Endotelial disfonksiyon normal endotel işleyişindeki yapısal ve/veya fonksiyonel değişiklikler olup KVH de rol alan önemli bir faktördür. Endotelial disfonksiyon vazodilatörlerin özellikle de nitrik oksit (NO) biyoaktivitesinde azalma veya anjiotensin II (AT II) gibi endotel kaynaklı vazokonstriktör faktörlerde artış ile karakterizedir. NO diyabette hiperglisemi sonucu ortaya çıkan serbest radikaller ile reaksiyona girerek biyoaktivitesi azalmaktadır ve vasküler NO biyoaktivitesindeki bozulmanın temel mekanizmanın bu olduğu düşünülmektedir.

Eretil disfonksiyon diyabetin genel bir komplikasyonudur ve erkeklerin hayat kalitesini düşürmektedir. Eretil disfonksiyon KVH'ların erken bir belirtici olup altında yatan temel patoloji endotelial disfonksiyon olarak tanımlanabilir. Yine hipergliseminin neden olduğu serbest radikal üretimine bağlı oksidatif stres (OS) penil endotelial hücrelerin işlevinin değişmesine ve vasküler homeostazinin bozulmasına neden olmaktadır.

Mitokondri fizyolojik koşullar altında süperoksit oluşturmakta ve temel antioksidan savunma sistemleri bu radikalleri nötralize etmektedir ancak hiperglisemi gibi durumlarda bu defans sistemi etkisiz kalabilmekte ve oksidatif stres meydana gelebilmektedir. Mitotempo mitokondriye özel bir antioksidan olup süper oksit dismutaz benzeri olarak görev yapmaktadır. Bu çalışmamızda diyabet ve diyabete bağlı OS ile oluşan endotelial disfonksiyon ve eretil disfonksiyona karşı mitotemponun etkinliği araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diyabet

Diabetes mellitus karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasını değiştirebilen kronik bir bozukluktur. Diyabet pankreasın  $\beta$  adacık hücrelerinin ileri veya bariz yetersizliği sonucu meydana gelen insülin sekresyon eksikliği veya periferel dokularda insülin alımında bir bozukluktan kaynaklanmaktadır (Scheen 2003).

### 2.2. Sınıflandırılması

#### 2.2.1. Tip 1 diyabet

Tip 1 diyabet  $\beta$  hücrelerinin otoimmün harabiyeti sonucunda meydana gelir. Tip 1 diyabet çoğunlukla çocuklarda görülmektedir ancak bazen yetişkinlerde de özellikle otuzlu ve kırklı yaşların sonlarında görülebilmektedir. Tip 1 diyabetli çocuklarda poliüri polidipsi ve yaklaşık üçte birinde görülen diyabetik ketoasidoz gibi semptomlar görülmektedir.

#### 2.2.2. Tip 2 Diyabet

Tüm diyabet olgularının %90-95'ini oluşturan tip 2 diyabetilerleyici bir şekilde  $\beta$  hücrelerinin harabiyeti sonucunda insülin sekresyonunda kayıp meydana gelmektedir. Tip 2 diyabete öncesinde insülin rezistansı eşlik etmektedir. İnsülin sekresyonundaki bozukluk inflamasyon ve genetik faktörler gibi diğer bileşenler ile ilişkilidir.

#### 2.2.3. Gestasyonel Diyabet

Gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterlerinde ilk kez tanı alan diyabet olguları gestasyonel diyabet olarak tanımlanırken birinci trimesterde diyabetin görülmesi halinde ise gebelik öncesi diyabet olarak tanımlanmalıdır (American Diabetes Association 2018).

### 2.3. Epidemiyolojisi

Uluslararası Diyabet Federasyonu'na (IDF) göre küresel olarak 20-79 yaş arası diyabetli hastaların sayısı 2017 yılında 425 milyon olarak belirlenmiş ve 2045 yılında ise bu sayının %48'lik bir artışla 629 milyona ulaşacağı

öngörülmektedir. En büyük artışlar, ekonomilerin düşük gelir seviyesinden orta gelir seviyesine geçtiği bölgelerde beklenmektedir. Küresel çapta, yıllık 727 milyar dolar, diyabet ve neden olduğu komplikasyonların tedavisi için harcanmaktadır; bu, sağlık hizmeti için harcanan her sekiz dolardan birine karşılık gelmektedir.

Ülkeler bazında bakıldığında, 2017 verilerine göre 20-79 yaş arası diyabet hastası sayısının en yüksek olduğu ülkeler Çin, Hindistan ve Amerika olarak sıralanmıştır. 2017 yılında ilk on ülke arasında Türkiye yokken, 2045 yılı tahmini için 11,2 milyon diyabet hastası ile Türkiye 10. sırada yer almaktadır. Türkiye, Avrupa'nın yaşa göre düzeltilmiş karşılaştırmalı en yüksek prevalansına (% 12,1) sahiptir (International Diabetes Federation 2017).

#### 2.4. Diyabet Tanı Kriterleri

Amerika Diyabet Derneği'ne (ADA) göre diyabetin rutin taramasında açlık kan şekeri kullanılmalıdır ancak tokluk kan şekeri, rastgele kan şekeri ve oral glikoz tolerans testi de kan şekeri tespiti için kullanılabilir. Diyabetin tanımı için aşağıdaki kriterlerden herhangi birisi uygulanmalıdır.

1.  $HgA1C \geq \% 6,5$  Test, NGSP sertifikalı ve DCCT testine standartlaştırılmış bir yöntem kullanılarak laboratuvarda yapılmalıdır.
2. En az sekiz saat öncesi kalori alınmamasının ardından açlık plazma glikozu değerinin  $\geq 126$  mg/dl (7,0 mmol/L) olması
3. Oral glikoz tolerans testinde iki saatlik plazma glikozu  $\geq 200$  mg/dl (11,1 mmol/l) olması. Test, Dünya Sağlık Örgütü'nün belirttiği şekilde, suda çözünmüş 75 g susuz glikoz eşdeğeri içeren bir glikoz yükü kullanılarak yapılmalıdır.
4. Diyabetin semptomları (poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybı vb) veya hiperglisemi krizi ile beraber plazma glikoz konsantrasyonu  $\geq 11,1$  mmol/l (200mg/dl)

1-3 arasındaki kriterlerden sonuç alındığında yine bu kriterler ile yapılan tekrar testleri ile doğrulanmalıdır (American Diabetes Association 2018).

## 2.5. *Komplikasyonları*

Diyabetin retinopati, nefropati ve nöropati gibi mikrovasküler ve iskemik kalp hastalığı, periferik vasküler hastalık ve serebrovasküler hastalık gibi makrovasküler komplikasyonlarla arasında güçlü bir bağ bulunmaktadır ve bu komplikasyonlar diyabet hastalarının yaklaşık üçte birinde doku ve organ hasarına neden olmaktadır (Prospective Diabetes Study 1991).

### 2.5.1. *Diyabetik Retinopati*

Diyabetik retinopati, diyabetin görme kaybına neden olan ana komplikasyonudur. Diyabetik retinopatinin klinik belirtileri retinada görülen vasküler bozukluklardır, görme kaybına neden olan en sık nedeni ise makular ödemdir.

### 2.5.2. *Diyabetik Nöropati*

Diyabet hastalarının yaklaşık olarak yarısında periferik nöropati bulunmaktadır. Ayrıca diyabet hastalarında sıklıkla kalp atışı ve vasküler kontrolde anormallik ile belirti veren kardiyovasküler otonomik disfonksiyonu gibi durumlara yol açabilen otonomik nöropati bulunmaktadır.

### 2.5.3. *Diyabetik Nefropati*

Diyabetik nefropati hem tip 1 diyabet hem de tip 2 diyabette görülen ilerleyici ve ciddi bir komplikasyondur. Diyabetik nefropatinin ilk belirtisi mikro albuminüri olup zamanla (idrarda atılan albümin seviyelerinin artışı ve ciddi renal bozukluk ile belirti veren) makroalbuminüriye dönüşmekte ve son dönem böbrek hastalığına neden olabilmektedir.

## 2.6. *Makrovasküler Komplikasyonlar*

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH) tip 2 diyabet hastalarının yaklaşık %70'inde ölüme neden olmaktadır. Diyabet hastaları, KVH'ye neden olabilen yaş obezite sigara kullanımı dislipidemi ve hipertansiyon gibi faktörler dışlandığında diyabeti olmayan insanlara göre KVH oluşma 4 kat daha fazla riske sahiptir.

### 2.6.1. Serebrovasküler Hastalık

Tip 1 diyabet ve tip 2 diyabet hastalarının serebrovasküler hastalıktan ölüm riskleri artmaktadır. KVH de olduğu gibi diyabetin varlığı intrakranyal ve ekstrakranyal (karotit arter gibi) ateroskleroz riskini artırarak serebrovasküler sirkülasyonu olumsuz etkilemektedir.

### 2.6.2. Periferik Arter Hastalığı

Periferik arter hastalığı özellikle egzersiz ve aktivitede intermitent klonokasyon ve ağrıya neden olabilen ve fonksiyonel bozukluğa yol açabilen alt ekstremite arterlerinde tıkanma ile karakterizedir (Cade 2008).

### 2.7. Endotelial Disfonksiyon ve Diyabet

Endotel uzun yıllar boyunca damar lümenini kaplayan tek katmanlı hücrelerden oluşan inert bir yapı olarak düşünülmüş ancak daha sonra önemli parakrin, endokrin ve otokrin fonksiyonları olduğu ve fizyolojik koşullar altında vasküler homeostazinin devamı için gerekli olduğu anlaşılmıştır (Vallance 2001).

Endotelin-1 (ET-1) (Yanagisawa ve ark.), AT II ve reaktif oksijen türleri (ROS) vazokonstriktör etkiye sahipken (Just ve ark. 2008) endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF), NO (Palmer ve ark. 1987) ve prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) (Moncada ve ark. 1976) gibi endotel kaynaklı faktörlerin vazodilatör ve anti proliferatif etkileri bulunmaktadır. Endotel hücreleri ayrıca antitrombik faktörler (NO ve PGI<sub>2</sub>) ve protrombik faktörler (von Willebrand faktör ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1)) üretir.

Endotel, vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon, düz kas hücrelerinin migrasyonu ve proliferasyonunun uyarılması ve inhibisyonu, fibrinoliz ve trombojenezis arasında dengeyi sağlayarak vasküler homeostazın ana düzenleyicisi olarak görev yapar (Félétou 2011). Bu dengenin bozulması endotelial disfonksiyona neden olmaktadır.

Endotelial disfonksiyon normal endotel işleyişindeki yapısal ve veya fonksiyonel değişiklikler olup KVH de rol alan önemli bir faktördür. Endotelial disfonksiyon vazodilatörlerin özellikle de NO'nun (Carrizzo ve ark.

2016)biyoaktivitesinde azalma veya AT II gibi endotel kaynaklı vazokonstriktör faktörlerde artış ile karakterizedir (Shi ve Vanhoutte 2017).

Diyabet birçok vasküler yatakta makro ve mikrosirkülasyona olan etkisinden dolayı sadece metabolik bir hastalık olmayıp ayrıca vasküler hastalık olarak da tanımlanmıştır. Diyabet ve KVH arasındaki ilişki iyi bir şekilde bilinmektedir(Nesto 2004).

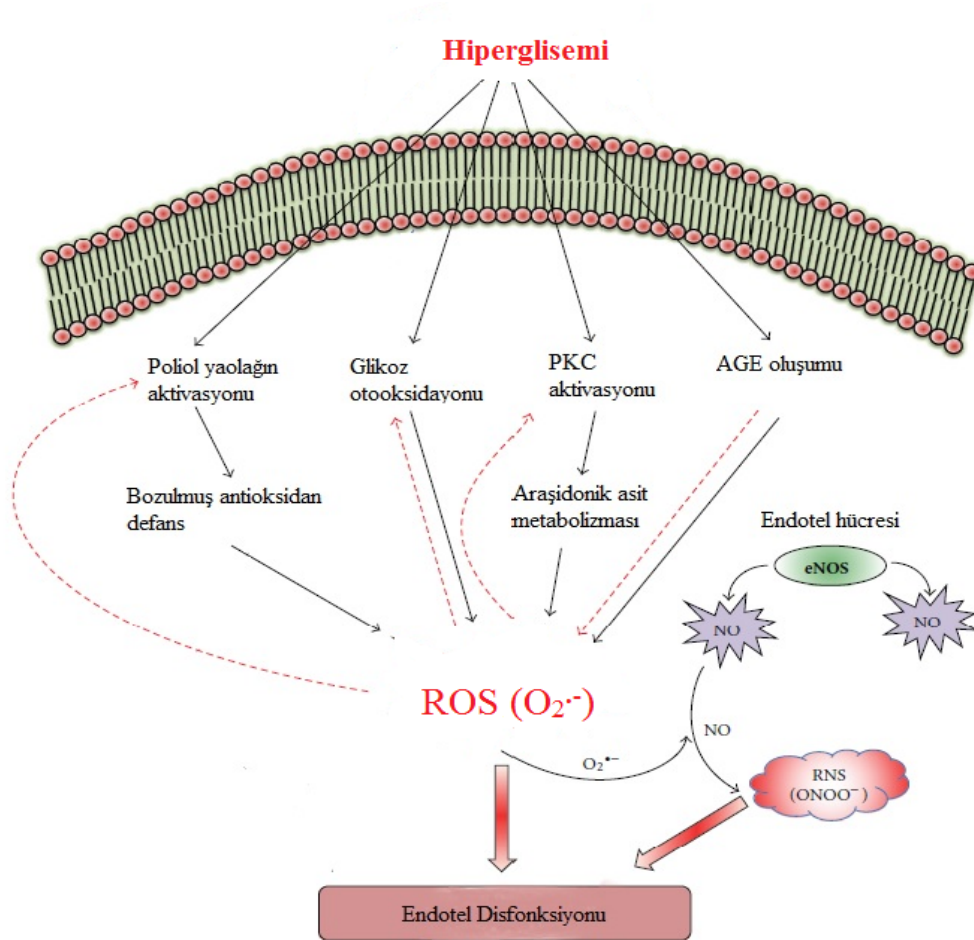
Tip 2 diyabet hiperlipidemi, öncelikle hiperinsülinemi ve bunu takiben  $\beta$  hücresi fonksiyon bozukluğu ile ortaya çıkan hiperglisemi gibi üç temel metabolik bozukluk ile karakterizedir (Poornima ve ark. 2006). Bu bozuklukların herbiri farklı medyatör moleküller üzerinden endotel disfonksiyona neden olan tetikleyici unsurlardır (Arcaro ve ark. 2002). Klinik olarak bu metabolik değişikliklerden hangisinin endotel disfonksiyona ne kadar katkıda bulunduğunu bilmek zor olsa da birçok kanıt bu metabolik değişiklikler nedeniyle oluşan oksidatif stresin (OS) endotel disfonksiyonda kilit rol oynadığını işaret etmektedir (Calles-Escandon ve Cipolla 2001).

Metabolik değişikliklerin içinde hiperglisemi, vasküler ve diğer komplikasyonlara neden olan birinci etken olarak görülmektedir. Hiperglisemi ile artan glikoz oksidasyonu ve mitokondriyal süperoksit anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ) sırasıyla DNA hasarına ve düzeltici enzim olan poli (ADP riboz) polimeraz (PARP) aktivasyonuna neden olmaktadır. PARP kaynaklı gliseraldehit fosfat dehidrojenazın (GAPDH) adenozin di fosfat (ADP) ribozilasyonu ve ardından glikozun glikolitik yoldan alternatif diğer yollara sapması, ileri glikasyon ürünlerinin (AGE) oluşumunun, heksozamin ve poliol yolağının aktivasyonun ve protein kinaz C (PKC) klasik izoformlarının aktivasyonunun artmasına neden olmaktadır ve bu faktörlerde hiperglisemi kaynaklı hücre hasarının sebepleri olarak düşünülmektedir (Poornima, Parikh, and Shannon 2006).

Biyolojik sistemlerde OS veya ROS artışı ROS artırıcı sistemlerin aktivasyonu ve/veya antioksidan defans sistemlerde azalma ile meydana gelmektedir (Samuel ve ark. 2010). Bu şekilde oluşan aşırı ROS daha sonra, hiperglisemiye bir cevap olarak ROS oluşumunu başlatan biyokimyasal yolların(glikozun otooksidasyonu, AGE oluşumu, poliol yolağın aktivasyonu ve eikosanoid metabolizmasının uyarılması)aktivasyonunu uyarak hücresel hasarı

şiddetlendirmektedir ve böylece kısır döngü meydana gelmektedir. (Şekil 1)(De Vriese ve ark. 2000).

Aşırı ROS üretiminin endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesini ve NO üretimini bozduğu bilinmektedir ve sonuç olarak endotel aracılı vazodilatasyonu etkilemektedir (Srinivasan ve ark. 2004). Çeşitli antioksidan terapilerin farklı diyabet ve hiperglisemi modellerinde endotel kaynaklı cevabı iyileştirdiği ve normalleştirdiği ve hiperglisemi nedenli apoptozisi anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur. Deneysel ve klinik veriler hiperglisemi ve/veya hiperglisemi aracılı OS ile meydana gelen endotelial disfonksiyonun kardiyovasküler patolojilerde ana bir etken olduğunu ileri sürmektedir (De Vriese ve ark. 2000).



Şekil 1: Hiperglisemi nedenli endotelial disfonksiyon ve oksidatif stres: dolaşımdaki yüksek glikoz AGE'lerin oluşumu, glikoz otooksidasyonu, heksozamin ve polioli akışı ve klasik PKC aktivasyonu gibi hiperglisemi nedenli hücre hasarına yol açan alternatif yollara sapabilir. Hipergliemi nedenli endotelial disfonksiyona yol açan birçok yolak ROS üretimini artırır. Artan ROS yine bu yolları uyarak hücre hasarını artırır böylece kısır döngü meydana gelmektedir. Ayrıca O<sub>2</sub>• No ile etkileşerek endotelial disfonksiyonun beirteci olarak bilinen peroksinitriti oluşturur.

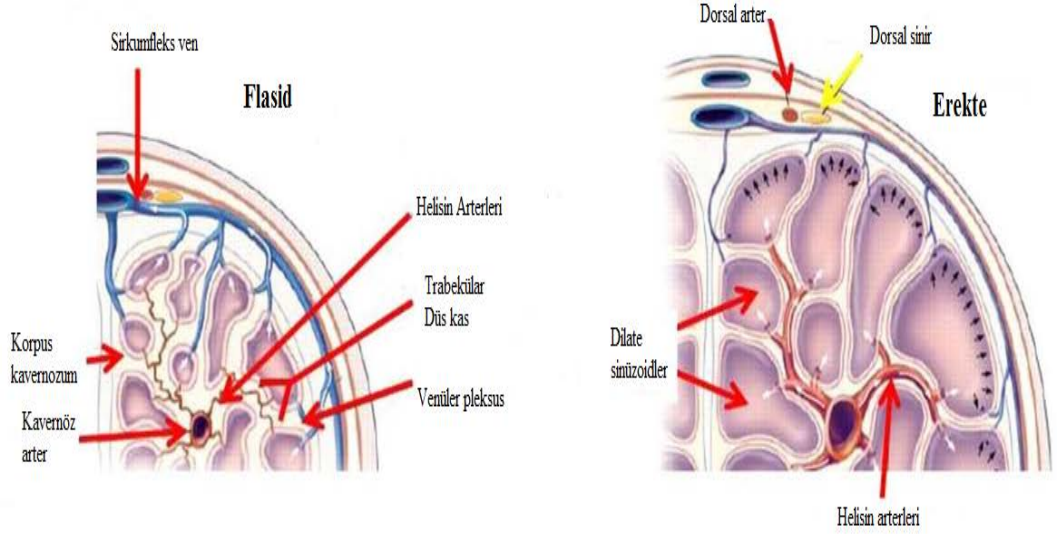
## 2.8. Eretil Disfonksiyon ve Diyabet

Eretil disfonksiyon (ED) diyabetin genel bir komplikasyonudur ve diyabetik erkeklerin hayat kalitesini düşürmektedir. Diyabetli erkeklerin ED olma riski sağlıklı erkeklere göre 3 kat daha fazladır (Kolodny ve ark. 1974). ED erken yaşta meydana gelebilmekte, ciddiyeti ve insidansı diyabetin süresi ile de artmaktadır yani ED riski yaklaşık olarak 30'lu yaşlarda %15 iken bu sayı 60'lı yaşlarda %55 e çıkabilmektedir (De Tejada ve ark. 2005). Diyabete bağlı ED patojenezi santral sinir sistemi, periferik sinir aktivasyonu ve endotel fonksiyon gibi birçok faktörde değişikliklerle ilişkilidir (I. Goldstein ve ark. 2003).

Endotel fonksiyondaki değişiklik hipergliseminin neden olduğu AGE oluşumu ve oksidatif stresin artışı ile artmakta ve penil endotelial hücrelerin fonksiyonel cevaplarının değişmesi ve vasküler homeostazın bozulmasına neden olmaktadır (Ahmed 2005). Bu değişimler endotelin vasküler ve düz kas kontraktil tonundaki düzenleyici rolünü engellemekte, kavernoza vazodilatasyonu, kan akım perfüzyonunu ve erektile fonksiyonu bozmaktadır (Costa ve Virag 2009). Bu yüzden endotelial disfonksiyon diyabetik ED de kilit rol oynamaktadır (Palumbo 2007). Üstelik penil endotelial vasküler sistemin özel bir uzantısı olduğu için penil endoteldeki fonksiyonel değişiklikler, sistemik vaskülopatinin habercisi olduğu düşünülmektedir (Vlachopoulos ve ark. 2008).

Penil ereksiyonun santral ve periferik sinir sisteminin vasküler endotel ve hormonal faktörleri içeren nörovasküler kompleks bir mekanizması vardır. Eretil doku sinüzodial boşluklara açılan tek katmanlı endotel ile astarlı direnç arterlerini yani helisin arterlerini içeren özelleşmiş vasküler bir yapıdır. Bu vasküler endotel, düz kas hücrelerden (SMC) oluşan ağ, otonomik sinirler ve kolajen elastik lifler ve fibroblastlardan oluşan hücre dışı matriks tarafından çevrelenmiştir (A. M. Goldstein ve ark. 1985). Bu sistemlerin etkileşimi penil ereksiyona neden olan hemodinamik ve mekanik proseslerin temelini oluşturmaktadır. Seksüel uyarı nöronal NO sentaz (nNOS) aktivasyonu aracılığı ile nöronal nitrik oksit (nNO) sentezlenmesi ve nonadrenejik nonkolinerjik parasempatik kavernoza sinirlerin aktivasyonu ile sonuçlanır (Burnett ve ark. 1992). nNO komşu SMC'lere difüze olur ve hücre içi siklik guanozin monofosfatı (cGMP) artıran guanilil siklazı aktive eder. Bu medyatör daha sonra hücre içi  $Ca^{+2}$  alımını azaltarak, SMC gevşemesine, kavernoza sinüzodial

dilatasyona ve NO aracılı arteriyel kan akımına katkıda bulunan birçok sinyal kaskatını aktive eder (Hedlund ve ark. 2002). Helisin arterlerine kan akımının başlaması eNO'yu sentezleyen eNOS'u mekanik olarak uyaran makaslama stresini ve prostanoidler ve EDHF salınımını artırır (Hurt ve ark. 2002). Bu değişiklikler vazodilatasyonu artırır sinüzodial yapının şişmesine ve kavernoza iç basıncının artmasına neden olur bu basınç artışı subalbüjineal venöz ağa baskı yaparak venöz akışı tıkar ve ereksiyonun sürdürülmesini sağlar (De Tejada ve ark. 2005).



Şekil 2: Ereksiyon mekanizması: ereksiyon sırasında trabeküler düz kas gevşemesi ve arteriollerin vazodilatasyonu ile kan akımı birkaç kat artar sinüzodial boşlukların şişmesi penisin uzaması ve genişlemesine neden olur. Sinüzoidlerin genişlemesi subtubikal venüler pleksusa tunika albuginea ile baskı yaparak tunikanın gerilmesi venlere baskı yapar ve böylece kanın uzaklaşması minimuma iner. Flacid durumunda ise daralmış helisin arterlerde kan akışı minimumdur ve subtunikal venöz pleksusta serbest akış mevcuttur.

Diyabet ve ilişkili metabolik dengesizlikler erektil doku bileşenlerinde yapısal modifikasyonlar ve NO aracılı vasküler gevşemede değişiklikler meydana getirerek erektil mekanizmayı etkilemektedir. Diyabetik erkeklerde erektil fonksiyonun değişimi, ereksiyonun başlaması ve sürdürülmesinin bozulmasına neden olan nNO ve eNO biyoaktivitesinde düşüşle birlikte nörojenik ve vasküler bozukluklar ile ilişkilidir (De Tejada ve ark. 2005).

Endotel disfonksiyonun ana sebebi vazodilatör medyatörlerin cevabında bir azalma ve/veya vazokonstriktör moleküllere hassasiyette bir artış meydana gelmesidir (Behrendt ve Ganz 2002). Böylece vazodilatör potansiyeli azalmakta ve damarlar stimülasyon ile tam dilate olamamaktadır. Vazodilatasyondaki bu azalmanın nedeni genellikle eNOS-eNO sentezinin azalması ve veya

biyoaktivitesinin ve verimliliğinin azalmasıdır bu da ED'nin klinik ispatı olabilen endotel aracılı vasküler gevşemesinin azalmasına neden olmaktadır (Maxwell 2002). Diyabetik ED de hiperglisemi oksidatif stres ve AGE oluşumu kaverno endotel fonksiyonu ile yakından ilişkilidir. Diyabet ile ilişkili hiperglisemi, oksidatif stres ve AGE oluşumu gibi olaylar endotelde çeşitli biyokimyasal ve metabolik değişiklikler meydana getirip penisi çevreleyen endotel hücrelerinde hasara yol açarak diyabetik ED patojenezine direkt olarak katkıda bulunmaktadır (Bivalacqua ve ark., 2003.).

## 2.9. Diyabet ve Oksidatif Stres

### 2.9.1. Hiperglisemi Nedenli Oksidatif Stresin Moleküler Mekanizması

Diyabetik makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar çoğunlukla hiperglisemiye bağlıdır. Poliol yolu boyunca artan glikoz akışı, artan AGE oluşumu ve reseptörlerinin aktivasyonu, PKC izoformlarının aktivasyonu ve heksozamin yolunun aşırı aktivitesi gibi yollarla hücre hasarları indüklenebilmekte ve ayrıca hiperglisemiye bağlı ROS üretimi yine bu yollarla artabilmektedir(Chikezie ve ark. 2015).

Hücre içi hiperglisemik koşullarda glikoz poliol yolağı aracılığı ile polialkol sorbitole dönüşmekte ve nikotinamid adenin dinükleotit (fosfat) NAD(P)H ve glutatyon (GSH) gibi antioksidan türlerin hücre içi konsantrasyonlarını azaltır ve sonuç olarak  $O_2^-$  yi artırır. ROS birikimi oksidatif stresi azaltmak için gerekli olan antioksidan enzimleri indirgeyen glikoz -6 fosfat dehidrojenaz enzimini inhibe etmektedir. Ayrıca sorbitolu sorbitol dehidrojenaz enzimi ile fruktoza metabolize edip hücre içi NADH/NAD<sup>+</sup> oranını artırarak gliseraldehit 3 fosfat dehidrojenazın inhibisyonuna neden olmaktadır buda triozfosfat konsantrasyonlarının artmasına neden olmaktadır. Yüksek miktardaki trioz fosfat bir AGE prekürsörü olan metilglioksal ve diaçilgliserol (DAG) oluşumunu uyarmakta ve dolayısıyla PKC'yi aktive etmektedir (Yu ve ark. 2001).

Kronik hiperglisemi ayrıca sitokinler, büyüme faktörleri, ET-1 ve ATII gibi medyatörlerin konsantrasyonlarını artırır ve bunlar kendi hücre yüzeyi reseptörleri ile etkileşerek PKC izoformlarının aktivasyonuna neden olur(Robin ve ark. 2002).

PKC aktivasyonu endotel hücrelerinde insüline bağlı eNOS ekspresyonu ve düz kas hücrelerinde NO üretimini inhibe ederek, PAI-I ekspresyonunu ve Nükleer Faktör-Kappa B aktivitesini artırarak ve prooksidan NADPH oksidaz enziminin aktivitesini uyararak hiperglisemi nedenli vasküler hasara katkıda bulunur (Yu ve ark. 2001).

Hiperglisemi nedenli aşırı ROS üretimi AGE'lerin kendi reseptörleri (RAGE) ile etkileşmesi ile oluşmaktadır. Hücre içi yüksek glikoz konsantrasyonları ile glikozun glioksale oto oksidasyonuna, Amaduri ürünlerinin 3-deoksiglikozona dönüşümüne ve gliseraldehit 3-fosfat ve dihidroksi asetonun metil glioksale parçalanmasına neden olmaktadır ve bu maddeler hücre içi ve hücre dışı proteinlerin serbest amino grubu ile etkileşerek AGE'leri oluşturmaktadır (Brownlee 2001). AGE'lerin RAGE ile etkileşimi hücre içi ROS ve ardından gelen redoks hassas transkripsiyon faktör NF-kB aktivasyonu artırmaktadır bunlarda inflamasyon ve ateroskleroz ile ilişkili faktörlerin gen ekspresyonlarını modüle etmektedir.

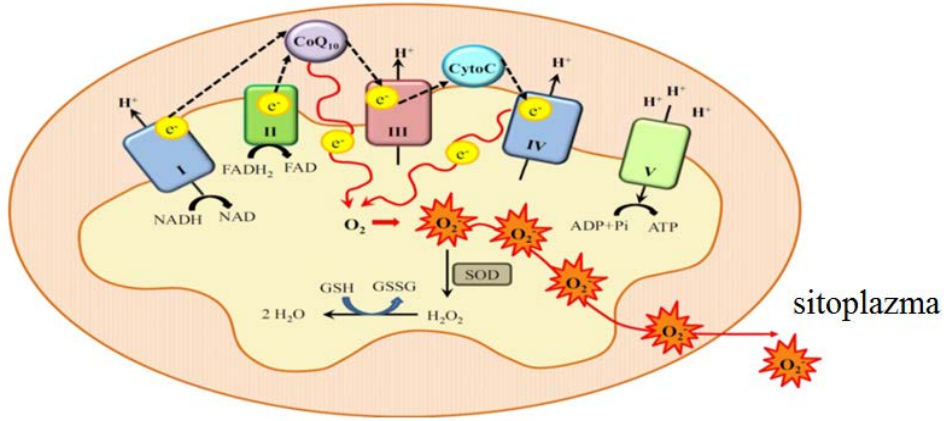
Dahası hücre dışı matrikste bulunan AGE'lerin elastikiyeti ve NO biyoaktivitesini azaltmakta ve böylece endotel kaynaklı vazodilatasyonu azaltmaktadır (Bucala ve ark. 1991). Son olarak heksozamin yolağının aktivasyonu sinyal transdüksiyonu ve transkripsiyon aktivitesi gibi çeşitli hücresel fonksiyonlarla etkileşerek hiperglisemi ile vasküler hasara katkıda bulunmaktadır (Akimoto ve ark. 2001).

Ayrıca heksozamin yolağın aktivasyonu eNOS aktivitesini inhibisyonuna, insülin aracılı insülin reseptör substrat /fosfatidil inozitol 3-kinaz (PI-K) ve protein kinaz B Akt yolağının bozulmasına ve ROS üretimini artırarak oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır (Federici ve ark. 2002).

### 2.9.2. *Hiperglisemi Kaynaklı Mitokondriyal Oksidatif Stres*

Normal şartlar altında trikarboksilik asit döngüsünden üretilen NADH ve FADH<sub>2</sub>, elektron donörü olarak görev yaptıkları mitokondriye transfer olur. Elektronlar (e-) su oluşturan moleküler oksijene bağlanana kadar oksidoredüktaz kompleksleri I, II, III ve IV (sitokrom c), içinden geçirilir. Kompleks I, II, III ve IV'lere elektron transferi sonucu dış mitokondriyal membranda bir proton gradyanı üretir, bu iç mitokondriyal membran ve dış mitokondriyal membran arasındaki proton

gradyan farkından ortaya çıkan potansiyel ATP sentezine neden olur. Elektronlar kompleks II'den kompleks III'e aktarıldıkça yan ürünler olarak ROS üretilir. Normal oksidatif fosforilasyon sırasında üretilen ROS seviyeleri minimaldir ve bunlar GSH ve SOD gibi hücrel antioksidanlar tarafından deaktive edilirler. Hiperglisemik şartlar altında, glikoz türevi olan piruvatın yüksek seviyeleri, NADH ve FADH<sub>2</sub>'nin elektron taşıma zincirine akışını artırmakta ve dolayısıyla mitokondriyal membran boyunca voltaj gradyanını arttırmaktadır. Bu noktada, kompleks III içerisindeki elektron transferi engellenir ve elektronların moleküler oksijene elektron veren Q<sub>10</sub> koenzimine geri dönmesine neden olarak O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretilir. Böylelikle hiperglisemi durumunda mitokondri kaynaklı reaktif oksijen türleri (mROS) seviyeleri artmaktadır (Rolo ve Palmeira 2006).



Sekil 3:Hiperglisemik şartlaraltında mitokondrital süperoksit üretimi:Hiperglisemik şartlaraltında, daha yüksek seviyelerde glikoz türevi piruvat, NADH ve FADH<sub>2</sub>'nin elektron taşıma zincirine akışını ve dolayısıyla mitokondriyal membran boyunca voltaj gradyanını artırır. Kompleks III içerisindeki elektron transferi engellenerek elektronların moleküler oksijene elektron veren ve böylece süperoksit üreten koenzim Q<sub>10</sub>'a geri dönmesine neden olur. Kısaltmalar: Sito-c: sitokrom c, CoQ<sub>10</sub>: koenzim Q<sub>10</sub>, e<sup>-</sup>: elektronlar, O<sub>2</sub><sup>-</sup>: süperoksit, Pi: fosfat, SOD: süperoksit dismutaz, GSH: glutatyon, GSSG: okside glutatyon, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: hidrojen peroksit.

## 2.10. Oksidatif Stres ve Endotelial Disfonksiyon

Memeli hücreleri aerobik solunum sırasında moleküler oksijeni suya indirgeyerek enerji üretirler. Bu işlem sırasında, süperoksit anyonu, hidroksil (OH<sup>-</sup>) radikalleri ve hidrojen peroksit içeren reaktif oksijen türleri olarak adlandırılan ara ürünler üretilir. Homeostatik koşullar altında, bu moleküller hücrel fonksiyonda düzenleyici bir rol oynarlar ve antioksidan savunma ile sürekli denge halindedirler. Biyolojik olarak reaktif özelliklerinin yüksek olması nedeniyle reaktif oksijen türleri, proteinler, lipidler ve DNA ile etkileşime girme potansiyeline sahiptir. Aşırı

ROS üretimi, yaşlanma, reperfüzyon hasarı, demans ve ateroskleroz gibi çeşitli hastalıkların ve durumların patojenezinde rol oynamaktadır (Nedeljkovic ve ark. 2003).

Patolojik koşullarda endotel fonksiyon bozukluğunun temel özelliği endotel kaynaklı NO (eNO) biyokativitesinin bozulmasıdır (Vita ve ark. 1990). Vasküler NO biyoyararlanımının bozulmasındaki hakim mekanizma ise,  $O_2^-$  tarafından oksidatif olarak etkisizleştirilmesidir. Süperoksit anyonu, NO ile hızla reaksiyona girer ve biyolojik aktivitesini ortadan kaldırır (Gryglewski ve ark. 1986).

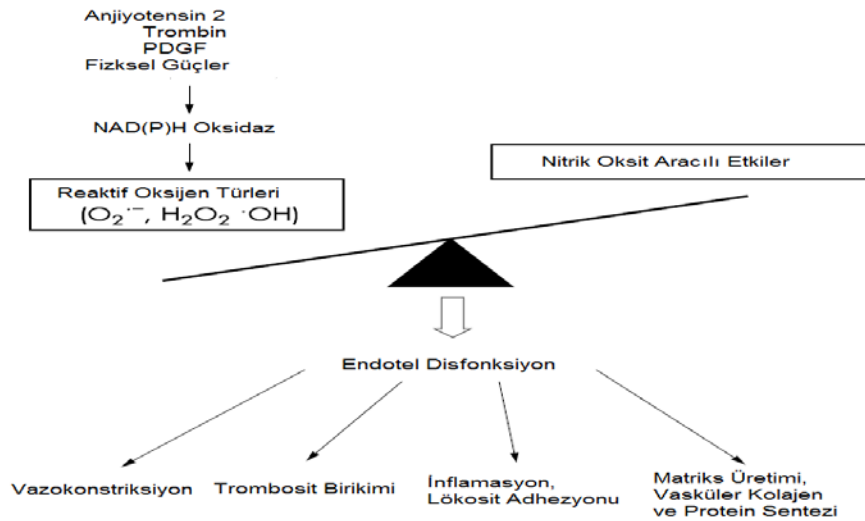
Hiperkolesteroleminin, diyabetin, hipertansiyonun ve sigara kullanımının vasküler  $O_2^-$  üretimini arttığına dair önemli kanıtlar vardır. Hiperkolesterolemik diyetle beslenen tavşanlardan izole edilen arteriyel dokuda eNO aracılı dilatasyon bozukluğuna neden olan  $O_2^-$  anyonu salımının artmış olduğu bulunmuştur (Ohara ve ark. 1993). Koroner arter hastalığı bulunan gönüllülerde, rekombinant insan SOD infüzyonunun asetilkolin (Ach) aracılı koroner dilatasyonu iyileştirdiği bulgusu ayrıca, endotel disfonksiyonunun bir mekanizması olarak artan  $O_2^-$  üretiminin önemini desteklemektedir (Meredith ve ark. 1993).

NO'nun antiaterojenik etkilerini ortadan kaldırmanın yanı sıra,  $O_2^-$  ile NO'nun kombinasyonu, peroksinitriti oluşturmakta ve buda lipid peroksidasyonunu artırmaktadır (Epstein ve ark. 1989). Her ne kadar düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) in vivo oksidasyon mekanizmaları tamamiyle anlaşılmassa da endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve monositler kolektif olarak LDL'yi okside edebilmektedir. Damar duvarı içindeki makrofajlar, çöpçü reseptörler yoluyla oksid-LDL'yi damar yapısına katar ve lipid bakımından zengin "köpük hücreleri" gelişir (Witztum ve Steinberg 1991). Oksid-LDL, köpük hücrelerinde lipid birikimini artırmanın yanı sıra, vasküler disfonksiyon ve aterosklerotik plak oluşumuna katkıda bulunur (Navab ve ark. 1991).

LDL oksidasyonuna ek olarak, ROS'un hücre zarına bağlı yağ asitleri ile reaksiyonu oksidatif hasarasebep olur ve böylece hücre zarı geçirgenliğinde değişikliklere ve hücresel transport ve hücresel sinyal işlevinde bozulmalarda neden olabilir. Örneğin,  $O_2^-$ , geçiş metal iyonları ile birleşerek OH• radikali ve hidrojen peroksiti ( $H_2O_2$ ) oluşturur ve bu durum hücresel işlev bozukluğunun moleküler temellerinden biridir (Wolin 2000).

Vasküler yapıdaki ROS üretimini özellikle  $O_2^{\cdot-}$  üretiminin temel kaynağı membran (NADH/NAD(P)H) oksidaz enzim kompleksidir. NADH/NAD(P)H oksidazlar vasküler endotelial ve düz kas hücrelerinde ve fibroblastlarda sürekli  $O_2^{\cdot-}$  temin etmek gibi işlevleri bulunmaktadır. AT II, trombin, TNF- $\alpha$ , ve platelet kaynaklı büyüme faktörleri gibi NO biyoaktivitesinin azalması ve vasküler bozuklukların patolojisi ile ilgili çeşitli sitokiner ve hormonlar vasküler NADH/NAD(P)H aktivitesini ve  $O_2^{\cdot-}$  üretimini artırabilir (Griendling, ve ark. 2000).

NADH/NAD(P)H oksidaz aktivitesi AT II nedenli hipertansiyonda önemli rol oynamaktadır. Ratlara AT II uygulanmasının ardından membran oksidazları aracılığı ile kan basıncı ve vasküler  $O_2^{\cdot-}$  üretimi artmaktadır (Rajagopalan ve ark. 1996).



Şekil 4: Vasküler fonksiyonda oksidatif stres ve nitrik oksit etkisinin dengesi. ( $H_2O_2$ , hidrojen peroksit; NAD(P)H, nikotinamid dinükleotit (fosfat)) PDGF, platelet türevi büyüme faktörü;  $O_2^{\cdot-}$ , süperoksit anyonu;  $OH^{\cdot}$ , hidroksil radikali; TNF- $\alpha$ , tümör nekrozis faktör- $\alpha$ ).

### 2.11. Oksidatif Stres Ve Eretil Disfonksiyon

Oksidatif stres, erektile disfonksiyona (ED) katkıda bulunan ana faktörlerden biridir. Oksidatif stres, pro-oksidanlar ve antioksidanların ROS temizleyebilme yeteneği arasında bir dengesizlik olduğunda ortaya çıkar (Agarwal ve ark. 2006). Penil erektile doku, corpora cavernosa olarak bilinen 2 dorsal gövde yapı tarafından oluşur. Kavernal gövdeler, trabeküler ağ örgüsüne sahip sinüzoidal boşluklardan oluşur. Bu alanlar endotel ile kaplıdır. Ach gibi nöronal haberciler kavernal sinir

uçlarından salınır ve NO'nin endotelyumdan salınmasına yol açan nNOS enzimini uyarır. Eretil fonksiyona hem nNOS hem de eNOS aracılık eder. NO, penis ereksiyonunun temel aracısıdır (Burnett ve ark. 1996). Eretil fonksiyon, kavernoöz düz kasın gevşemesine bağlıdır ve etki mekanizması, NO'nun aracılık ettiği penil düz kas gevşemesine bağlıdır. NO'nun azalan üretimi veya yokluğu ED'de büyük bir rol oynayabilir. NOS için substrat mevcudiyeti azaldığında üretim azalır. NO, oksihemoglobinin hem parçasıyla nonenzimatik reaksiyona giren veya  $O_2^-$  anyonu gibi serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturan oldukça reaktif bir serbest radikaldir (Beckman ve Koppenol 1996). Peniste oksidatif stres ve yaşla ilişkili ED arasındaki ilişki yakın zamanda araştırılmış ve ileri yaşlarda serbest radikallerin çeşitli vasküler yataklarda daha yüksek oranda üretildiği ve sayısının arttığı gösterilmiştir. Bunların sonucunda kavernoöz dokuda ED'ye yol açan etkisiz bir gevşeme meydana gelmektedir. NO, aterojenezde merkezi bir rol oynadığı bildirilen peroksinitrit oluşturmak için  $O_2^-$  ile etkileşime girer (Beckman ve Koppenol 1996). Peroksinitrit, SOD'u etkisiz hale getiren proteinlerin tirozil artışı ile reaksiyona girer ve süperoksitin uzaklaştırılmasını azaltır (Zou ve ark. 1997). Yaşlı sıçanlardan elde edilen penislerin, nitrotirosin immün boyamada bir artış gösterdiğini göstermiştir ki bu da, peroksinit oluşumu için bir belirteçtir. Yaşlanma nedeniyle, yaşlı sıçan penislerinde üretilen  $O_2^-$  anyonlarını dengelemek için üretilen SOD yeterli olmamaktadır, bu yüzden endotel ve korpus kavernoöz düz kasları, genç hayvanların aksine yüksek  $O_2^-$  anyon miktarları gösterir. Bu nedenle, yaşlı sıçanlara hücre dışı SOD uygulandığında, eretil disfonksiyon onarılabilmektedir, bunun nedeni ise  $O_2^-$  anyon oluşumunun azalmasıdır (Bivalacqua ve ark. 2003). NO'nun trombosit ve lökositlerin vasküler endotel hücrelerine adhezyonunu azalttığı bildirilmektedir. NO konsantrasyonunun azalması, bu hücrelerin endotele adhezyonun artırmakta ve vazokonstriksiyona neden olan maddeleri (tromboksan A2 ve lökotrienler) serbest bırakmaktadır. Bu maddeler ED'yi daha da kötüleştirir (Bivalacqua ve ark. 2003).

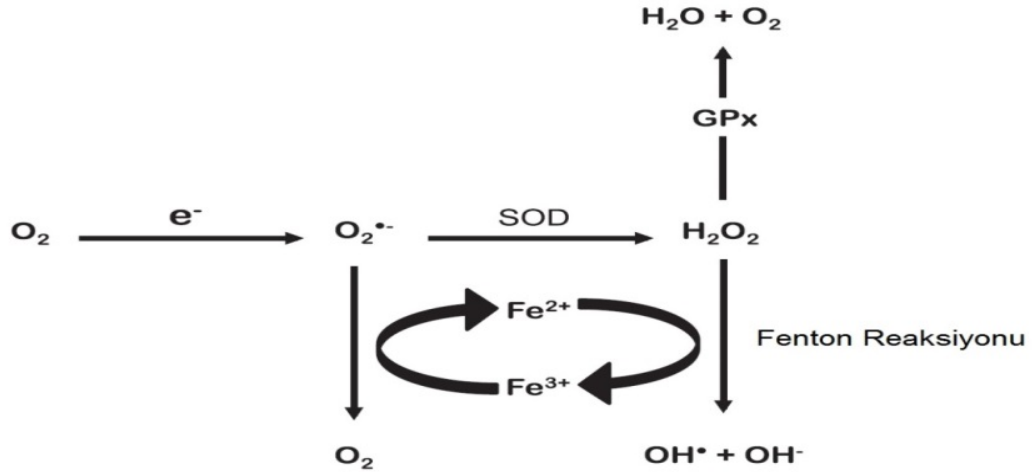
Hiperkolesterolemi, ateroskleroza ultrastrüktürel yatkınlığın artması ve kavernoöz düz kas gevşemesinin azalması ile ilişkilidir (Kim ve ark. 2006). Hiperkolesterolemideki artmış kavernoöz süperoksit seviyeleri, NO oluşumunu azaltabilir ve bu da ED gelişimine neden olabilir. Obeziteye yatkın hayvanlarda NO

biyoyararlanımının azalmasının kısmen oksidatif stresin artmasına bağlı olduğu gösterilmiştir (Dobrian ve ark. 2001).

## 2.12. Mitokondriyal Antioksidan sistemler

Mitokondri ökaryotik hücre sitoplazmasında bulunan bir organeldir. Apoptozis ve hücresel enerji üretiminde önemli rol oynar ve elektron transport zinciri (ETC) sayesinde hücresel enerjisinin % 90'ını karşılarlar. Mitokondri iç membranı, ETC kompleksleri ve ATP üretimi verimini artırmak için yüzey alanını artıran krista adı verilen kıvrımlar ile içi yoğun biçimde dolmuştur (Immo E. Scheffler 2011). Mitokondriler hücrenin enerji santrali gibidir venormal aerobik solunum sırasında elektronların yaklaşık %2 si ETC'den sızmaktadır (Birch-Machin 2006) 2 ve bu kontrolsüz sızma, kompleks 1 ve kompleks 3'de gerçekleşerek mitokondride  $O_2^-$  oluşumuna neden olmaktadır (Liu ve ark. 2002). Kontrol altındaki ROS örneğin inflamasyon (Dostert ve ark. 2008) gibi bazı yollarda hayati rol oynasa da mitokondriyal disfonksiyon veya güneş ışığı kaynaklı UV radyasyonu ile ilgili aşırı ROS üretimi ve hücrenin defans sistemi arasındaki dengesizlik OS'ye neden olmaktadır (Birch-Machin 2006).

Mitokondri, ATP sentezi sırasında gerçekleşen elektron transferinin sonucu olarak ROS üretiminin ana kaynağı haline gelmektedir (Birch-Machin ve Turnbull 2001). ETC den sızan elektronlar oksijen ile etkileşerek  $O_2^-$  oluşturmaktadır ve SOD mitokondriye özel bir antioksidan olarak  $O_2^-$  radikalini  $H_2O_2$ 'ye dönüştürerek detoksifiye eder. Glutatyon peroksidaz (GPx)  $H_2O_2$ 'yi suya dönüştürmektedir, suya dönüştürülemediğinde ise  $H_2O_2$  metal iyonları ile etkileşerek oldukça reaktif olan OH•radikaline dönüşmektedir (Epe 2012).



Şekil 5: ROS üretimi ve dismutasyon. ETC'den kontrolsüz elektron akışı  $O_2$  ile reaksiyona girerek  $O_2^{\bullet-}$  oluşturur ve  $O_2^{\bullet-}$  SOD ile etkisiz hale getirilmek için  $H_2O_2$  ye dönüştürülür oluşan  $H_2O_2$  GPx etkisiz hale getirilemez ise hidroksil radikali ( $OH^{\bullet}$ ) ve hidroksid iyonuna ( $OH^-$ ) dönüşebilir bu reaktif ara ürünler feröz ( $Fe^{+2}$ ) veya ferrik ( $Fe^{+3}$ ) demirin  $H_2O_2$  ile reaksiyonu sonucu oluşur ve önemli hücrel hedeflerde geri dönüşsüz oksidatif hasar ile sonuçlanır.

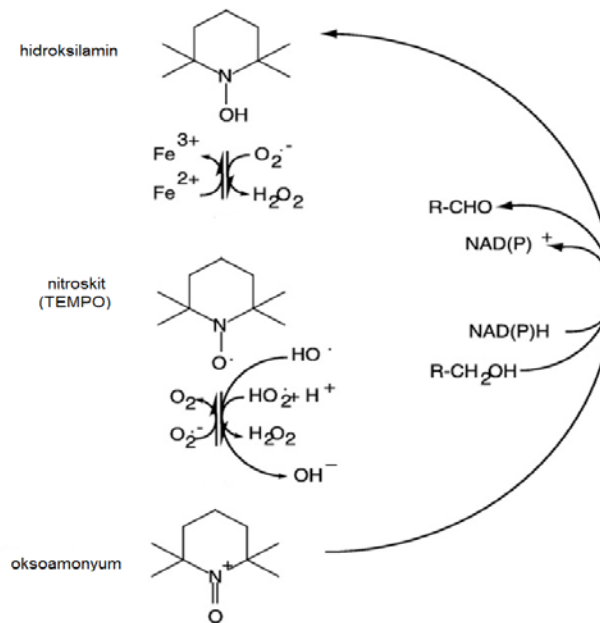
Antioksidanlar, oksidanların elektronlarını transfer ederek diğer moleküller ile reaksiyona girmesini engellerler dolayısıyla potansiyel hasara engel olur ve hücrel redox dengesinin devamını sağlar (Soeur ve ark. 2015). Antioksidanlar temel olarak endojen (adaptif) ve eksojen olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir (Shindo ve ark. 1994). Endojen antioksidan defans sistemi SOD'lar GPx ve katalaz gibi enzimatik ve E vitamini, glutatyon ve bilirubin gibi enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşmaktadır (Meewes ve ark. 2001).

$O_2^{\bullet-}$  radikalini  $H_2O_2$  ve  $O_2$  ye dönüştüren SOD enzimi ROS'a karşı ilk ve en önemli enzimatik antioksidan defans mekanizmasıdır (J.-M. Li ve Shah 2004). Vasküler dokuda SOD'un üç farklı izoformu belirlenmiştir: Cu/Zn SOD (SOD1 geni ile kodlanan) sitoplazmada bulunan, MnSOD (SOD2 geni ile kodlanan) mitokondride bulunan ve ekstraselüler SOD (SOD3 geni ile kodlanan).

SOD aşırı ekspresyonun sağlandığı bir araştırmada endotel fonksiyonlarını düzeldiği bildirilmiştir (Fennell ve ark. 2002). SOD2 aşırı ekspresyonunun hiperglisemi kaynaklı  $O_2^{\bullet-}$  üretimi, PKC aktivasyonu ve AGE oluşumunu engellediğinin gösterilmesi (Nishikawa ve ark. 2000) mROS üretiminin diyabetik vasküler komplikasyonlarda rolünü desteklemektedir.

### 2.13. Mitotempo Hakkında Genel Bilgiler

Bir piperidin nitroksit türevidir olan 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksi (TEMPO) oksidatif stres, yaşlanma ve dejeneratif bozukluklar gibi çeşitli hayvan ve hücre modellerinde koruyucu radikaldir. Bu etkiler genellikle siklik nitroksitlerin antioksidan reaksiyonlarına atfedilmektedir. TEMPO antioksidan reaksiyonları, nitroksit ve oksoamonyum formları arasında değişerek SOD mimetik etkileri in vitro olarak detaylı bir şekilde incelenmiştir (şekil 5).



Şekil 6: Mitotempo antioksidan mekanizması: Nitroksit, ferröz demir ile hidroksilamine indirgenir veya hidroperoksil radikal olan süperoksidin eşlenik asidi tarafından oksoamonyuma okside edilir. Oksoamonyum, nitroksitin yenilenmesi için başka bir  $O_2^{\cdot -}$  molekülü tarafından tekrar indirgenebilir. Bu katalitik döngü,  $O_2^{\cdot -}$ 'leri uzaklaştırabilir. Oksoamonyum iyonu ayrıca alkol, tiyoller ve indirgenmiş nikotinamid nükleotidleri tarafından hidroksilamine iki elektron ile indirgenmeye yatkındır.

Mitokondriyal solunum zinciri, hücre içindeki zararlı serbest radikallerin önemli bir kaynağıdır ve mitokondrinin oksidatif hasarı, çeşitli patolojilere katkıda bulunur. Mitokondrinin, hücre içinde piperidin nitroksitlerin metabolizması için önemli bir yer olduğu düşünülmektedir. Mitotempo antioksidan özellikli piperidin nitroksit ve lipofilik katyon olan trifenilfosfonyum (TPP) ile kombine edilmiştir. TPP membran potansiyeli aracılığı ile membranı geçebilen ve mitokondride birkaç yüz kat birikebilen bir katyon iken tempo katalitik döngüde süperoksit dismutasyonunu sağlayan bir SOD benzeridir. Bu kombinasyon etkili  $O_2^{\cdot-}$ temizleyici etki gösteren mitokondri hedefli bir bileşen oluşturmaktadır (Trnka ve ark. 2008).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

#### 3.1. Etik Kurul Onayı, Sıçanların Gruplandırılması

Çalışmamız Necmettin Erbakan Üniversitesi bünyesindeki Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden (KONÜDAM) tarafından “Streptozotosin İle İndüklenen Diyabetli Sıçan Aort ve Korpus Cavernosum Dokularında Mitotempo’nun Endotel Üzerine Muhtemel Koruyucu Etkisi” isimli “**2018.034**” numarası ile etik onay almış çalışmadan sağlanmıştır.

Kullanılan deney hayvanları Necmettin Erbakan Üniversitesi bünyesindeki Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden (KONÜDAM) “Streptozotosin ile İndüklenen Diyabet Modelinde Mitotempo’nun Sıçan Siyatik Sinir İletimi Hız Dağılımına Etkisi” isimli “2017-15” numarası ile etik onay almış çalışmadan 36 tane Wistar Albino cinsi sıçantemin edilmiştir. Talep edilen hayvan sayısı ilk aşamada 3 ana gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu 10 hayvandan oluşmuş ve herhangi bir işleme tabi tutulmamışlardır. i.p. olarak 50 mg/kg tek doz olacak şekilde Streptozotosin (STZ) uygulanan 12 hayvanlık ikinci gruba 1 hafta sonra başlanmak kaydıyla 4 hafta boyunca mitotempo çözücüsü olan bidistile su gavaj yoluyla uygulanmış ve diyabet grubu oluşturulmuştur. Diyabet + Mitotempogrubu ise yine 12 hayvandan oluşmuş ve yine tek doz 50 mg/kg STZ uygulamasına maruz bırakılıp 1 hafta sonra başlamak üzere 4 hafta boyunca gavaj yoluyla 0.7 mg/kg/gün olacak şekilde mitokondri spesifik antioksidan olan Mitotempobidistile suda çözülerek uygulanmıştır. Haftalık kan glikoz değerleri ölçülmüştür 300 mg/dl’den yüksek ölçülen değerler diyabet kabul edilmiştir. Kontrol ve Diyabet gruplarına ise yine gavaj yolu bidistile su uygulanmıştır.

#### 3.2. İzole Organ Banyosu Deney Protokolü

Çalışmamızda etik onay almış olan deney hayvanları dekapitasyon ile kurban edildikten sonra torasik aorta(TA) ve korpus kavernosum (KK) dokuları çıkartılmıştır. Dokular +4 °C Krebs-Henseleit Solüsyonu (KHS) içine alınmıştır.

Eksize edilen TA endotel hasarına neden olmayacak şekilde bağ dokularından temizlenmiş ve 2-3 mm genişliğinde halka şeklinde preparatlar hazırlanmıştır. Preparatlar içerisinden bir ucu sabit metale diğer ucuna ise izometrik

transdusıra bağılı çengeller geçirilerek 37 °C'de KHS içeren ve %95 O<sub>2</sub>+%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan organ banyosuna asılmıştır.

Eksize edilen KK'yı çevreleyen bağ dokudan aynı şekilde endotel hasarına neden olmayacak şekilde temizlenmiştir. Çıkarılan KK dokuların her bir parçası alt ve üst ucundan ipek ipe bağlanmış ve bir ucu sabit alt metale diğer ucu ise izometrik transdusıra bağlanarak 37 °C'de KHS içeren ve %95 O<sub>2</sub>+%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan organ banyosuna asılmıştır.

KHS içeren ve %95 O<sub>2</sub>+%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan organ banyosuna yerleştirilmiş olan dokular (TA ve KK) 37 °C'de ve 1 g gerilim altında her 15 dakikada Krebs çözeltisi değiştirilerek 60 dak. süreyle dinlendirilmiştir.

Dinlenme periyodunun bitiminde(reseptör etkileşimlerini ekarte edebilmek için voltaj kapılı Ca<sup>+2</sup> kanalları üzerinden etki eden KCl ile) 80 mM KCl kasılmış yanıtlar sabit bir platoya ulaşınca bazal kasılma yanıtları alınmıştır. Sonrasında 15 dak aralıklar ile yıkanarak 30 dak. dinlendirme süresi sonrasında banyo 10 ml KHS ile doldurulup 10<sup>-4</sup> M 100 µl fenilefrin (FE)(α-1 reseptörleri kan basıncı düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğu ve agonisti olan FE ise endotel ile etkileşmeden hızlı ve potent bir etki gösterdiği için FE kullanılmıştır) eklenerek 10<sup>-6</sup> M FE konsantrasyonu elde edilerek submaksimal kasılma yanıtları incelenmiş ve kasılma yanıtları plato fazına ulaşınca Asetil kolin (Ach) kümülatif olarak organ banyosuna önce 100 µl Ach 10<sup>-7</sup> ve daha sonra kümülatif olarak 90 µl 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup> ve 10<sup>-3</sup> Ach eklenerek banyo konsantrasyonları 10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup> M yapılmış ve endotel bağımlı gevşeme yanıtları değerlendirilmiştir.

### 3.3. Kullanılan Aygıtlar

#### 3.3.1. İzole Organ Banyosu

İzole organ banyosu sistemi veri toplanmasına uygun yüksek performanslı veri toplama ünitesi içermektedir. Dört kanal izole organ banyosu seti, dört adet force displacement transducer ve sirkülatörlü su banyosu içeren bir sistemden oluşmaktadır. Doz cevap eğrilerini; sinyallerin ayrı amplifikatörler gerektirmeden tümünü algılayabilen dört kanal kayıt sistemi mevcuttur.

### 3.3.2. Force displacement transducer

Organ ve dokulara uygulanan ilaç etkilerinin kasılma ve gevşeme yanıtlarını mg düzeyinde yansıtabilir, hassasiyeti mili volt değerine dönüştürebilen bir cihazdır

### 3.3.3. Sirkülatörlü su banyosu

İzole organ banyosu düzeneklerinde su sirkülasyonu yaparak  $\pm 0.1$  °C hassasiyetle sıcaklığın sabit kalmasını sağlayabilmektedir.

### 3.3.4. İzole Organ Banyosu Seti

Organ banyosunun doku tutucu ve elektrot tutucularını üzerinde bulunduran kombine bir sistemdir. 10 ml çift cidarlı cam organ banyosunun cidarları arasından ısıtıcılı su banyosu ve sirkülatör sayesinde ısıtılan su geçerek organ banyosunun sıcaklığı sabit tutulmaktadır. Transdüser tutucusu, organ askısı ve tutucusu ise asılan dokuda oluşan gerilimi ölçebilmektedir.

## 3.4. Kullanılan Kimyasallar

Asetikolin HCl, Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D)(Ürün Numarası A6625 );

Fenilefrin HCl; Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D)(Ürün Numarası P6126);

Krebs Henseleit solüsyonu (mM) NaCl 119, KCl 4.6 CaCl<sub>2</sub> 1.5 MgCl 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 15 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 glikoz 5.5 pH:7.4

80 mM KCl solüsyonu (mM) NaCl 43.6, KCl 80, CaCl<sub>2</sub> 1.5, MgCl 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 15 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 glikoz 5.5 pH:7.4

Krebs solüsyonu için gerekli olan tüm kimyasallar Merck KGaA (Darmstadt, Germany ) firmasından temin edilmiştir.

Mitotempo, Sigma-Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D)(Ürün Numarası SML0737)

Streptozotosin, Sigma Aldrich, (St. Louis, MO, A.B.D)(Ürün Numarası S0130)

## 3.5. Verilerin Analizi

Çalışmada FE kasılmalarının yüzde cevabı değerlendirilmiştir. Yüzde kasılma değerinin belirlenmesi için dokulara 80mM KCl uygulanması ile elde edilen

maksimum kasılma cevabı %100 olarak değerlendirilmiş ve FE uygulaması sonrası elde edilen cevaplar bu değere oranlanarak hesaplanmıştır.

Gevşetici ajan cevaplarında ise ACh için FE uygulaması ile submaksimal yanıt %100 olarak alınmış ve ACh yanıtları bu değere göre yüzde olarak hesaplanmıştır.

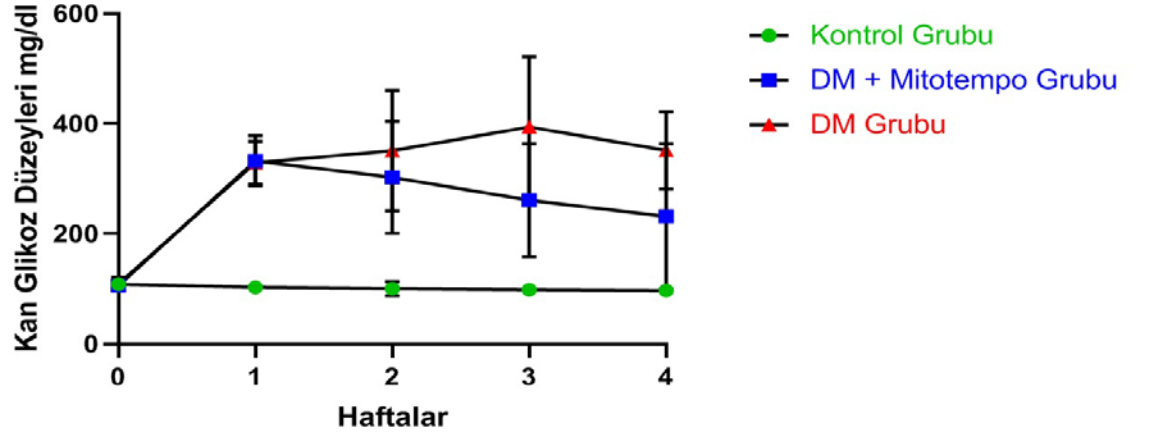
Çalışmadaki tüm değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Çalışma sonunda 3 grup değerleri birbirleri ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Normal dağılıma uygunluk gösteren verilerin karşılaştırılması bağımsız t testi (Unpaired Student's t test) kullanılarak yapılırken, normal dağılıma uygunluk göstermeyen verilerin karşılaştırılması ise Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır. Bu karşılaştırma sonucunda p değeri 0,05'den küçük olarak bulunan veriler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

##### 4.1. Kan Glikoz Düzeyleri

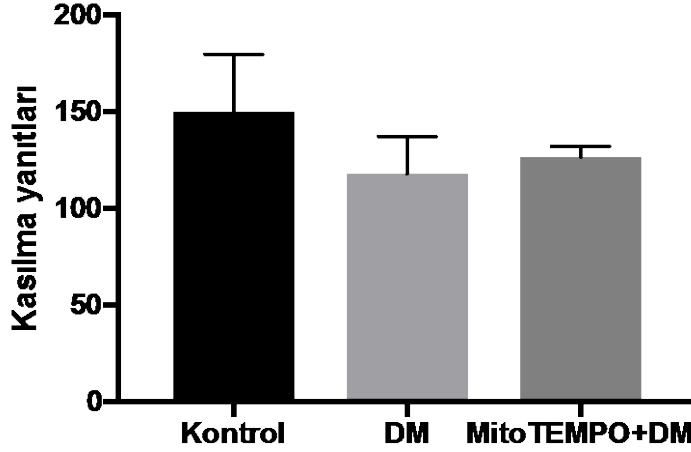
STZ uygulamasından sonra deney hayvanlarının kan glikoz düzeyleri 1 hafta aralıklarla ölçülmüş ve 300 mg/dl üzeri diyabet olarak kabul edilmiştir. Haftalık kan glikoz değerleri ortalamaları grafikte verilmiştir. (Şekil 7)



Şekil 7: Deney protokolünün başlamasının ardından haftalık ölçülen kan glikoz değerleri

##### 4.2. Aorta Dokusunun Fenilefrin ile Kasılma Yanıtları

Deney protokolümüzde  $10^{-6}$ M FE kasılma yanıtları, 80 mM KCl kasılması üzerinden yüzde olarak değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre kontrol grubuna (n=6) ait elde edilen kasılma yanıtı  $\%149.93 \pm 29.86$  olarak belirlenmiştir. DM grubunda (n=6) ise FE yanıtları  $\%118.13 \pm 19.13$  olarak elde edilirken mitotempo tedavisi alan grupta (n=6) bu sonuçlar  $\%126.75 \pm 5.46$  olarak gözlenmiştir. Gruplar arasında  $10^{-6}$ M FE kasılma yanıtlarının karşılaştırmasında her ne kadar mitotempo ve diyabet grupları daha az kasılmış olarak görünse de aralarında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 8) ( $p < 0.05$ ).



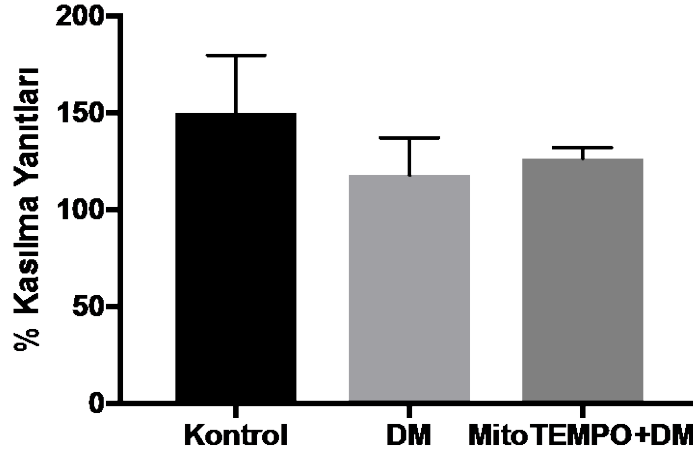
Şekil 8: Kontrol grubu, Diyabetik grup (DM) ve diyabet ile Mitotempo tedavisinin birlikte uygulandığı gruplara ait aorta FE kasılma yanıtları.

#### 4.3. Aorta Dokusu Fenilefrin Kasılması Sonrası Asetilkolin ile Gevşeme Yanıtları

Deney protokolü sırasında  $10^{-6}$  M FE uygulaması sonrasında plato fazına ulaşan kasılma yanıtında  $10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M Ach etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen Ach maksimum gevşeme yanıtları kontrol grubunda (n=6)  $69.9 \pm 29.9$  DM grubunda (n=6)  $34.49 \pm 4.04$  ve mitotempo grubunda (n=6)  $54.76 \pm 36.88$  olarak bulunmuştur. Ach ile elde edilen maksimum gevşeme yanıtları  $10^{-6}$  M FE yanıtına göre oranlanarak değerlendirildiğinde DM grubu ile kontrol ve mitotempo arasında anlamlı farklılık gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

#### 4.4. Korpus Kavernozum dokusu Fenilefrin ile Kasılma Yanıtları

Deney protokolümüzde  $10^{-6}$ M FE kasılma yanıtları 80 mM KCl kasılması ile bazal kasılma yanıtları üzerinden yüzde olarak değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre kontrol grubuna (n=6) ait kasılma yanıtları  $101.83 \pm 5.52$  olarak belirlenmiştir. DM grubunda (n=6) ise FE yanıtlarımız  $93.15 \pm 4.34$  olarak elde edilirken mitotempo tedavisi alan grupta (n=6) bu sonuçlar  $92.34 \pm 4.78$  olarak gözlenmiştir. Gruplar arasında herhangi anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 9)( $p < 0.05$ ).



Şekil 9: Kontrol grubu, diyabetik grup (DM) ve diyabet ile mitotempo tedavisinin birlikte uygulandığı gruplara ait korpus kavernosum dokusuna ait FE kasılma yanıtları.

#### 4.5. Korpus Kavernozum Dokusu Fenilefrin Kasılması Sonrası Asetilkolin İle Gevşeme Yanıtları

Deney protokolü sırasında  $10^{-6}$  M FE uygulaması sonrasında plato fazına ulaşan kasılma yanıtında  $10^{-9}$  M- $10^{-5}$  M Ach etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen Ach maksimum gevşeme yanıtları kontrol grubunda (n=6)  $78.74 \pm 12.18$ , DM grubunda (n=6)  $32.47 \pm 15.85$  ve mitotempo grubunda (n=6)  $63.16 \pm 24.78$  olarak bulunmuştur. Ach ile elde edilen maksimum gevşeme yanıtları  $10^{-6}$  M FE yanıtına göre oranlanarak değerlendirildiğinde DM grubu ile kontrol ve mitotempo arasında anlamlı farklılık gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda wistar sıçanlarda STZ ile oluşturulan diyabet modelinde mitotempo tedavisinin aorta (diyabetin makrovasküler komplikasyonlarını inceleyebilmek amacıyla) ve korpus kavernosum (KVH'ların habercisi olarak kabul edilen ve mikrovaskülariteye sahip olduğu için diyabetten hızlı bir şekilde etkilenen) endotelial disfonksiyonları üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar Wistar sıçanlarda 4 hafta süre oral gavaj ile 0.7 mg/kg mitotempo tedavisinin hiperglisemiye bağlı endotelial disfonksiyonda sınırlı koruyucu etkisini göstermiştir. Çalışmamızda diyabet oluşturduğumuz hayvan modellerinde sıklıkla kullanılan endotelial disfonksiyon korpus kavernosum ve aorta dokuları ile araştırılmıştır. Endotel üzerinde mitokondriyal ve non mitokondriyal pek çok oksidan sistemin etki gösterdiği bilinmektedir. Biz çalışmamızda ilk defa diyabet modelinde mitotempo tedavisi ile mitokondriyal antioksidan sistemin KK üzerine olan etkilerini değerlendirdik.

Endotelial disfonksiyon ve erektil disfonksiyon tedavisi yıllardan beri araştırılmaktadır. Şu ana kadar beşeri tıbbi ürün olarak kullanılan ajanlar primer hastalığın tedavisine sekonder olarak ED ile ilişkili semptomları azaltmayı/geriletmeyi hedeflemektedirler. Antioksidan tedaviler uzun yıllardır ED dışındaki pekçok hastalık modelinde denenmiş ve halen denenmektedir. Deney hayvanı diyabet modelinde endotel hasarı üzerine yapılan çalışmalarda antioksidanların ciddi koruyucu etkileri gösterilmiştir fakat klinik araştırmalarda henüz koruyucu etkinliği kanıtlanmış ve bu amaçla tedavide kullanılan bir antioksidan bulunmamaktadır. Bu etkisizlik ile ilgili olarak yapılan bir spekülasyon ise uygulanan antioksidanların mitokondri organeli gibi hücre içinde etki edememesi ve bu nedenle patolojik oksidatif hasar üzerine koruyucu bir etki gösteremedikleridir. Pek çok hücrel patolojik süreç ile ilgili olarak mitokondriyal farmakoloji günümüzde ilgi çekmekte ve konu üzerine yapılan araştırmalar da her gün artış göstermektedir.

Ateroskleroz, DM, koroner arter hastalıkları, hipertansiyon ve hiperkolesterolemi gibi pek çok hastalık ED'ye neden olmaktadır. Bu hastalıklarda ED oluşumu mitokondriyal disfonksiyon ile ilişkilendirilmiştir. Günümüzde diyabet sonucu oluşan ED'den mROS sorumlu tutulmaktadır(Wang ve ark. 2017).

Hipertansiyon fare modelinde mitotemponun antihipertansif etkisi çalışılmıştır. Bu çalışmada ATII'nin endotel mitokondrial süperoksit üretimini artırdığı ve mitotempo tedavisinin bu etkiyi geri çevirdiği gösterilmiştir. Çalışma sonuçlarında AT II ve DOCA-salt ile indüklenen hipertansiyon tedavisinde erken dönem ve geç dönemde etkili olduğu gösterilmiştir (Dikalova ve ark. 2010). Hipertansiyon tedavisinde mitokondriyal süperoksit oluşumunun tedavi amaçlı olarak hedeflendiği pek çok çalışma bulunmaktadır (Dikalov ve Dikalova 2016). Bu çalışmalar hipertansiyonun mitokondriyal süperoksit oluşumu sonrasında ortaya çıkması durumunda mitotempo tedavisinin bu endotel hücre stresini geriye çevirebileceği veya iyileştirebileceği yönündedir. Yapılan çalışmalarda bu antihipertansif etkinin doz bağımlı olarak etki gösterdiği belirtilmiştir (Dikalova ve ark. 2010).

Ateroskleroz sıklıkla hiperlipidemi sonrasında görülmesine rağmen diyabet de ateroskleroz için bir risk faktörü olarak tanımlanmaktadır. Ateroskleroz modeli açısından uygun olduğu bilinen APO E knockout fareler ile yapılan bir çalışmada mitotempo'nun endotel hücre aktivasyonunu ve aortaya monosit göçünü engellediği gösterilmiştir. Burada "endotel hücre aktivasyonu" olarak tanımlanan olay ateroskleroz/ED açısından başlangıç olarak belirtilmektedir. Mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin bu kaskadı aktive ettikleri düşünülmektedir. Mitotempo ise bu "başlangıç" aşamasında etki göstererek ateroskleroza önleyebilecek bir etkiye sahip görünmektedir (X. Li ve ark. 2016).

Nature'da yayınlanmış olan bir çalışmada mitotemponun preeklampsi üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir. Preeklampsi de DM'de olduğu gibi mitokondriyal fonksiyonlar üzerinden vasküler disfonksiyona neden olmaktadır. Bu çalışmada mitokondri hedefli antioksidan olan mitotempo ön tedavisi ile 200  $\mu$ M  $H_2O_2$  ile oluşturulan hücre ölümünü engellemiş ve preeklampsi modelinde başarılı sonuçlar göstermiştir (McCarthy ve Kenny 2016).

Sonuç olarak; endotel hücreler dolaşımdaki maddelere ilk olarak maruz kalan organlardan birisi olarak tanımlanabilir. Hipergliseminin indüklediği endotelial disfonksiyonda mROS'ların etkisi bilinmektedir. Biz de çalışmamızda mitokondrial bir antioksidan olan mitotempo kullanarak diyabete bağlı oluşan ED üzerine faydalı sonuçlar elde ettik.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sunulan bu çalışmada streptozotosin ile indüklenen diyabetli sıçanların mitotempo uygulanması sonucunda kontrol, diyabet ve diyabet + mitotempo grupları arasında aorta ve KK dokusunda FE kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişiklik olmazken yine bu gruplar arasında FE ile kasılan dokularda kümülatif Ach uygulaması sonucu elde edilen gevşeme yanıtlarında anlamlı bir sonuç elde edilmiştir.

Mitotempo uygulaması vazokonstriktör ajanların kasılma yanıtlarını değiştirmezken kasılan dokuların gevşeme yanıtlarını artırmaktadır. Diyabet+mitotempo grubunun ACh gevşeme yanıtlarının diyabet grubuna göre daha fazla olması mitotemponun diyabetin neden olduğu endotelial disfonksiyon ve ED'ye karşı koruyucu etkisinin olduğunu göstermiştir. Mitotemponun bu etkisinin mROS üretimini azaltması nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Mitotemponun ED ve endotel üzerindeki koruyucu etkisinin mekanizmasının tam olarak aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır.

## 7. KAYNAKLAR

- Agarwal A, Nandipati KC, Sharma RK, Zippe CD, Raina R. Role of Oxidative Stress in the Pathophysiological Mechanism of Erectile Dysfunction. *J Androl.* 2006;27(3):335–47.
- Ahmed N. Advanced glycation endproducts—role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005;67(1):3–21.
- Akimoto Y, Kreppel LK, Hirano H, Hart GW. Hyperglycemia and the O-GlcNAc transferase in rat aortic smooth muscle cells: elevated expression and altered patterns of O-GlcNAcylation. *Arch Biochem Biophys.* 2001;389(2):166–75.
- American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2018. *Diabetes Care.* 2018;41(Supplement 1):S13–27.
- Arcaro G, Cretti A, Balzano S, Lechi A, Muggeo M, Bonora E, et al. Insulin causes endothelial dysfunction in humans: sites and mechanisms. *Circulation.* 2002;105(5):576–82.
- Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol.* 1996;
- Behrendt D, Ganz P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol.* 2002;90(10C):40L–48L.
- Birch-Machin MA, Turnbull DM. Assaying mitochondrial respiratory complex activity in mitochondria isolated from human cells and tissues. *Methods Cell Biol.* 2001;65:97–117.
- Birch-Machin MA. The role of mitochondria in ageing and carcinogenesis. *Clin Exp Dermatol.* 2006;31(4):548–52.
- Bivalacqua TJ, Armstrong JS, Biggerstaff J, Abdel-Mageed AB, Kadowitz PJ, Hellstrom WJG, et al. Gene transfer of extracellular SOD to the penis reduces O<sub>2</sub>· and improves erectile function in aged rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;284(4):H1408–21.
- Bivalacqua TJ, Usta MF, Champion HC, Kadowitz PJ, Hellstrom WJG. Endothelial dysfunction in erectile dysfunction: role of the endothelium in erectile physiology and disease. *J Androl.* 24(6 Suppl):S17–37.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001;414(6865):813–20.
- Bucala R, Tracey KJ, Cerami A. Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilatation in experimental diabetes. *J Clin Invest.* 1991;87(2):432–8.
- Burnett AL, Lowenstein CJ, Bredt DS, Chang TS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science.* 1992;257(5068):401–3.
- Burnett AL, Nelson RJ, Calvin DC, Liu JX, Demas GE, Klein SL, et al. Nitric oxide-dependent penile erection in mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Mol Med.* 1996;2(3):288–96.
- Cade WT. Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. *Phys Ther.* 2008;88(11):1322–35.
- Calles-Escandon J, Cipolla M. Diabetes and Endothelial Dysfunction: A Clinical Perspective. *Endocr Rev.* 2001;22(1):36–52.
- Carrizzo A, Ambrosio M, Damato A, Madonna M, Storto M, Capocci L, et al. Morus alba extract modulates blood pressure homeostasis through eNOS signaling. *Mol Nutr Food Res.* 2016;60(10):2304–11.
- Chikezie PC, Ojiako OA, Ogbuji AC. Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. *Int J Biol Chem.* 2015;9(3):92–109.
- Costa C, Virag R. The endothelial-erectile dysfunction connection: an essential update. *J Sex Med.* 2009;6(9):2390–404.
- De Tejada IS, Angulo J, Celtek S, González-Cadavid N, Heaton J, Pickard R, et al. Pathophysiology of Erectile Dysfunction. *J Sex Med.* 2005;2(1):26–39.

- De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol*. 2000;130(5):963–74.
- Dikalov SI, Dikalova AE. Contribution of mitochondrial oxidative stress to hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2016;25(2):73–80.
- Dikalova AE, Bikineyeva AT, Budzyn K, Nazarewicz RR, McCann L, Lewis W, et al. Therapeutic Targeting of Mitochondrial Superoxide in Hypertension. *Circ Res*. 2010;107(1):106–16.
- Dobrian AD, Davies MJ, Schriver SD, Lauterio TJ, Prewitt RL. Oxidative stress in a rat model of obesity-induced hypertension. *Hypertension*. 2001;37(2 Pt 2):554–60.
- Dostert C, Pétrilli V, Van Bruggen R, Steele C, Mossman BT, Tschopp J. Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. *Science*. 2008;320(5876):674–7.
- Epe B. DNA damage spectra induced by photosensitization. *Photochem Photobiol Sci*. 2012;11(1):98–106.
- Epstein FH, Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond Cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*. 1989;320(14):915–24.
- Federici M, Menghini R, Mauriello A, Hribal ML, Ferrelli F, Lauro D, et al. Insulin-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase is impaired by O-linked glycosylation modification of signaling proteins in human coronary endothelial cells. *Circulation*. 2002;106(4):466–72.
- Félétou M. The endothelium, Part I: Part 1: Multiple Functions of the Endothelial Cells—Focus on Endothelium-Derived Vasoactive Mediators. San Rafael: Morgan & Claypool Life Sciences; 2011. 1–306 p.
- Fennell JP, Brosnan MJ, Frater AJ, Hamilton CA, Alexander MY, Nicklin SA, et al. Adenovirus-mediated overexpression of extracellular superoxide dismutase improves endothelial dysfunction in a rat model of hypertension. *Gene Ther*. 2002;9(2):110–7.
- Goldstein AM, Meehan JP, Morrow JW, Buckley PA, Rogers FA. The fibrous skeleton of the corpora cavernosa and its probable function in the mechanism of erection. *Br J Urol*. 1985;57(5):574–8.
- Goldstein I, Young JM, Fischer J, Bangerter K, Segerson T, Taylor T. Vardenafil, a new phosphodiesterase type 5 inhibitor, in the treatment of erectile dysfunction in men with diabetes: A multicenter double-blind placebo-controlled fixed-dose study. *Diabetes Care*. 2003;
- Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*. 2000;86(5):494–501.
- Gryglewski RJ, Palmer RMJ, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature*. 1986;320(6061):454–6.
- Hedlund P, Aszodi A, Pfeifer A, Alm P, Hofmann F, Ahmad M, et al. Erectile dysfunction in cyclic GMP-dependent kinase I-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci*. 2002;
- Hurt KJ, Musicki B, Palese MA, Crone JK, Becker RE, Moriarty JL, et al. Akt-dependent phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase mediates penile erection. *Proc Natl Acad Sci*. 2002;
- IDF. IDF Diabetes Atlas 8th Edition. Int Diabetes Fed. 2017;
- Immo E. Scheffler. Mitochondria. Wiley. 2011, 2<sup>nd</sup> Edt, New York, p:483
- Just A, Whitten CL, Arendshorst WJ. Reactive oxygen species participate in acute renal vasoconstrictor responses induced by ETA and ETB receptors. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;294(4):F719–28.
- Kim J, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation*. 2006;113(15):1888–904.
- Kolodny RC, Kahn CB, Goldstein HH, Barnett DM. Sexual dysfunction in diabetic men. *Diabetes*. 1974;23(4):306–9.
- Li J-M, Shah AM. Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular

- pathophysiology. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004;287(5):R1014-30.
- Li X, Fang P, Li Y, Kuo Y-M, Andrews AJ, Nanayakkara G, et al. Mitochondrial Reactive Oxygen Species Mediate Lysophosphatidylcholine-Induced Endothelial Cell Activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36(6):1090–100.
- Liu Y, Fiskum G, Schubert D. Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. *J Neurochem*. 2002;80(5):780–7.
- Maxwell AJ. Mechanisms of Dysfunction of the Nitric Oxide Pathway in Vascular Diseases. *Nitric Oxide*. 2002;6(2):101–24.
- McCarthy C, Kenny LC. Therapeutically targeting mitochondrial redox signalling alleviates endothelial dysfunction in preeclampsia. *Sci Rep*. 2016;6(1):32683.
- Meewes C, Brenneisen P, Wenk J, Kuhr L, Ma W, Alikoski J, et al. Adaptive antioxidant response protects dermal fibroblasts from UVA-induced phototoxicity. *Free Radic Biol Med*. 2001;30(3):238–47.
- Meredith IT, Anderson TJ, Yeung AC et al. Superoxide dismutase restores endothelial vasodilator function in human coronary arteries in vivo. *Circulation*. 1993;88(1):467.
- Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*. 1976;263(5579):663–5.
- Navab M, Imes SS, Hama SY, Hough GP, Ross LA, Bork RW, et al. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest*. 1991;88(6):2039–46.
- Nedeljkovic ZS, Gokce N, Loscalzo J. Mechanisms of oxidative stress and vascular dysfunction. *Postgrad Med J*. 2003;79(930):195–200.
- Nesto RW. Correlation between cardiovascular disease and diabetes mellitus: current concepts. *Am J Med*. 2004;116(5):11–22.
- Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*. 2000;404(6779):787–90.
- Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest*. 1993;91(6):2546–51.
- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987;327(6122):524–6.
- Palumbo PJ. Metabolic Risk Factors, Endothelial Dysfunction, and Erectile Dysfunction in Men With Diabetes. *Am J Med Sci*. 2007;334(6):466–80.
- Poornima IG, Parikh P, Shannon RP. Diabetic cardiomyopathy: the search for a unifying hypothesis. *Circ Res*. 2006;98(5):596–605.
- Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griending KK, et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest*. 1996;97(8):1916–23.
- Robin P, Boulven I, Desmyter C, Harbon S, Leiber D. ET-1 stimulates ERK signaling pathway through sequential activation of PKC and Src in rat myometrial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002;283(1):C251–60.
- Rolo AP, Palmeira CM. Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2006;212(2):167–78.
- Samuel SM, Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Koneru S, Zhan L, Maulik G, et al. Thioredoxin-1 gene therapy enhances angiogenic signaling and reduces ventricular remodeling in infarcted myocardium of diabetic rats. *Circulation*. 2010;121(10):1244–55.
- Scheen AJ. Pathophysiology of type 2 diabetes. *Acta Clin Belg*. 2003;58(6):335–41.

- Shi Y, Vanhoutte PM. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes. *J Diabetes*. 2017;9(5):434–49.
- Shindo Y, Witt E, Han D, Epstein W, Packer L. Enzymic and non-enzymic antioxidants in epidermis and dermis of human skin. *J Invest Dermatol*. 1994;102(1):122–4.
- Soeur J, Eilstein J, Léreaux G, Jones C, Marrot L. Skin resistance to oxidative stress induced by resveratrol: from Nrf2 activation to GSH biosynthesis. *Free Radic Biol Med*. 2015;78:213–23.
- Srinivasan S, Hatley ME, Bolick DT, Palmer LA, Edelstein D, Brownlee M, et al. Hyperglycaemia-induced superoxide production decreases eNOS expression via AP-1 activation in aortic endothelial cells. *Diabetologia*. 2004;47(10):1727–34.
- Trnka J, Blaikie FH, Smith RAJ, Murphy MP. A mitochondria-targeted nitroxide is reduced to its hydroxylamine by ubiquinol in mitochondria. *Free Radic Biol Med*. 2008;44(7):1406–19.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS). VIII. Study design, progress and performance. *Diabetologia*. 1991;34(12):877–90.
- Vallance P. Importance of asymmetrical dimethylarginine in cardiovascular risk. *Lancet*. 2001;358(9299):2096–7.
- Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish RD, Yeung AC, et al. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation*. 1990;81(2):491–7.
- Vlachopoulos C, Ioakeimidis N, Terentes-Printzios D, Stefanadis C. The triad: erectile dysfunction--endothelial dysfunction--cardiovascular disease. *Curr Pharm Des*. 2008;14(35):3700–14.
- Wang Q, Zhang M, Torres G, Wu S, Ouyang C, Xie Z, et al. Metformin Suppresses Diabetes-Accelerated Atherosclerosis via the Inhibition of Drp1-Mediated Mitochondrial Fission. *Diabetes*. 2017;66(1):193–205.
- Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest*. 1991;88(6):1785–92.
- Wolin MS. Interactions of oxidants with vascular signaling systems. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(6):1430–42.
- Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332(6163):411–5.
- Yu HY, Inoguchi T, Kakimoto M, Nakashima N, Imamura M, Hashimoto T, et al. Saturated non-esterified fatty acids stimulate de novo diacylglycerol synthesis and protein kinase c activity in cultured aortic smooth muscle cells. *Diabetologia*. 2001;44(5):614–20.
- Zou H, Henzel WJ, Liu X, Lutschg A, Wang X. Apaf-1, a human protein homologous to C. elegans CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3. *Cell*. 1997;90(3):405–13.

## **8. ÖZGEÇMİŞ**

1985 yılı Kayseri Tomarza doğumluyum. Ortaöğretimi Konya Meram Anadolu Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2008 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden mezun oldum. 2011 yılında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. 2010 yılından beri serbest eczanemde çalışmaktayım.

## 9. EKLER

### 9.1. Etik Onay



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
KONÜDAM Deneyel Tıp Uygulama ve  
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2018 – 034

Karar Tarihi: 19.10.2018

#### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji A.D.'den Doç.Dr.Burak Cem SONER ve Eser YILDIZ tarafından sunulan **"Streptozotosin ile İndüklenen Diyabetli Sıçan Aort ve Korpus Cavernosum Dokularında Mitotempo'nun Endotel Üzerine Muhtemel Koruyucu Etkisi"** başlıklı tez projesi 10 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projedeki hayvanların 2017-015 etik sayılı, **"Streptozotosin ile İndüklenen Diyabet Modelinde MitoTEMPO'nun Sıçan Siyatik Sinir İletimi Hız Dağılımına Etkisi"** başlıklı projeden kullanılacağı ilave hayvan kullanılmayacağı bildirilmiştir.

Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin, Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneyel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ndeki ilgili maddeler gereğince "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneyel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ndeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneyel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "Uygun" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof.Dr.Selim KUTLU  
Başkan

Prof.Dr.Lema TAVLI  
Üye-Katılmadı

Prof.Dr.Ayşe Saide  
ŞAHİN  
Üye

Prof.Dr.Mehmet GÜL  
Üye

Prof.Dr.Tevfik  
KÜÇÜKKARTALLAR  
Üye

Doç.Dr.Ercan KURAR  
Üye

Doç.Dr.Hasan Hüseyin  
KOZAK  
Üye

Dr.Öğr.Üyesi Ömer  
TANIR  
Üye

Vet.Hek.Melik Aydın  
ŞİMŞEK  
Üye

Vet.Hek.Alpaslan ÖZKÜRÇÜLER  
Üye

Mustafa ŞİRİN  
Üye

Adres : Meram Tıp Fakültesi Kampüsü 42080 Akyokuş — Meram / KONYA  
Tel : +90 332 223 71 11 e-posta : [konudam@konya.edu.tr](mailto:konudam@konya.edu.tr)  
Faks : +90 332 223 71 24 Elektronik Ağ : <http://www.konya.edu.tr/merkezler/konudam>