

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STREPTOZOTOSİN-DİYABETİK SIÇAN İZOLE GASTRİK
FUNDUS PREPARATINDA β -ADRENERJİK RESEPTÖR
YANITLARINDAKİ OLASI DEĞİŞİKLİKLER

Işıl ÖZAKCA

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. A. Tanju ÖZÇELİKAY
2005-ANKARA

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Yüksek Lisans Tezi olarak KABUL EDİLMİŞTİR

Tez Savunma Tarihi: 15 /07 / 2005



Jüri Başkanı
Prof.Dr.V.Melih ALTAN



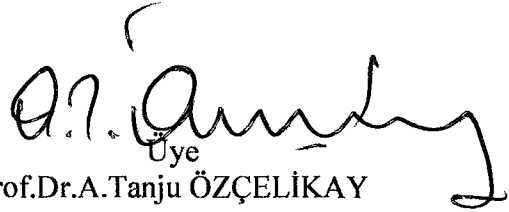
Üye
Prof.Dr.Eyüp Sabri AKARSU



Üye
Prof.Dr.Can PEKİNER



Üye
Prof.Dr.Gülgün OZANSOY



Üye
Prof.Dr.A.Tanju ÖZÇELİKAY

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖNSÖZ.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VIII
ŞEKİLLER.....	IX
TABLolar.....	X
1. GİRİŞ.....	1
1.1. "DIABETES MELLITUS"	1
1.2. DİYABETİN YOL AÇTIĞI GASTROİNTESTİNAL KANAL BOZUKLUKLARI İLE İLGİLİ KLİNİK BELİRTİLER :	3
1.2.1. Özafagal Bozukluklar:	4
1.2.2. İnce bağırsak disfonksiyonu.....	5
1.2.3. Diyabetik diyare	5
1.2.4. Konstipasyon.....	6
1.2.5. Abdominal ağrı.....	7
1.2.6. Safra kesesi bozuklukları ve Karaciğer hastalıkları	8
1.2.7. Pankreatik hastalıklar.....	8
1.2.8. Anorektal bozukluklar.....	9
1.2.9. Gastrik bozukluklar (Diyabetik Gastropati).....	9
1.2.9.1. Gastroparesis.....	12
1.2.9.2. Gastrik Ritim Bozukluğu	14
1.2.9.3. Antral Motilite ve Gevşeme Bozuklukları.....	14
1.2.9.4. Antroduodenal Koordinasyon Bozukluğu	15
1.2.9.5. Gastrik Tonüs Bozukluğu.....	15
1.2.9.6. Gastritis.....	16
1.3. GASTROİNTESTİNAL KANAL DÜZ KASİ ÜZERİNDE DENEYSEL DİYABETİN NEDEN OLDUĞU YAPISAL VE FONKSİYONEL DEĞİŞİKLİKLER:	17
1.3.1. Yapısal Değişiklikler.....	17
1.3.2. Fonksiyonel Değişiklikler.....	18

1.4. BETA 3-ADRENOSEPTÖRLER	23
1.4.1. Beyaz Adipositler.....	24
1.4.2. Kahverengi adipositler.....	26
1.4.3. Gastrointestinal kanal.....	27
1.4.4. Kalp	29
1.4.5. Damar.....	31
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
2.1.KULLANILAN GEREÇLER.....	34
2.1.1. Malzemeler.....	34
2.1.2. Kimyasal maddeler.....	35
2.1.3. Deney hayvanları.....	35
2.2. KULLANILAN YÖNTEMLER	36
2.2.1. Deneysel diyabetin oluşturulması.....	36
2.2.2. Mide fundus preparatının hazırlanması.....	36
2.2.3. Deneysel protokol.....	37
2.2.4. Schild plot.....	38
2.2.5. Biyokimyasal Analizler	39
2.2.6. Total RNA Ekstraksiyonu:.....	39
2.2.7. RT-PCR.....	40
2.2.8. PCR	41
2.2.9. Jel Elektroforezi	43
2.2.10. İstatistiksel Analiz.....	43
3. BULGULAR.....	44
3.1. İZOLE SIÇAN MIDE FUNDUS ŞERİTLERİNDE ISOPRENALIN İLE ELDE EDİLEN GEVŞEME YANITLARI	44
3.2. İZOLE SIÇAN MIDE FUNDUS ŞERİTLERİNDE BRL 37344 İLE ELDE EDİLEN GEVŞEME YANITLARI	46
3.3. İSOPRENALIN VE BRL 37344 YANITLARI ÜZERİNDE SR 59230A’NIN ETKİSİ	46
3.4. KCL İLE ÖN KASILMA OLUŞTURULMUŞ MIDE FUNDUS PREPARATLARINDA BRL 37344 GEVŞEME YANITLARI	49
3.5. KONTROL VE DİYABETİK SIÇANLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ	50
3.6. DENEYSEL DİYABETİN MIDE FUNDUSDAKİ KASILMA VE GEVŞEME YANITLARI ÜZERİNE ETKİSİ	50
3.7. B-AR MRNA EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	53
4. TARTIŞMA.....	55
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
ÖZET.....	63

SUMMARY.....65

KAYNAKLAR.....67

ÖZGEÇMİŞ88





Ailem'e ve her an benimle birlikte olduğunu hissettiğim Babam'a,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimimin başından sonuna dek bilimsel anlayışı ve çalışma prensipleri ile akademik gelişimimde çok büyük pay sahibi olan, çalışmamın her aşamasında bitmek bilmeyen hoşgörü, sabır ve anlayış ile hiç bir konuda yardımını esirgemeyen tez danışmanım, hocam, Sayın Prof. Dr. A. Tanju ÖZÇELİKAY'a,

Akademik kişiliği ve hayat görüşü ile hepimize hayatla ilgili yeni ufuklar açan, öğrencisi olmaktan hayatım boyunca gurur duyacağım hocam, Prof. Dr. V. Melih ALTAN'a,

Beni arkadaşlıklarıyla onurlandıran, hayatın tüm eksikliklerini ve kayıplarını benimle paylaşan, bana bildikleri her şeyi öğretmek için sonsuz bir çaba gösteren ve her koşulda bana destek olan Uzm. Ecz. Ebru ARIOĞLU ve Uzm. Ecz. Şahika GÜNER'e,

İlgisini ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim Dr. Arzu Onay-BEŞİKÇİ'ye,

Çalışmam süresince hiç bir konuda yardımını esirgemeyen Uzm. Ecz. Aydın TAY'a,

Bir çok güzel anıya ortaklık ettiğim Uzm. Ecz. Uğur YAZGAN, Uzm. Ecz. Aslı Ceylan-IŞIK ve Dr. Ali Murat IRAT'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca sağlamış oldukları burs nedeniyle TÜBİTAK-Bilim Adamı Yetiştirme Grubu'na,

ŞÜKRANLARIMI SUNARIM.

SİMGELER VE KISALTMALAR

IDDM	Insulin-Dependent Diabetes Mellitus
NIDDM	Non- Insulin-Dependent Diabetes Mellitus
AGE	Advanced Glycation End Product
AMP	Adenosine Mono Phosphate
GMP	Guanine Mono Phosphate
PKC	Protein Kinase C
cDNA	Complementary DNA
BK _{Ca}	Ca ⁺² -duyarlı K ⁺ kanalları
K _V	Voltaja bağımlı, Ca ⁺² -duyarlı olmayan K ⁺ kanalları
K _{ATP}	ATP'ye bağımlı K ⁺ kanalları
STZ	Streptozotosin
ALL	Alloksan
VIP	Vazoaktif İntestinal Polipeptid
β-AR	Beta adrenerjik reseptör
KCl	Potasyum klorür
G _I	İnhibitör nitelikteki G proteini
G _S	Stimülatör etkinlikteki G proteini
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
AKO	Agonist Kayma Oranı
NANC	Non-Adrenergic Non-Cholinergic
SOD	Süper Oksid Dismutaz

ŞEKİLLER

Şekil 1.1	Yemek sonrası midede görülen motilite olayları	10
Şekil 1.2	Diyabetik hastaların midelerini etkileyen çeşitli nöromusküler bozukluklar	15
Şekil 2.1	PCR reaksiyonunda kullanılan primerlerin $MgCl_2$ konsantrasyonları, tutunma dereceleri ve ürün büyüklükleri	42
Şekil 3.1	Sıçan izole mide fundusunda isoprenalin konsantrasyon yanıt eğrisi üzerinde; (a) nadololün etkisi, (b) İsoiprenalin yanıtlarının zamana bağlı değişimi, (c) a grafiğindeki veriler kullanılarak çizilen Schild grafiği.	45
Şekil 3.2	Sıçan mide fundusunda (a) isoprenalin ve (b) BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrilerinin traseleri.	47
Şekil 3.3	Sıçan izole mide fundusunda isoprenalin konsantrasyon yanıt eğrisi üzerinde; (a), 1 μM nadolol varlığında SR 59230A'nın etkisi; (b), (a) grafiğindeki veriler kullanılarak çizilen Schild grafiği; (c), 1 μM nadolol varlığında BRL 37344 konsantrasyon yanıt eğrisi üzerine 1 μM SR 59230A'nın etkisi.	48
Şekil 3.4	Yüksek konsantrasyonda KCl'ün BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerine olan etkisi.	49
Şekil 3.5	Karbakol (a), isoprenalin (b) ve BRL 37344 (c) konsantrasyon yanıt eğrileri	52
Şekil 3.6	Diyabetik ve kontrol grupta PCR reaksiyonu sonucu elde edilen (A) β_2AR ve (B) β_3AR ait sinyallerin (C) β -aktin değerlerine oranlanmasıyla elde edilen band fotoğrafları ve bunlara ait bar grafikleri	54

TABLÖLAR

Çizelge 3.1	İsoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrisinde nadolol için hesaplanan pK_B değerleri	44
Çizelge 3.2	Sıçan mide fundusunda nadolol (1 μ M) varlığında ve yokluğunda BRL 37344'in gevşeme grafiğinin her iki parçası ve tamamı için bulunan pD_2 değerleri	46
Çizelge 3.3	Kontrol ve diyabetik sıçanların beden ağırlıkları, biyokimyasal değerleri ve fundus şeritlerinin özellikleri	50
Çizelge 3.4	Kontrol ve diyabetik grupta BRL 37344 ile elde edilen gevşeme yanıtının birinci ve ikinci fazları ile tamamı için hesaplanan pD_2 değerleri ve maksimum gevşeme yanıtları.	51

1. GİRİŞ

1.1.”Diabetes Mellitus”

“Diabetes mellitus” hiperglisemi, değişen yağ, karbonhidrat ve protein metabolizması ve vasküler hastalık komplikasyonlarında artan risk ile karakterize bir sendromlar topluluğudur. Bir çok hasta klinik açıdan tip I diabetes mellitus (insulin-bağımlı diyabet ya da IDDM) ya da tip 2 diabetes mellitus (insuline bağımlı olmayan diyabet ya da NIDDM) olarak sınıflandırılmaktadır (Alberti ve Zimmet, 1998; Expert Committee, 1997).

Diyabet tiplerinin görülme sıklığı ülkelere göre farklılıklar göstermektedir. Amerika’da tüm diyabetik hastaların %5’i ile 10’u tip I diyabetiktir ve bu oran yılda her 100.000 kişinin 18’ine denk gelmektedir. Benzer bir görülme sıklığı İngiltere’de de vardır (her 100.000 kişide 17). Öte yandan tip I diyabetin Avrupa’da en yüksek ve en düşük oranda görüldüğü ülkeler sırasıyla Finlandiya (her 100.000 kişide 43) ve Fransa ve İtalya (her 100.000 kişide 8) bulunmuştur. Bununla birlikte bu oran Japonya (her 100.000 kişide 1) ile karşılaştırıldığında oldukça yüksektir (Davis and Granner, 2001).

Diyabetli hastaların büyük bir kısmını tip 2 diyabetikler oluşturmaktadır. Amerika’da bütün diyabetik hastaların %90’ı tip 2 diyabetiktir ve yaşlanmaya bağlı olarak her yıl 100.000 kişinin 440’ında beraber artmaktadır. Tip I diyabetiklerin tersine tip 2 diyabetin görülme sıklığı Güney Avrupa’ya (her 100.000 kişide 800) göre Kuzey Avrupa’da (her 100.000 kişide 100-250) daha düşüktür (Davis and Granner, 2001).

Bugün dünyada diyabetik hasta sayısı 125 milyon’dan daha fazladır ve 2010 yılında bu sayının 220 milyona yaklaşacağı tahmin edilmektedir (Amos ve ark, 1997). Bazı araştırmacılar 2025 yılında görülme sıklığının ikiye katlanacağını beklemektedirler. Tip

I diyabetin artma nedeni bilinmemektedir. Öte yandan Tip 2 diyabet sayısındaki artışın genetik nedenlere bağlı olamayacak kadar hızlı olması, öteki faktörlerin (artan yaş, obezite, hareketsiz yaşam, düşük doğum ağırlığı gibi) bu dramatik artışa katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (Davis and Granner, 2001).

Diyabetin en önemli nedenleri dolaşımdaki insülin eksikliği ve/veya periferel dokuların insüline yanıt verme yeteneğinin (insülin rezistansı) azalmasıdır. Bu hormonal bozukluk karbonhidrat, yağ, amino asit ve keton metabolizmasında değişikliklere yol açmaktadır. Sendromun en belirgin özelliği ise hiperglisemi oluşumudur. Bu nedenle insülin tip 1 diyabetik hastaların tamamı ve tip 2 diyabetik hastaların bir çoğunda diyabet tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Bununla birlikte tip 2 diyabet tedavisinde ilk olarak çoğunlukla oral hipoglisemik ilaçlar tercih edilmektedir. Ne var ki, diyabet süresi uzadıkça hipergliseminin kontrol altına alınabilmesi için insülin kullanılması gerekebilir.

Diyabet tedavisinin etkin olarak yapılması bu hastaların yaşam kalitelerini ve ortalama yaşam sürelerini uzatabilmektedir. Bununla birlikte, kan şekerinin optimal düzeyde kontrol altına alındığı hastalarda bile diyabete bağlı çeşitli komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle antidiyabetik tedavide yeni yaklaşım, sadece yüksek kan şekerini azaltmak değil, aynı zamanda diyabetin ileri döneminde ortaya çıkabilecek komplikasyonları önlemektedir.

Klinikte diyabetiklerde görülen komplikasyonları nörolojik (periferel ve otonomik nöropati), kardiyovasküler (mikro ve makroanjyopati, ateroskleroz, konjestif kalp yetmezliği, hipertansiyon), gastrointestinal (gastropati), ürolojik (nefropati), oftalmik (retinopati), hematolojik (platelet agregasyonu, glikozillenmiş hemogloblin düzeyinin artması) ve üreme sistemi (impotens) ile ilgili bozukluklar şeklinde sınıflara ayırmak mümkündür.

Diyabetiklerde uzun dönemde ortaya çıkan yukarıdaki komplikasyonların etyopatolojisinin araştırılmasında deneysel diyabet hayvan modellerinden sıklıkla yararlanılmaktadır. Bu amaçla STZ veya ALL gibi kimyasal maddeler deneysel

diyabet oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu kimyasalların yetişkin sıçan ya da farelere injeksiyonu klinikte insüline bağımlı tip 1 diyabeti taklit ederken yeni doğmuş rodentlere uygulanması insüline bağımlı olmayan tip 2 diyabetin oluşmasını sağlamaktadır.

Deneysel diyabetik hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmalar, diyabetik komplikasyonların gelişmesinde oksidatif strese bağlı olarak dört mekanizmanın rol oynayabileceğini göstermektedir. Bunlar (Brownlee, 2001): 1. Poliöl yolağındaki artış, 2. AGE (ileri düzeyde glikozillenmiş protein) oluşumundaki artış, 3. PKC izoformlarının aktivasyonu ve 4. heksamin yolağındaki artış olarak sıralanabilir.

1.2. Diyabetin yol açtığı gastrointestinal kanal bozuklukları ile ilgili klinik belirtiler :

Gastrointestinal motilite bozuklukları diyabetikler arasında oldukça yaygındır. Diyabetlilerin %75'inden fazlasının diyabetik nöropatinin etkileri ile doğrudan ilgili gastrointestinal belirtilere sahip olabileceği tahmin edilmektedir (Rundles, 1945). Hastalar şiddetli gastrointestinal komplikasyonlardan hafif rahatsızlıklara kadar değişen bir belirti spektrumuna sahip olabilirler. Motilite bozuklukları diyabetiklerde yaygındır, ancak bu bozukluklar genelde belirtilerin şiddeti ile paralellik göstermemektedir. Bir başka anlatımla asemptomatik diyabetik hastaların gastrointestinal fonksiyonlarında bozukluklar olabilmektedir. Disfaji ve yemek sonrası erken doyumluk gibi hafif gastrointestinal rahatsızlıklar, diyabetin yol açtığı nefropati, retinopati ve kardiovasküler bozukluklarla karşılaştırıldığında hastalar ve hekimler tarafından göz ardı edilebilmektedir (Verne ve Sninsky, 1998).

Bir çok diyabetik hastada metabolik bozukluklar ya da akut diyabetik ketoasidosis sırasında gastrointestinal fonksiyonlarında geçici değişiklikler görülebilmektedir. Diyabetik ketoasidosis sırasında akut olarak ortaya çıkan midedeki genişleme, nasogastrik tüpün yerleştirilmesi ve asidozisin düzeltilmesi ile normale dönmektedir. Öte yandan renal yetmezlik sırasında ortaya çıkan hipermagnezemi intestinal

motiliteyi baskılamaktadır. Genel olarak diyabetin neden olduğu gastrointestinal bozukluklarla ilgili klinik belirtilere insüline bağımlı, glukoz kontrolü iyi olmayan, yaşlı ve otonomik fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak periferik nöropati gelişmiş olan hastalarda daha fazla rastlanmaktadır (Verne ve Sninsky, 1998).

Diyabetik hastalarda görülen gastrointestinal sistemdeki motilite bozukluklarının patogenezi tam olarak bilinmemekle beraber, değişen sempatik fonksiyon ve kolinerjik denervasyonun bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Yapılan araştırmalar diyabetik nöropatinin, vagus siniri, sempatik ganglion, postganglionik sempatik sinirler ve intramural adrenerjik plexusta oluştuğunu göstermiştir (Belai ve ark, 1991; Kassander, 1958; Schmidt ve ark, 1989). Buna ek olarak diyabetik sıçanlarda met-enkephalin, serotonin, kalsitonin gen ilişkili peptid, P maddesi ve peptid Y gibi nörotransmitterlerin azaldığı saptanmıştır (Di Giulio ve ark, 1989; Lincoln ve ark, 1984; Lucas ve Sardar, 1991).

1.2.1. Özafagal Bozukluklar:

Periferik nöropatinin bulunduğu diyabetiklerde özafagusa ait motilite bozuklukları sıklıkla görülmektedir (Pozzi ve ark, 1988; Russel ve ark, 1983). Diyabetli hastalarda düşük alt özafagal sfinkter basıncı, özafagal kontraksiyonların sıklığında azalma, özafagusun gövdesinde eş zamanlı ve peristaltik olmayan kasılmalar tanımlanmış olmasına karşın (Hollis ve ark, 1977; Mandelstam ve ark, 1969) özafagal hastalık belirtileri (göğüs ağrısı, disfaji, özefagusta yanma hissi) diyabetiklerin sadece %30'unda ortaya çıkmaktadır (Feldman ve Schiller, 1983). Belirtilerin seyrek görülmesinin nedeni, diyabetik nöropatiye bağlı olarak afferent duyu sinir fonksiyonundaki bir bozukluğun sonucu olabilir. Bu bozukluklar özellikle gastroparesis'in de görüldüğü diyabetik hastalarda belirgindir (Keshavarzian ve ark, 1987; Sundkvist ve ark, 1989). Diyabette ortaya çıkan özafagus bozukluklarının patofizyolojisi düz kas fonksiyonuyla ilgili olmayıp, büyük oranda otonomik nöropati kaynaklıdır (Hollis ve ark, 1977). Diyabetliklerdeki histolojik çalışmalar

otonomik disfonksiyonun rolünü destekler biçimde vagus sinirinde hasar olduğunu ortaya koymuştur (Smith, 1974).

Motilite bozukluklarına ek olarak, özellikle nöropati gelişmiş olan diyabetiklerde yiyeceklerin özafagustan geçiş süresi de uzamaktadır (Keshavarzian ve ark, 1987a; Stewart ve ark, 1976; Murray ve ark, 1987). Öte yandan, düşük alt özafagal sfinkter basıncı nedeniyle diyabetiklerde gastroözafagal reflü, nöropatiden bağımsız olarak görülebilmektedir (Stewart ve ark, 1976).

1.2.2. İnce bağırsak disfonksiyonu

Diyabetik gastroparezisli hastalarda intestinal motilitede değişiklikler görülmektedir. (Camilleri ve Malagelada, 1984; Newihi ve ark, 1988; Verne ve Sninsky, 1995). Buna ek olarak, insüline bağımlı diyabetlilerin % 33'ünde sıvı yiyeceklerin ince barsaktan geçiş süresinin uzadığı saptanmıştır (Keshavarzian ve Iber, 1986). Geciken intestinal geçiş ve barsağın motor aktivitesinin kaybolması diyare ile sonuçlanan bakteriyel üremeye neden olabilmektedir. Buna karşılık bazı diyabetik hasta gruplarında ise barsak boşalmasının hızlandığı ve bunun da diyabetik diyarenin nedenlerinden biri olabileceği ileri sürülmüştür.

1.2.3. Diyabetik diyare

Otonomik nöropati bulunan diyabetiklerde görülen en belirgin gastrointestinal semptomlardan biri diyabetik diyaredir (Saslow ve Camilleri, 1995). Diyabetik diyare diyabetiklerin %20'sinde görülmektedir. Daha sık olarak erkeklerde rastlanmakta ve geceleri daha şiddetlenmektedir. Diyabetik diyarenin nedeni halen tam olarak anlaşılamamıştır ve çok sayıda faktöre bağlı olduğu düşünülmektedir. Şüphesiz, hastalarda diyabetik diyare teşhisi doğrulanmadan önce rutin olarak enterik patojenler (virüsler, parazitler, bakteriler), enflamatuvar ince barsak hastalığı ve ince barsak tümör olasılığı için tetkikler yapılmalıdır.

Yukarıda belirtildiği gibi mide ve ince barsaktaki motilite bozuklukları diyabetik diyarenin nedeni olabilir. Ancak diyabetik diyareye ilişkin ince bağırsaktaki motilite çalışmaları geniş değildir ve sonuçlar çelişkilidir (Whalen ve ark, 1969; McNally ve ark, 1969; Drewes, 1971). Bu çelişkili sonuçlara bakılarak iki ayrı hasta grubu olduğu düşünülebilir: hızlı geçişin olduğu birinci grupta hızlı intestinal geçiş nedeniyle diyare görülmektedir; yavaş geçişin olduğu ikinci grupta ise bakteriyel üremeye yatkınlık vardır.

Motilite bozukluğu sonucu gastrointestinal geçiş süresinin uzaması, mide ve ince barsağın üst kısmında bakteri üremesine yol açmaktadır (Goldstein ve ark, 1970; Sumi ve Finday, 1961). Üreyen bakteriler ince bağırsağın üst lümeninde bulunan safra tuzlarıyla etkileşerek misel oluşumunu engellerler. Sonuç olarak yağ malabsorbsiyonu ve yağlı dışkı nedeniyle diyare görülür. Bununla birlikte diyare şikayeti bulunan her hastada yağlı dışkı görülmemektedir. Öte yandan antibiyotik tedavisinin etkili olması, diyabetik diyarede bakteriyel üremenin önemini kanıtlamaktadır.

Diğer bir olası mekanizma ise otonomik disfonksiyon ve barsağın sempatik denervasyonu ile ilişkilidir. Adrenerjik sinirler elektrolit sıvıların reabsorbsiyonunu uyarırlar. Diyabette eğer bu sinirler hasar görmüşse sıvıların intestinal reabsorbsiyonu büyük oranda bozulur ve diyareye neden olur. Bu durum genellikle şiddetli periferik ve otonomik nöropatinin eşlik ettiği, iyi kontrol edilemeyen insülin bağımlı diyabetli hastalarda görülmektedir. Diyabetik diyarenin otonomik nöropatinin bir sonucu olduğunu destekler bir şekilde, sempatektomi yapılmış insanlarda diyare oluşmaktadır (Shils ve Gilat, 1966).

1.2.4. Konstipasyon

Diyabetiklerde sıklıkla karşılaşılan gastrointestinal şikayetlerden biri de konstipasyondur (Feldman ve Schiller, 1983). Diyabetik gastroparezis’de olduğu gibi miyopatik değişikliklerden daha çok diyabetik otonomik nöropati’nin konstipasyona

neden olduğu düşünülmektedir (Anuras ve Shirazi, 1984; Atkinson ve Hosking, 1983; Battle ve ark, 1983). Diyabetiklerde gastrokolik refleks kaybolmuş ya da gecikmiş olabilir. Battle ve ark (1980), şiddetli konstipasyon şikayeti olan hastalar ile konstipasyon şikayeti olmayan hastalarda distal kolondaki bazal ve yemek sonrası miyoelektriksel ve motor aktiviteyi ölçmüşlerdir. Yenilen yemek elektriksel ve motor aktivitelerde hızlı ve büyük bir artışa neden olmaktadır. Diyabetik hastalarda bazal aktivite normal olmasına karşın konstipasyon şikayeti olmayan diyabetik hastalarda yemeğe cevap olarak oluşan kolona ait aktivite azalmış ve gecikmiştir. Aynı motor cevaplar konstipasyon şikayeti olan diyabetik hastalarda tümüyle ortadan kalkmıştır. Son olarak bahsedilen tablo kronik idiopatik intestinal pseudo-obstrüksiyon'u olan hastalarda görülen belirtilere benzemektedir (Snape ve ark, 1980). Diyabetik hastalar yenilen yemeğe normal bir cevap vermemelerine karşın neostigmin ya da metoklopramid'in parenteral enjeksiyonlarına cevap vermektedirler. Bu bulgu, konstipasyon şikayeti bulunan diyabetik hastaların kolon kaslarının ekzojen uyarıma cevap verebilir olduğunu, fakat yemeğin sindiriminin kolonda benzer bir nörohormonal sinyal başlatmadığını göstermektedir. Bu bozukluğun diyabetli hastalarda konstipasyonun nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu bilinmemektedir. Konstipasyona bağlı olarak diyabetiklerde megakolon görülebilmektedir.

1.2.5. Abdominal ağrı

Diyabetik hastalarda gastrointestinal bozukluğa bağlı olarak ortaya çıkan diğer bir klinik belirti kronik abdominal ağrıdır. Bu tip ağrı torasik sinir köklerini etkileyen diyabetik radikülopati'nin (sinir kökü hastalığı) bir sonucu olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir.

1.2.6. Safra kesesi bozuklukları ve Karaciğer hastalıkları

Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında diyabetiklerde kolelitiyasiz (safra kesesinde taş oluşumu) ve kolesistit (safra kesesi iltihaplanması) daha sık görülmektedir. Safra taşının oluşum nedeni olarak azalan motilite ve safra bileşiminde kalsiyum tuzlarının artmış olması öne sürülmektedir.

Diyabetiklerde yaygın olarak (% 80) alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması sonucu karaciğerde büyüme, karaciğer hasarı ve sarılık (diyabetik ketoasidosis'in görüldüğü çocuklarda) görülmektedir. Buna yüksek trigliserid ve/veya zayıf glukoz kontrolünün neden olabileceği düşünülmektedir. Buna ek olarak, normal bireylere göre diyabetik hastalarda hepatosellüler karsinoma iki kat daha yüksek oranda ortaya çıkmaktadır.

1.2.7. Pankreatik hastalıklar

Diyabetik hastalarda gözlenen pankreas fonksiyonlarındaki bozukluklar genel olarak iki klinik tablo halinde gruplanabilir. İlk grupta, uzun dönem kronik pancreatitis'i bulunan ve hastalığının daha sonraki dönemlerinde diyabetin geliştiği hastalar bulunur. Bu hastalarda tipik olarak endokrin pankreasa doğru ilerleyebilen ekzokrin pankreatik yetersizlik bulunur. Bu durum özellikle alkole ilişkili kronik pancreatitis'te görülür. Fazla miktarda alkol tüketen diyabetik hastalarda pankreasta adenokarsinoma görülme insidansının iki ile dört kat arttığı bildirilmektedir (Cuzick ve Babiker, 1989). Kronik pancreatitis'i ve diyabeti bulunan hastalarda, pankreatik enzimler ve insülin ile kombine tedavi gerektiren ciddi kilo kaybı görülmektedir. Diyabet başlangıcı pankreatik karsinomanın belirtisi olabilir. Bu nedenle hasta dikkatle izlenmelidir.

İkinci grupta ise uzun dönem diyabeti olan hastalar bulunmaktadır. Bazı raporlarda hastaların yaklaşık olarak % 30'unda gerçek pankreatik yetersizliği olmamasına karşın bozulmuş pankreas sekresyonu olduğu öne sürülmektedir. Bozuklukların

patogeneğinde glukagon fazlasının inhibitör etkileri, zayıf glukoz kontrolü nedeniyle beslenmedeki yetersizlik, insülinin pankreas üzerindeki uyarıcı etkisinin eksikliği ve vagus siniri ile ilgili otonomik nöropati bulunmaktadır. Genç, insüline bağımlı diyabetik hastalarda ketoasidosise neden olabilen ve yüksek mortaliteye sahip pancreatitis gelişebilir (Malone, 1974; Renner ve ark, 1985).

1.2.8. Anorektal bozukluklar

İnternal anal sfinkter tonüsündeki azalmanın bir sonucu olan istem dışı dışkı kaçırma (Fecal incontinence) diyabetin neden olduğu gastrointestinal kanal bozukluklarından birisidir. Diyare görülen diyabetik hastaların % 40'nda rastlanmaktadır (Wald ve Tunuguntla, 1984). Vakaların %30'unda yağlı dışkı görülmektedir. Kontinensi kontrol eden önemli faktörler olarak pelvik kası ile rektumun anatomik ilişkisi, internal ve eksternal anal sfinkterlerin gücü, bölgeyi innerve eden aferent (duyusal) ve eferent (motor) sinirlerin bütünlüğü söylenebilir (Schuster, 1968; Christensen, 1981). İnkontinens geceleri daha şiddetli olma eğilimindedir ve sıklıkla diyabetik diyarenin başlanması ile ortaya çıkar. Bu durum büyük oranda periferik ve otonomik nöropatinin bir sonucudur.

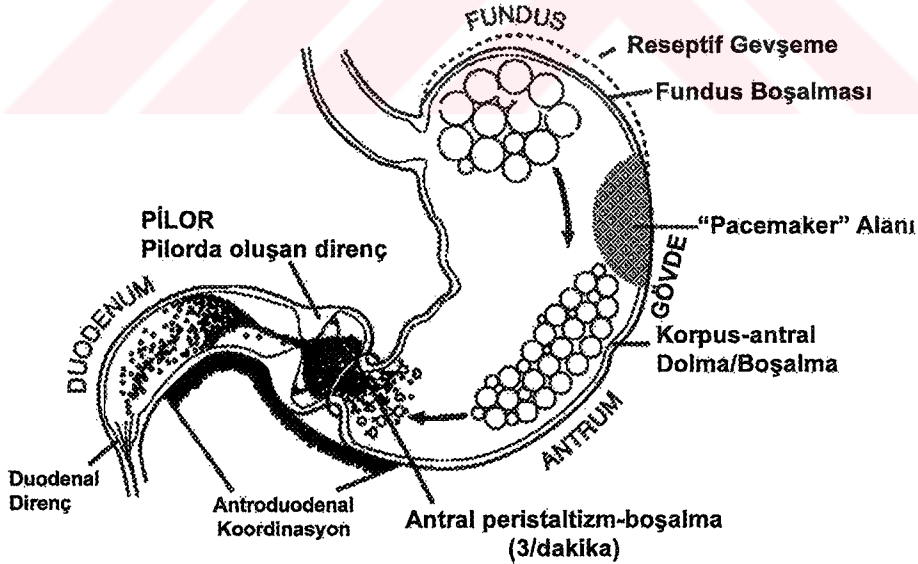
1.2.9. Gastrik bozukluklar (Diyabetik Gastropati)

Diyabetik gastropatide ortaya çıkan mide ile ilgili nöromüsküler bozuklukları tanımlamadan önce normal gastrik nöromüsküler fonksiyon hakkında bilgi verilmesi konunun daha iyi anlaşılabilmesi için yararlı olabilir (Şekil 1.1).

Midenin başlıca nöromüsküler fonksiyonları besinleri mideye almak, karıştırmak ve mide içeriğini absorpsiyon için ince bağırsağa boşaltmaktır (Koch, 1993). Midede katı yiyecekler küçük taneciklere öğütülür veya parçalanır, asit veya pepsin ile karıştırılır ve son olarak ince barsağa boşaltılır (Koch, 1993). Bu fizyolojik fonksiyonlar sırasında oluşan gastrik miyoelektriksel ve kontraktil aktiviteler

ekstrinsik (parasempatik ve sempatik) ve intrinsik (enterik) sinir sistemleri ile kontrol edilirler. Otonom sinir sistemi gastrointestinal motiliteyi düzenlemek amacıyla santral sinir sistemi ve enterik sinir sistemi aktiviteleri arasındaki bağlantıyı yapar (Malagelada ve ark, 1993; Goyal ve ark, 1996).

Midenin proksimal kısmı olan fundus, sıvıların gastrik boşaltımının kontrolü ve yenilen yiyeceklerin depolanmasından sorumludur. Sıvıların boşaltılması, fundusun yavaş kasılması sonucunda fundus ve duodenum arasında oluşan basınç farkı ile düzenlenir. Fundusun bir başka önemli görevi, yemek sonrası katı yiyeceklerin midede depolanmasını sağlayabilmek amacıyla gevşemesidir. Midedeki ilk nöromüsküler aktivite, besin parçacıklarının larenks ve özafagustan geçtiği sırada refleks olarak mide fundusunda görülen reseptif gevşemedir (Koch, 1993). Fundusdaki reseptif gevşeme vagal eferent lifler ve nitrik oksit yolları aracılığıyla oluşmaktadır. Vagotomi yapılmış olan hastaların diyareye eğilimli olmaları, reseptif gevşeme ve akomodasyonun bozulmasına bağlı olarak fundusdaki depolama yeteneklerini kaybetmeleriyle ilgilidir (McCallum, 1988).



Şekil 1.1. Yemek sonrası midede görülen motilite olayları (Koch, 1993).

Korpus ve antrum, katıların boşaltımından sorumludurlar. “Greater curvature” boyunca korpusun üst kısmında yerleşmiş olan gastrik “pacemaker”, spontan depolarizasyonun en hızlı frekansına sahiptir (3 cpm). Gastrik bazal elektriksel ritim

“pacemaker” tarafından başlatılır ve pilor boyunca hem sirküler hem de longitudinal olarak yayılır. Bu elektriksel ritim açlık, yemek yeme, uyuma ve egzersiz sırasında sabittir. Düz kasın eşik potansiyeline erişildiğinde kasılma ile sonuçlanan aksiyon potansiyeli oluşur. Yavaş dalga depolarizasyonunun kasılma için eşik potansiyele ulaşp ulaşmayacağı midenin fizyolojik durumuna bağlıdır. Sindirim sırasında mide en yüksek düzeyde kasılır. Bu durum gastrik duvarın gerilmesi sonucunda vagal aferentlerin ve lokal parakrin peptid salınımının uyarılması, mide duvarındaki düz kasların kasılması ve aksiyon potansiyelinin oluşması ile açıklanmaktadır. Yemekten sonra, besinleri öğütmek ve karıştırmak için korpus-antrum bölgesinde düzenli gastrik kontraktıl aktivite başlar. Ön midedeki kasılmalar pilora doğru itici bir taşımaya neden olur. Peristaltik dalgalar distal antruma ulaştığında pilor kasılır ve sadece çapı 1-2 mm’den küçük partiküllerin duodenuma geçmesine izin verilir (Horowitz ve ark, 1985).

Midenin boşalma hızı gastrik içeriğin fiziksel bileşimi, katı veya sıvı durumu, katıların büyüklüğü ve besinlerin türü ile belirlenir. Sıvılar katılara göre mideden daha hızlı geçerler. Katılar içerisinde ise sırasıyla karbohidratlar, proteinler ve yağlar mideyi terkederler. Sindirilebilir katıların mideden geçiş süresi yiyeceğin türüne ve miktarına bağlı olarak 1 ile 4 saat arasındadır (Gentry ve Miller, 1989).

Özetlemek gerekirse, fizyolojik olarak besinlerin alınmasından sonra midede aşağıdaki nöromüsküler olaylar görülmektedir: fundusun gevşemesi ve yenilen yemeğin hacmine uyum sağlaması, fundusun boşalması, besinlerin öğütülmesi ve karışması için korpus-antrum bölgesindeki peristaltik kasılmalar, besinlerin boşaltılması için antrumdan duodenuma peristaltik kasılmaların koordinasyonu. (Koch, 1999).

Diyabetik gastropati, diyabetli hastaların midelerinde görülen bir çok patofizyolojik nöromüsküler bozukluğu kapsamaktadır. Bu bozukluklar; gastroparesis, gastrik ritim bozuklukları, antroduodenal koordinasyon eksikliği, fundus gevşemesinde yetersizlik, antral dilatasyon, antral motilitede azalma olarak sıralanabilir.

1.2.9.1. Gastroparezis

İlk kez 1945 yılında diyabetin bir komplikasyonu olarak saptanan (Rundles, 1945) diyabetik gastroparezis, mide içeriğinin duodenuma yavaş boşalması şeklinde tanımlanmaktadır. Genelde esas sorun sıvılardan çok katıların mideden geçişinde görülmektedir (Wright ve ark, 1985). Gastroparezis tip I diyabetik hastaların % 50'sinde ve tip II diyabetik hastaların % 30'unda oluşabilmektedir (Horowitz ve ark, 1991; Horowitz ve ark, 1989).

Diyabetik gastroparezis'i olan hastalarda sıklıkla erken doyumluk, kilo kaybı, anoreksi, şişkinlik, yemek sonrası bulantı ve kusma görülür. Bu belirtiler diğer gastrointestinal hastalıklarda da (örneğin peptik ülser, özafagus iltihabı) oluşabileceği için diyabetik gastroparezis'den şüphelenilen hastalarda tam bir değerlendirme yapılması gerekir. Bir çok diyabetik hastada gastrik boşalmada bozulma olmasına karşın, bazı hastalarda klinik belirtiler görülmemektedir. Bunun nedeni, diyabetik nöropati nedeniyle değişen aferent otonom duyarlılığının bir sonucu olabilir.

Gastroparezis'in klinik belirtilerini gösteren ve göstermeyen diyabetik hastalarda yapılan çalışmalarda gecikmenin ön midede yiyeceğin tutulması nedeniyle antrumun geç dolması yüzünden olduğu kanıtlanmıştır (Urbain ve ark, 1993). Diyabetik gastroparezis'de ön mideden katıların boşalmasındaki gecikme fundusa ait motor aktivitedeki azalma ile ilişkili olabilir. Bu durum bazı diyabetiklerde sıvıların mideden boşalma hızının azalması ile paralellik göstermektedir (Horowitz ve ark, 1986; Urbain ve ark, 1990). Buna karşın, diyabetik hastalarda fundusun adaptif gevşemesindeki bozulma nedeniyle hızlı bir sıvı boşalması görülebilir (Keshvarian ve ark, 1987b).

Kassander (1958), cerrahi vagotomiden sonra gözlenen gastrik atoni ile diyabetik gastroparezisin radiyografik bulguları arasındaki benzerlikler nedeniyle diyabetik hastalarda "otovagotomi" bulunduğunu ileri sürmüştür. Gerçekten daha sonra yapılan araştırmalar, diyabetik gastroparezis'in otonomik ve periferik nöropati, retinopati ve nefropati gelişen kronik diyabetin bulunduğu hastalarda ortaya çıktığını göstermiştir

(Buysschaert ve ark, 1987; Campbell ve ark, 1977; Undeland ve ark, 1996). Bu nedenle, vagal aferent ve eferent nöronlardaki hafif ve /veya şiddetli fonksiyon bozukluğu, gastroparezis'den gastrik ritim bozukluğuna kadar değişen diyabetik gastropati gelişimine yol açabilir. Buna karşın, Yoshida ve ark (1988) diyabetik hastalardan alınan vagal sinir dokularında hiçbir histolojik ve anatomik bozukluk bulamamışlardır.

Her ne kadar diyabetik nöropati çoğunlukla gastroparezis ile sonuçlansa da hipokalemi, asidozis ve zayıf glukoz kontrolü gibi diğer faktörler de boşalmayı geciktirebilir. Akut hipergliseminin (kan şekeri > 200 mg/dL) sağlıklı bireylerde ve diyabetik hastalarda gastrik boşalmanın belirgin ölçüde azalmasına neden olabileceği gösterilmiştir (Fraser ve ark, 1990; McGregor ve ark, 1976).

Katıların mideden boşalmasındaki gecikme, azalmış antral motor aktivite sonucu fundus ve/veya antrum arasındaki uyumun bozulmasına bağlı olarak da açıklanabilir (Camilleri ve ark, 1985).

Diyabetiklerde açlık sırasında, barsaktaki Faz III motor aktivite kaybolmuş ya da büyük oranda azalmıştır (Dooley ve ark, 1988; Malagelada ve ark, 1980). Faz III aktivitesi sindirilemeyen katıların mideden uzaklaştırılmasından sorumludur. Bu nedenle sindirilemeyen katıların boşaltımındaki bozukluk diyabetiklerde erken dönem gastrik motilite bozukluğunun duyarlı bir göstergesidir.

Hormonal dengesizlikler de diyabetik gastroparezis'de rol oynamaktadır. Diyabetik hastalarda motilinin bazal seviyesindeki artışın insülin tedavisiyle azaldığı saptanmıştır (Funakoshi ve ark, 1982). Diyabette motilin düzeylerinin artması diyabetik gastroparezis'de görülen motor aktivitenin azalmanın bir sonucu olarak kompensatuvar nitelikte olabilir.

Diyabetik gastroparezis’de yemek sonrası antral kasılmalar sayı ve boyut olarak azalmaktadır (Buysschaert ve ark, 1987; Campbell ve ark, 1977; Fox ve Behar, 1980; Loo ve ark, 1984).

Diyabetiklerde antral fonksiyon bozukluğuna ek olarak, tekrarlayan bulantı ve kusmalara neden olan pilorik fonksiyon bozukluğu ya da spazm görülmektedir (Mearin ve ark, 1986).

1.2.9.2. Gastrik Ritim Bozukluğu

Diyabetik hastalarda hızlı ve/veya yavaş tipte gastrik ritim bozukluğu olduğu saptanmıştır (Koch ve ark, 1989; Abell ve ark, 1991; Rothstein ve ark, 1993; Koch ve Stern, 1993; Stern ve ark, 1987). Gastrik ritim bozuklukları yiyeceklerin karışmasını ve midenin boşaltılmasını sağlayan normal gastrik peristaltik kasılmaları engeller. Bunun sonucunda bulantı ve şişlik oluşmaktadır (Koch ve ark, 1989; Rothstein ve ark, 1993; Cucchiara ve ark, 1992).

1.2.9.3. Antral Motilite ve Gevşeme Bozuklukları

Diyabetiklerde antral motilitedeki azalma, midenin geç boşalması (gastroparezis) ile sonuçlanmaktadır (Lin ve Hasler, 1995; Malagelada ve ark, 1993).

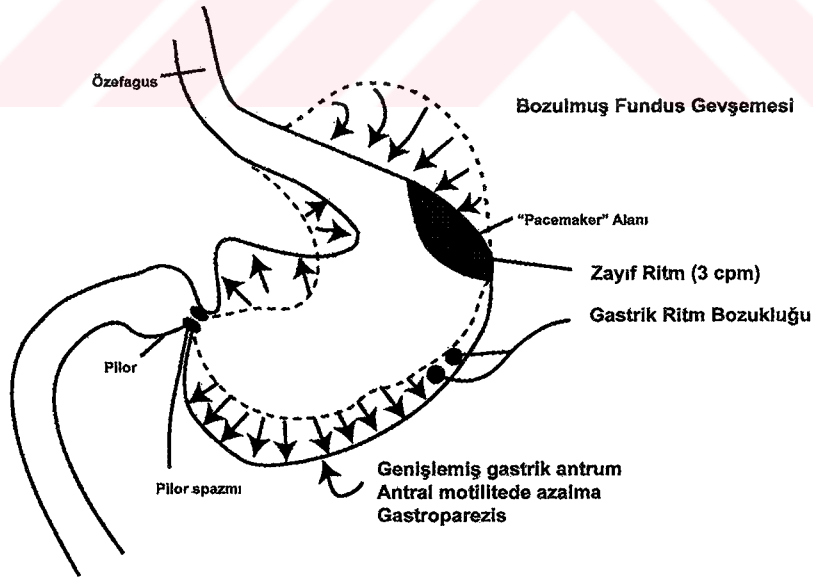
Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında semptomatik diyabetik hastaların antrum çaplarının yemek sonrası daha geniş olduğu bulunmuştur (Undeland ve ark, 1996). Antral dilatasyon, diyabetiklerde ortaya çıkan şişkinlik belirtileri ile ilişkilidir (Hausken ve Berstad, 1992).

1.2.9.4. Antroduodenal Koordinasyon Bozukluğu

Kimüsün mideden duodenuma en iyi şekilde aktarılabilmesi için antroduodenal koordinasyon gereklidir (Lin ve Hasler, 1995; Koch, 1993). Pilor ve duodenum kimüsün antrumdan boşalması için direnç gösterirler (Mearin ve ark, 1986). Pilor spazmı veya koordine olmamış pilorik kasılmalar gastrik boşalmaya karşı direnç sağlar ve diyabetik hastalarda geciken gastrik boşalmanın bir nedeni olarak belirtilmektedir (Mearin ve ark, 1986).

1.2.9.5. Gastrik Tonüs Bozukluğu

Kontroller bireylerle karşılaştırıldığında diyabetiklerde mide fundusunun tonüsü balonla oluşturulan gerime yanıt olarak daha az gevşemektedir (Undeland ve ark, 1997). Fundusun tonüs bozuklukları diyabetik hastalarda görülen dispepsi benzeri belirtilerde de rol oynayabilmektedir.



Şekil 1.2. Diyabetik hastaların midelerini etkileyen çeşitli nöromüsküler bozukluklar (Koch, 1999).

Diyabetik gastropati'nin en ileri dönemindeki hastalarda diyabetik gastroparezis, gastrik ritim bozukluğu, genişlemiş antrum ve azalmış antral motilitenin tümü görülebilir (Şekil 1.2). Pilor spazmı ve duodenal direnç gastrik boşalmanın gecikmesine katkıda bulunabilir. Diğer hastalarda, besin alımıyla ilgili belirtilerle paralellik gösteren genişlemiş antrum veya gastrik ritim bozuklukları varolabilir. Bir çok araştırma şiddetli belirtileri olan diyabetik hastalara odaklanmıştır. Diyabetik hastalar yukarıda tanımlanan diyabetik gastropati'nin tek veya birden fazla ögesine sahip olabilirler. Vagal aferent ve eferent fonksiyon bozukluğunun değişen dereceleri nedeniyle diyabetik gastropati ve kısmi belirtiler arasındaki korelasyon her zaman açık değildir. Ancak diyabetik hastalar belirgin gastroparezis'leri olmadığında üst gastrointestinal belirtilere sahip olabilirler, çünkü yukarıda tanımlanan diğer gastrik patofizyolojik mekanizmalar bu belirtiler için sorumlu olabilir.

1.2.9.6. Gastritis

Diabetes mellitus'ta hemorajik gastritis, akut ve kronik gastritis, atrofik gastritis ve pernisiyöz anemi gibi gastrik anormallikler de görülmektedir. Hematemezis özellikle ketoasidozis sırasında sık sık görülür ve hemorajik gastritis'e bağlı olarak oluşur. Kronik gastritis diyabetik hastalarda oldukça yaygındır ve ketoasidozis durumunda şiddetlenebilir. Uzun dönem diyabetik hastalarda atrofi ve otoimmün gastritis görülebilir ve bu durum tiroid ve paryetal hücrelere karşı artan antikorlarla ilişkilidir. Diyabetik hastalarda görülen hipotiroidizm ve pernisiyöz aneminin yüksek insidensi bu bulgunun sonucu olabilir. Nöropatinin eşlik ettiği diyabetik hastalarda B₁₂ vitamini sık sık kontrol edilmelidir. Çünkü B₁₂ vitamini eksikliği diyabetik nöropatiden ayırtedilemeyen periferik bir nöropatiye neden olabilir (Verne ve Sninsky, 1998).

Diyabetik hastalarda gastritis yaygın olmasına rağmen ülserin görülme sıklığında da bir azalma vardır. Genel popülasyonla karşılaştırıldığında diyabetiklerde azalan asit sekresyonu bulunmuştur. Azalan gastrik asit sekresyonunun patogenezinin bir çok

faktörün katkısı vardır ve aşağıdaki bulgular asit sekresyonunun patogeneze katkıda bulunmaktadır:

- asit üretimi üzerine hipergliseminin inhibitör etkileri
- asit sekresyonunu baskılayan artmış glukagon seviyeleri
- otonomik nöropatiye bağlı olarak azalan vagal tonüs
- gastrin uyarımına karşı azalan duyarlılık
- kronik gastritis

Bu bulgulara dayanarak, diyabetik bir hastada artan gastrin seviyesi aklorhidri ve hipoklorhidri'nin varlığına işaret edilmektedir (Verne ve Sninsky, 1998)

1.3.Gastrointestinal Kanal Düz Kası Üzerinde Deneysel Diyabetin Neden Olduğu Yapısal ve Fonksiyonel Değişiklikler:

1.3.1.Yapısal Değişiklikler

Deneysel diyabetik hayvan modelleri üzerine yapılan çalışmalar, kronik diyabetin gastrointestinal düz kasda yapısal değişikliklere neden olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalarda intestinal düz kaslarda proliferatif büyüme ve intestinal duvarda kalınlaşma (Novak et al, 1990b), megakolon ve proksimal kolon ağırlığında artış (Nelson et al, 1976; Lincoln et al, 1984a), ileumun total ağırlığında azalma (Lincoln et al, 1984a) bildirilmiştir. STZ-diyabetik sıçanlarda gelişen barsak dokusundaki hipertrofinin mezenterik innervasyonda diyabetin yol açtığı bozuklukla ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (Schmidt ve Coswell, 1989; Nwokolo ve ark, 1992).

Buna karşın, STZ-diyabetik sıçanlarda antral G-hücre sayısında azalma ve midede belirgin bir atrofi oluşabileceği de gösterilmiştir (Nwokolo ve ark, 1992).

Schmidt ve ark (1981) diyabetik hayvanların gastrointestinal kanalında, miyenterik ganglion'da ve aksonlarda kolinesteraz düzeyinde azalma ve kolon submukoza ve düz kasındaki otonomik aksonlarda dejenerasyon oluştuğunu bildirmiştir.

İmmunofluoresans mikroskobu ile yapılan histolojik çalışmalar deneysel diyabette enterik sinirlerdeki nörotransmitter profilinin de değiştiğini göstermektedir. STZ-diyabetik sıçanların ileumlarındaki miyenterik plexus'da adrenerjik ve serotonerjik sinirlerde dejenerasyon saptanırken kolinerjik immunoreaktif sinirlerde herhangi bir değişiklik bulunmamıştır (Lincoln ve ark, 1984). Buna karşın, Nowak ve ark. (1986; 1990a) diyabetik sıçan barsağında kolinerjik iletimin bozulduğunu göstermişlerdir. Schmidt ve ark (1988), 12-18 haftalık STZ-diyabetik sıçanların mezenterik ve intramural sinirlerinde noradrenalin sentezinin arttığını göstermişlerdir. Öte yandan deneysel diyabet, barsaklarda VIP (Belai ve ark, 1985; Gorio ve ark, 1992) ve gastrik somatostatin düzeylerinde yükselmeye neden olmaktadır (Flatt ve ark, 1991). Diyabette barsak boyunca metionin-enkefalin içeriğinin anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır (Gorio ve ark, 1992). Bu bulgu, patofizyolojik açıdan oldukça önemlidir. Çünkü endojen opioidler gastrointestinal motilite ve sekresyonun kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır.

Yukarıdaki çalışmalardan elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde, düz kasdaki değişikliklere ek olarak deneysel diyabetik hayvanların gastrointestinal kanallarındaki intrinsik sinirlerde nöropatik değişikliklerin de gelişebileceği ileri sürülmektedir.

1.3.2. Fonksiyonel Değişiklikler

Daha önce belirtildiği gibi klinikte kronik diyabet hastalarında çeşitli gastrointestinal bozukluklar ortaya çıkabilmektedir. Mide ve barsağı içeren bu bozukluklar

gastroenteropati olarak adlandırılmaktadır (Yang ve ark, 1984; Ogbonmaya ve Arem, 1990). Klinikte olduğu gibi deneysel diyabetik hayvan modellerinde de gastroenteropati geliştiği kanıtlanmıştır.

α_2 -adrenoseptörler besinlerin ince barsaktan geçişini yavaşlatmaktadır. STZ-diyabetik farelerde bu etkinin azaldığı saptanmıştır (Ramabadrana ve ark, 1990). Bu bulgu diyare ya da konstipasyonda önemli bir rol oynayan barsak sıvı ve elektrolit transportunun düzenlenmesi açısından önemlidir. Barsakta iyon ve sıvı transportunun α_2 -adrenoseptörlerle düzenlendiği (Chang ve ark, 1983) ve diyabetik sıçanlarda adrenerjik kontrol kaybının diyareye neden olduğu (Chang ve ark, 1985) bildirilmiştir. Benzer şekilde opioid reseptör agonistinin gastrointestinal kanaldaki geçişi azaltıcı etkisi de STZ-diyabetik farelerde azalmaktadır. Bu sonuçlar STZ-diyabetin gastrointestinal α_2 -adrenoseptörler ve opioid reseptörlerde değişikliklere neden olduğunu göstermektedir. Diyabetik diyare şikayeti olan hastalarda besinlerin ileumdan geçişinin hızlandığı ve intestinal tonüsün azaldığı saptanmıştır (Malins ve French, 1957; McNally ve ark, 1969). Buna karşın konstipasyon şikayeti diyabetik hastalarda, ileumdan geçiş süresinin yavaşladığı (Scarpello ve ark, 1976) ancak intestinal tonüsünde herhangi bir değişiklik olmadığı (Keshvarzian ve Iber, 1986) saptanmıştır. Benzer bir çelişki in vivo hayvan deneylerinde de gözlenmiştir. Gerçekten, STZ-diyabetik hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar, bozulan motor aktivite sonucu besinlerin mideden çekuma ulaşma süresinin uzadığını ve bunun konstipasyona neden olduğunu ortaya koymuştur (Chesta ve ark, 1990; Karakida ve ark, 1989). Bununla birlikte diyabette görülen diyare ve konstipasyon arasındaki bu çelişkinin fizyolojik mekanizması halen bilinmemektedir.

In vitro deneyler gastrointestinal kanalda diyabete bağlı değişiklikleri ortaya koymaktadır. STZ ve ALL-diyabetik sıçanların çeşitli gastrointestinal düz kas dokularında (duodenum, jejunum, ileum ve mide fundusu) β -adrenerjik gevşeme yanıtlarının azaldığı bulunmuştur (Altan ve ark, 1987; Yıldızoğlu-Arı ve ark, 1988; Mathison ve Davison, 1988; Öztürk ve ark, 1990; Öztürk ve ark, 1992a; Öztürk ve ark, 1992b; Öztürk ve ark, 1993; Öztürk ve ark, 1994a; Öztürk ve ark, 1994b). Sıçan duodenumundaki yanıtlar izometrik olarak kaydedildiği için, diyabette görülen düz

kas yanıtlarındaki azalmanın kasın proliferasyonundaki artışla ilişkili olmadığı ileri sürülmüştür (Öztürk ve ark, 1992a). Buna ek olarak, diyabetik sıçan duodenum düz kasında salbutamol gevşeme yanıtlarındaki azalmanın kasın adenilat siklaz aktivitesindeki bir bozukluktan kaynaklanmadığı gösterilmiştir (Altan ve ark, 1987). Söz konusu çalışmalarda elde edilen farmakodinamik analiz sonuçlarına (potens ve/veya maksimum yanıt) göre diyabetik sıçanların gastrointestinal sistem düz kaslarında azalmış olan β -adrenerjik yanıtların, bu dokularda β -AR sayısının azalmasından kaynaklanabileceğini ileri sürülmüştür (Altan ve ark, 1987; Yıldızoglu-Arı ve ark, 1988; Öztürk ve ark, 1992b). Daha sonra bu düşünce, STZ-diyabetik sıçanların mide fundusunda β -AR sayısının azaldığını gösteren Sakai ve ark (1990, 1991) tarafından da doğrulanmıştır. Öte yandan gastrointestinal kanal düz kaslarında β -AR yanıtlarındaki azalma sadece tip I diyabetik sıçanlarda değil (Altan ve ark, 1987; Yıldızoglu-Arı ve ark, 1988; Öztürk ve ark, 1992a; 1992c; 1993; 1994d), aynı zamanda tip 2 diyabetik sıçanlarda da gözlemlenmiştir (Öztürk ve ark, 1990b; 1994c).

DeneySEL diyabet gastrointestinal kanalda diğer agonistlerin etkilerini de değiştirmektedir. STZ-diyabetik hayvanların duodenum ve kolonunda P maddesi ve asetilkolin ile elde edilen kasılma yanıtlarının azaldığı bulunmuştur (Liu ve ark, 1988). Benzer şekilde, STZ-diyabetik ve spontan diyabetik db/db farelerde gastrik antral düz kasta karbakole azalan kasılma yanıtları gözlenmiştir. Bu değişikliklerden muskarinik reseptörlerin azalan afinitesi ve guanozin-trifosfat'a bağlanan proteinlerin (G proteinleri) değişen aktivitesi sorumlu tutulmaktadır (Soulie ve ark, 1992). Buna karşın, asetilkoline artan kasılma yanıtları STZ-diyabetik sıçanlardan izole edilmiş gastrik fundus şeritlerinde gözlenmiş ve bu yanıtlar in vivo insülin tedavisi ile düzeltilmiştir (Kamata ve ark, 1988b; Belai ve ark, 1991). Öte yandan, diyabetik sıçan ileum (Altan ve ark, 1987) ve jejunum (Mathison ve Davison; 1988) düz kas dokularında sırasıyla asetilkolin ve betanekol duyarlılığında herhangi bir değişiklik olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Gastrointestinal dokuların muskarinik ajanlara cevap verirliliğindeki bu farklılıkların nedeni açık değildir, ancak kullanılan diyabetojen maddeler, diyabetin süresi, hayvanların cinsiyeti, hayvan türü

ve kasılma gücünü ölçmede ve ifade etmede kullanılan tekniklerden kaynaklanan farklılıkların yanıtlardaki çelişkilere neden olabileceği düşünülmektedir.

ALL- ve STZ-diyabetik hayvanların izole mide funduslarında serotonin ile elde edilen kasılmaların azaldığı bulunmuştur (Altan ve ark, 1987; Yıldızoglu-Arı ve ark, 1988). Yanıtlardaki bu azalma insülin (Yıldızoglu-Arı ve ark, 1988) ya da lityum (Öztürk ve ark, 1992b) tedavisi ile düzeltilmiştir. Benzer şekilde, diyabetik sıçan mide fundusunda noradrenalin ve VIP ile elde edilen gevşeme yanıtlarında azalma olduğu gösterilmiştir (Kamata ve ark, 1988b). Öte yandan gastrik fundusta NANC inhibitör yanıtların STZ-diyabetik sıçanlarda değiştiği bulunmuştur (Belai ve ark, 1991; D'Amato ve Curro, 1990 ; Jenkinson ve Reid, 1995; Jenkinson ve Reid, 2000; Gibson ve ark, 2003). STZ-diyabetik sıçanların izole jejunumunda bradikinin ve nörotensinin neden olduğu kasılma yanıtları azalmasına karşın, nörokinin A- ve B- ile oluşan kasılmalar artmıştır (Mathison ve Davidson, 1988).

Yukarıdaki bulgulardan kolaylıkla anlaşılacağı gibi gastrointestinal düz kas üzerinde çeşitli agonistlerin etkileri ile ilişkili gözlemlerin çoğu esas olarak izole organ deneylerine dayanmaktadır. Bu nedenle diyabette gastrointestinal düz kas dokusunda agonistlerin etkilerinde gözlenen değişiklikler en azından reseptör sonrası efektör mekanizmalardaki bozuklukla ilişkili olabilir.

Diyabetin reseptör sonrası olaylara etkisinin bir sonucu olarak, düz kasın gevşeme ve kasılma yeteneği büyük oranda değişmektedir. Ca^{2+} ile ilişkili mekanizmalar, fosfoinozitidler, adenilat siklaz/siklik AMP, guanilat siklaz/siklik GMP, G proteinleri, PKC ve iyonik transport mekanizmalar deneysel diyabetten etkilenebilen önemli reseptör sonrası olaylardır. Deneysel diyabette en yoğun olarak incelenen reseptör sonrası olaylardan biri Ca^{2+} ile ilişkili mekanizmalardır.

Aihara ve Sakai (1989), STZ-diyabetik sıçanların (3, 6 ve 12 haftalık) mide fundus düz kaslarında KCl ile oluşan kasılma yanıtlarının arttığını ve bunun da voltaja bağımlı Ca^{2+} kanallarının sayısındaki ya da aktivitesindeki artıştan kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Buna karşın, Öztürk ve ark (1987) sürekli

olarak depolarize halde olan duodenumda Ca^{2+} ile sağlanan kasılmaların sekiz haftalık ALL-diyabetik sıçanlarda azaldığını fakat bir haftalık ALL-diyabetik sıçanlarda değişmediğini gözlemlemişlerdir (Öztürk et al, 1996). Buna ek olarak araştırmacılar aynı çalışmada, kalmodulin inhibitörü olan trifluoperazin'in afinitesindeki artışın diyabette hücre içi kalmodulin düzeylerinin azalmasından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir (Öztürk ve ark. 1987). Gerçekten daha sonra yayınlanan bir çalışmalarında Öztürk ve ark (1994b) kronik STZ-diyabetik sıçan duodenum düz kasında hücre içi kalmodulin düzeyinin azaldığını göstermişlerdir. Bu bulguları destekler şekilde STZ-diyabetik sıçan barsak düz kasında PKC'nin (kalsiyum ve diaçilgliserol bağımlı protein kinaz) aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (Wali ve ark, 1990). PKC'nin maksimum aktivitesi için kalsiyum ve kalmodulin gereklidir, fakat bu enzimin fonksiyonu için temel şart değildir (Kaibuchi ve ark, 1981, 1982; Takai ve ark, 1982). İyon kanallarının iç kısımlarının fosforile ederek PKC, kalsiyum kanal aktivitesinde önemli bir rol oynamaktadır (Shearman ve ark, 1989). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada (Forrest ve ark, 2005) ekzojen kalsiyum yanıtlarının, sekiz haftalık STZ-diyabetik sıçan kolonunda değiştirmedeği, buna karşın ileum düz kasında azaldığı saptanmıştır. Aynı çalışmada ilginç olarak sıçan ileumunda Bay K8644 (kalsiyum kanal agonisti) ile elde edilen kasılma yanıtlarının kontrollere göre arttığı bulunmuştur. Benzer şekilde Ca-ATPaz inhibitörleri de diyabetik ileum dokusunda daha fazla yanıt meydana getirmiştir. Bu sonuçlar, diyabetin gastrointestinal kanal düz kaslarının kalsiyum ve kalmodulin bağımlı yollarla ilgili kasılma mekanizmalarını dokuya bağlı olarak farklı şekilde etkileyebildiğini açıkça göstermektedir.

DeneySEL diyabette G proteinleri gastrointestinal düz kasın bozulmuş fonksiyonu ile ilgili olabilir. Mide antral düz kasının kolinerjik agonistlere olan kasılma yanıtlarındaki azalma STZ-diyabetik sıçanlarda ve spontan diyabetik ob/ob farelerde gözlenmiştir. Bu değişikliklere neden olarak muskarinik reseptörlerin azalan afinitesi ve G proteinlerinin değişen aktivitesi gösterilebilir (Soulie ve ark, 1992).

1.4. Beta 3-adrenoseptörler

1940lar ve 1950lerde adrenoseptörlerin α ve β adrenoseptörler olarak sınıflandırılmasının (Ahlquist, 1980) ardından, 1967 yılında Lands ve ark. (Lands ve ark, 1967a; 1967b) katekolamin yapısındaki 15 agonistin kalp, beyaz adiposit, jejunum, solunum yolu düz kası, uterus ve diyafram gibi dokularda etki güçlerini karşılaştırarak, β -AR'leri β_1 -AR ve β_2 -AR olarak iki alt gruba ayırmışlardır.

Bu farklılık, β_1 -AR ve β_2 -AR'lerin selektif agonist ve antagonistlerinin reseptör bağlanma çalışmalarıyla desteklenmiştir (Minneman ve ark, 1981; Raper, 1987). Daha sonraları β_1 -AR ve β_2 -AR genleri ve cDNA'leri klonlanmış ve reseptörlerin amino asit dizilimlerinin önemli ölçüde farklı olduğu sonucuna varılmıştır (Frille ve ark, 1989).

1970lerin başında, bir çok deney sonucu β_1 -AR ve β_2 -AR'lerin varlığı ile açıklanabilmesine karşın, özellikle adipositlerde ve intestinal dokularda β -AR blokasyonunun ancak yüksek antagonist konsantrasyonlarıyla sağlanabilmesi, bazı araştırmacıların bütün bulgularını β_1/β_2 -AR'lerin karşılayıp karşılamadığı konusunda şüpheler oluşmasına neden olmuştur. Bununla birlikte, fonksiyonel ve bağlanma çalışmaları sonucunda “ β_1 -AR ve β_2 -AR'lerin aynı dokuda farklı oranlarda bulunabileceği” ileri sürülerek, “yanıtlardaki anormalliklerin başka β -AR alt tipleri ile ilgili olmadığı” düşüncesi ağır basmıştır (Daly, 1981; Ariens, 1981). Bu görüşün bir sonucu olarak, intestinal dokuların β -AR antagonistlerine düşük duyarlılık gösterdiğini bildiren araştırmacılar bazıları, bu duyarsızlığın farklı β -AR tiplerinin bulunmasıyla ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır (Buckner ve Christopherson, 1974).

Atipik β -AR için ilk kanıt, antagonistlere düşük afinite gösteren dokuların yeni agonistlerle (özellikle BRL 37344) selektif olarak uyarılmasıyla elde edilmiştir (Arch ve ark, 1984). Çeşitli çalışmalarda β_3 -AR terimi, sıçan adipositlerinde bulunan atipik β -AR'ler (Tan ve Curtis-Prior, 1983), insan genlerinden eksprese edilen atipik β -

AR'ler (Emorine ve ark, 1989) ve sıçan kolonu ve tavşan jejunumundaki atipik β -AR'ü tanımlamak için (McLaughlin ve MacDonald, 1990) kullanmışlardır. Buna karşın, bazı araştırmacılar ya “atipik” terimini kullanmaya devam etmişler (Norman ve Leathard, 1990; Blue ve ark, 1990) ya da “üçüncü tip β -AR” terimini tercih etmişlerdir (Kaumann, 1989).

Günümüzde bir farmakolojik yanıtın β_3 -AR'ler aracılığıyla oluştuğunun kabul edilebilmesi için aşağıdaki dört kriterin karşılanması gerekmektedir (Kaumann ve Molenaar, 1996).

1. Yüksek afiniteli bir β_1 ve β_2 -AR antagonisti varlığında isoprenalin etkisi görülebilmelidir.
2. Selektif β_3 reseptör agonisti ile uyarılabilmelidir.
3. Selektif β_3 reseptör antagonisti ile bloke edilebilmelidir
4. Konvensiyonel olmayan bir parsiyel agonistle uyarılabilmelidir.

1.4.1. Beyaz Adipositler

Sıçan beyaz adipositlerinde bulunan β -AR alt tipinin Lands ve ark. (Lands ve ark, 1967a; 1967b) tarafından β_1 olarak sınıflandırılması 1970ler ve 1980ler boyunca bir çok araştırmacı tarafından sorgulanmıştır (Tan ve Curtis-Prior, 1983; Jolly ve ark, 1978; Kennedy ve Ellis, 1969; Zaagsma ve ark, 1985). 1970lerin ortalarında Harms, Zaagsma, De Vente ve ark. (1974) adipositlerdeki β -AR'lerin β_1 -AR ve β_2 -AR olmadığına ilişkin güçlü kanıtlar bulmuşlardır. Bu araştırmacılar isoprenalin ile uyarılmış lipolizisin propranolol ile inhibisyonu için hesaplanan pA_2 değerini, aynı antagonistin kobay atria (β_1 -AR) ve trakea (β_2 -AR) daki yanıtları bloke etmek için gereken konsantrasyonları ile karşılaştırdıklarında propranololün sıçan beyaz

adipositlerinde lipolizisi inhibe etmede sırasıyla 440 ve 150 kat daha az potent olduğunu göstermişlerdir. Benzer olarak selektif β_1 -AR antagonisti praktolol adipositler üzerine atrial β_1 -AR üzerine olduğundan 760 kat daha az potentir (Harms ve ark, 1974). Diğer antagonistlerle de bu kadar belirgin olmayan fakat yine de anlamlı farklılıklar saptanmıştır (Harms ve ark, 1974 ; De Vente ve ark, 1980).

Wilson ve ark. (1984) (-)-isoprenalin (selektif olmayan β -agonist), fenoterol, salbutamol (β_2 -AR selektif agonistler) ve prenalterol (β_1 -AR selektif agonist)'ün sıçan kalp atım hızı ya da kasılma gücünü uyarmaları (β_1 -AR aracılı) ya da sıçan uterus veya kobay trakeasını gevşetmeleri (β_2 -AR aracılı) ile karşılaştırdıklarında bu agonistlerin sıçan beyaz adipositlerde lipolizisi uyarmada daha az potent olduklarını bulmuşlardır. Buna ek olarak aynı araştırmacılar BRL 28410, BRL 35113 ve BRL 35135'in lipolizisi daha güçlü olarak uyardıklarını göstermişlerdir. Benzer şekilde Hollenga ve ark. (1991) BRL 37344'ün sıçan beyaz adipositlerinde lipolizisi isoprenaline göre 11 kat daha güçlü uyardığını saptamışlardır. Çeşitli agonistler kullanılarak yapılan çalışmalar sıçan beyaz adipositlerinde β_1 -AR ve β_2 -AR'den farklı olarak fonksiyonel atipik β AR'in olduğunu gösteren antagonist çalışmaları ile büyük oranda örtüşmektedir.

β_1 -AR ve β_2 -AR antagonisti olan ve bağlanma çalışmalarında radioligand olarak kullanılan CGP 12177, sıçan beyaz adipositlerinde parsiyel agonist etki ile lipolitik etki göstermektedir (Langin ve ark, 1991; Van Liefde ve ark, 1992). Ancak CGP 12177'nin etki gücü β_1 -AR ve β_2 -AR'ler üzerine olan afinitesinden 1000 kat daha düşüktür (Langin ve ark, 1991). Buna ek olarak, rasemik pindolol türevleri hidroksibenzilpindolol, siyanopindolol (CYP) ve iyodosiyanopindolol (ICYP) sıçan ve hamster beyaz adipositlerinde klasik β -AR'lere bağlandıkları konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda parsiyel agonist etkinlik göstermektedirler (Langin ve ark, 1991; Engel ve ark, 1981). Bu bileşikler kardiyak dokulardaki benzer özellikleri temel alınarak "konvensiyonel olmayan parsiyel agonistler" olarak adlandırılmaktadırlar (Kaumann ve ark, 1989).

Hollenga ve ark (1991), BRL 37344'ün lipolizi uyarmada isoprenalinden 11 kat daha potent olmasına karşın, adenilil siklaz üzerinde aynı etki gücüne sahip olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar, BRL 37344'ün lipolizisi siklik AMP-bağımlı bir mekanizmanın yanında ondan bağımsız bir başka mekanizmayla da uyardığını düşündürmektedir.

1.4.2. Kahverengi adipositler

Kahverengi adipoz doku, beyaz adipoz dokudan daha fazla miktarda mitokondriye sahiptir. Beyaz adipoz doku diğer dokuların kullanımı için yağ depolarken, kahverengi adipoz dokunun rolü ısı üretmek ya da vücudu fazla enerjiden kurtarmak için yağı oksitlemektir (Lean ve James, 1986).

Kahverengi adipositlerdeki β -AR'ler üzerine yapılan araştırmalar beyaz adipositlerde yapılan çalışmalarla paralel gitmiştir. 1978 ile 1987 yılları arasında elde edilen bulgular, sıçan kahverengi adipositlerindeki β AR'lerin sadece β_1 ya da β_1 -AR/ β_2 -AR'lerin karışımı olduğu düşündürmüştür. Ancak, selektif termojenik β AR'lerin bulunması kahverengi adiposit β -AR sınıflandırmasının yeniden değerlendirilmesine yol açmıştır. BRL 37344, BRL 28410 ve BRL 35113'ün sıçan kahverengi adipositlerinde beyaz adipositlerde olduğu gibi lipolizisi selektif olarak uyardıkları bulunmuştur (Arch, 1989; Arch ve ark, 1984).

Kahverengi adipositlerde isoprenaline karşı antagonistler için hesaplanan pA_2 değerleri beyaz adipositlerde olduğu kadar düşük bulunmamıştır. Buna neden olarak β_1 -AR'lerin kahverengi adipositlerde beyaz adipositlere göre daha fonksiyonel olması gösterilebilir (Arch ve Kaumann, 1993).

β -AR agonistleri tüm vücutta metabolik hızı uyarırlar (termogenezis). Termogenezise β_1 -AR'lerin aracılık ettiğine ilişkin klasik görüş (Arnold ve McAuliff, 1969; Fregly, 1983) yeni agonistlerin bulunmasıyla önemini yitirmiştir. Sıçanlarda termogenezisi düzenleyen β -AR, β_3 -AR'lerin her dört özelliğini de

(standart β -AR antagonistleri ile blokasyona dirençli olma, selektif β_3 -AR agonistlerine duyarlı olma, selektif β_3 -AR antagonisti ile bloke olma, konvansiyonel olmayan parsiyel agonistlerle uyarılma) sağlamaktadırlar.

1.4.3. Gastrointestinal kanal

Ford ve ark (1992) sıçan özefagus düz kas dokusunda da BRL 37344'e duyarlı atipik β -AR'lerin bulunduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmada bir seri klasik antagonist ile düşük pA_2 değerleri elde edilmiştir.

Lefebvre ve ark.(1985), sıçan mide fundusunda isoprenalin ve fenoterolün etkilerinin propranolol, praktonol ve ICI 118551 ile antagonizma çalışmalarında Schild grafiğinin eğimlerini anlamlı olarak birin altında bulmaları sonucu, bu dokuda birden fazla β -AR alt tipinin bulunduğunu ileri sürmüşlerdir. McLaughlin ve Macdonald grubu β -AR'leri sıçan distal kolonu (McLaughlin ve MacDonald, 1990), mide fundusu (McLaughlin ve MacDonald, 1991) ve jejunumda (MacDonald ve ark, 1994) tanımlamışlardır. Her üç dokuda da propranolol isoprenalin ve özellikle BRL 37344'e karşı zayıf etkinlik göstermiştir. Kolonda isoprenaline karşı Schild plot eğimi 0,44 olarak bulunmuştur. Bu sonuca dayanarak araştırmacılar birden fazla β -AR popülasyonunun varlığı ileri sürülmüşlerdir.

McLaughlin ve MacDonald (1990; 1991), öteki araştırmacıları destekler şekilde (Kirkham ve Kelly, 1992; Blue ve ark; 1989), CYP'ün sıçan bağırsak atipik β -AR'leri için orta etkinlikte bir antagonist olduğunu bulmuşlardır ($pA_2=6,7-7,3$). İsoiprenalin ile karşılaştırıldığında hem kolon hem gastrik fundusda BRL 37344'e karşı anlamlı olarak daha düşük pA_2 değerleri elde edilmiştir.

McLaughlin ve MacDonald (1990; 1991) sıçan kolon ve sıçan gastrik fundusunda BRL 37344'e karşı taşiflaksi geliştiğini saptamışlardır. Tekrarlanan BRL 37344

uygulaması sadece kendi yanıtlarına değil, aynı zamanda diğer agonistlere (isoprenalin ve noradrenalin) karşı taşıfilaksi gelişmesine neden olmuştur.

Diğer araştırmacılar da sıçan gastrik fundusunda (Van Buuren ve ark, 1991) ve jejunumda (Van Der Vliet ve ark, 1990) klasik antagonistler için hesaplanan düşük pA_2 değerlerini doğrulamışlardır. Sıçan jejunumunda BRL 37344'ün etki gücü yüksek olarak bulunmuş, ancak isoprenalin ile karşılaştırıldığında dokuda daha yavaş bir gevşeme yaptığı bildirilmiştir (Growcott ve ark, 1992).

Sıçan kolonunda da atipik βAR 'lerin varlığı, intestinal hipermotilite rahatsızlıklarının tedavisi için tasarlanan feniletanolaminotetralin yapısındaki β_3 -AR agonistlerini kullanılarak kısmen kanıtlanmıştır. Sıçan proksimal kolonu ve kobay trakea halkalarında spontan tonüsünün inhibisyonu ve kobay kalp atım hızının uyarılmasında isoprenalinin etki gücü aynı olmasına karşın, SR 58306, SR 58339, SR 58375 ve SR 58611 gibi bileşikler kolonda trake ya da kalpte olduğundan en az 20 kat daha güçlü etki göstermektedirler (Crocı ve ark, 1988; Bianchetti ve Manara, 1990; Manara ve ark, 1989). Buna ek olarak, aynı agonistlerin etkilerine karşı klasik β -AR antagonistleri (propranolol, pindolol) için düşük pA_2 değerleri elde edilmiştir (Crocı ve ark, 1988; Bianchetti ve Manara, 1990; Manara ve ark, 1989).

Barsak düz kas geriminin β_3 -AR ile düzenlendiğine ilişkin kanıtların yanı sıra sıçan çekumundaki bikarbonat sekresyonu ve sıçan midesindeki asit sekresyonunun da β_3 -AR tarafından düzenlendiğine ilişkin kanıtlar vardır (Canfield ve Abdul-Ghaffar, 1992; Canfield ve Paraskeva, 1992; Adami ve ark, 2003).

Sonuç olarak, yapılan araştırmalar aynı türün farklı dokularında farklı fonksiyonlara aracılık eden fonksiyonel β_3 -AR'lerin varlığını ortaya koymuştur. Bu fonksiyonel sonuçlar, sıçan kolon dokusundan klonlanan atipik β -AR dizilimi ile sıçan adiposit cDNA arasındaki benzerlik ile moleküler biyoloji düzeyinde de desteklenmektedir (Bensaid ve ark, 1993). Buna ek olarak sıçan fundus (Cohen ve ark, 1995; Evans ve ark, 1996) ve ileum düz kaslarında (Evans ve ark, 1996; Roberts ve ark, 1999) da β_3 -

AR'lerin varlığı fonksiyonel ve moleküler düzeyde kanıtlanmıştır. β_3 -AR'ün varlığı insan gastrointestinal kanalında immünohistokimya teknikleri kullanılarak da belirlenmiştir (Anthony ve ark, 1998).

Yakın zamanda Horinouchi ve Koike (2002)'nin sonuçları kobay mide fundus ve duodenum dokularında β_3 -AR'lerin uyarılması sonucu oluşan gevşemenin mekanizmasında siklik AMP den bağımsız bir yolağın (klasik β_1 ve β_2 -AR'lerden farklı olarak) öncelikli olarak rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. Benzer şekilde, damar düz kasında yapılan çalışmalarda da G_s proteiniyle kenetli olmasına karşın prostasiklin reseptörlerinin uyarılmasıyla sağlanan gevşemelerin siklik AMP den bağımsız bir mekanizmayla oluştuğu saptanmıştır (Turcato ve Clapp, 1999; Yamaki ve ark, 2001). Söz konusu araştırmalarda beraprost'un BK_{Ca} kanallarını aktive ederek gevşeme yaptığı ve bu yanıtın yüksek KCl ile önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır (Yamaki ve ark 2001). Bu bulgudan hareketle Horinouchi ve ark (2003) kobay fundus ve duodenum preparatlarında β_3 -AR aracılı gevşemelerde BK_{Ca} kanallarının rolünü incelemişlerdir. Ancak damar düz kasından farklı olarak β_3 -AR'lerin uyarılması sonucu gastrointestinal düz kaslarda oluşan gevşemelerde BK_{Ca} tipi potasyum kanallarının yerine 4-aminopiridinle inhibe olan K_v tipi potasyum kanallarının önemli olduğu gösterilmiştir.

1.4.4. Kalp

İnsan kalbinde β_1 -AR baskın olan reseptör grubudur ve ventrikülde β_1/β_2 oranı yaklaşık olarak %70-80/20-30'dir (Brodde, 1991). β_1 - ve β_2 -AR'lerin her ikisi de G_s proteinine bağlı reseptörlerdir ve reseptörlerin uyarılmaları ikincil ulak cAMP'nin artışına neden olur. Ancak kalpte β_2 -AR'ün kasılma etkisine aracılık eden sinyalizasyon yolağı yeterince açık değildir. G_s 'e ek olarak, β_2 -AR'ler pertussis toksine duyarlı G_i proteinlerine de bağlanmaktadır (Xiao ve ark, 1999). Akut veya kronik stres sonucunda salgılanan adrenalin ve noradrenalin gibi endojen katekolaminler kalp kasında β_1 - ve β_2 -AR'leri uyararak pozitif inotropik ve kronotropik etkiler oluşturmaktadırlar (McDewitt, 1989; Brodde ve Michel, 1999).

Birkaç yıl öncesine kadar kalpte sadece β_1 - ve β_2 -AR'lerin bulunduğu düşünülmekteydi (Bristow ve ark, 1986). Ancak deney hayvanları üzerinde yapılan bir araştırmada, pindolol yada pindolol analogları gibi parsiyel agonistlerin, klasik β_1 - ve β_2 -AR antagonistleri ile bloke olmayan kronotropik ve inotropik etkiler göstermesi, kalpte atipik üçüncü bir β -AR'ün varlığını ortaya koymuştur (Kaumann, 1989). Buna karşın bu parsiyel agonistlerin insan kalbinde inotropi üzerine herhangi bir etkisi olmadığı saptanmıştır (Kaumann ve Lobnig, 1986). Daha sonra yapılan in vivo çalışmalarda, β_3 -AR agonistlerinin pozitif kronotropik etki gösterdiği saptanmıştır. Tavernier ve ark. (1992) bu etkiyi β_1 - veya β_2 -AR antagonistlerinin önlendiğini ve bu nedenle etkinin büyük olasılıkla β_3 -AR'lerin vazodilatasyonuna yanıt olarak barorefleks mekanizma sonucu olduğunu göstermişlerdir (Tavernier ve ark, 1992; Takayama ve ark, 1993; Whelldon ve ark, 1993; Whelldon ve ark, 1994; Shen ve ark, 1996).

Konuyla ilgili en önemli bulgu, Gauthier ve ark. (1996)'nın değişik ventriküler endomyokardial biyopsi yapılmış insan kalbinde fonksiyonel β_3 -AR varlığını kanıtlamalarıyla elde edilmiştir. Bu çalışmada, nadolol (β_1/β_2 -AR antagonisti) varlığında isoprenalin beklenmeyen bir şekilde negatif inotropik etki göstermiştir. Aynı çalışmada, değişik β_3 -AR agonistlerinin (BRL 37344, SR58611, CL 316243 ve CGP 12177) de benzer negatif inotropik etkiler yaptığı saptanmıştır. İnsan kalbinde β_3 -AR'lerin varlığı, sağlıklı ve/veya yetmezlik gelişmiş kalplerin atrium ve ventriküllerinde moleküler (Gauthier ve ark, 1996) ve immunohistokimyasal teknikler kullanılarak (Moniotte ve ark, 2001 ; Chamberlain ve ark, 1999) da kanıtlanmıştır. Ancak atriada bulunan β_3 -AR'ün fonksiyonel rolü henüz kanıtlanmamıştır.

İnsan ventrikülünde β_3 -AR stimülasyonu sonucu görülen negatif inotropik etkinin, pertussis toksine duyarlı G proteinin aktivasyonu (Gauthier ve ark, 1996) ve NOS yolağıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Gauthier ve ark, 1998).

Kalpde β_3 -AR'lerin varlığı deney hayvanları üzerinde yapılan in vitro araştırmalarda da gösterilmiştir. Kitamura ve ark (2000) izole perfüze kobay kalbinde, β_3 -AR agonistlerin kısmen Ca^{2+} girişi ve kısmen de NOS yolağı aracılığıyla negatif inotropik etki yaptığını bulmuşlardır. Bununla birlikte köpeklerde β_3 -AR stimülasyonu tarafından oluşturulan negatif inotropik etkinin insan ventrikülündeki yanıtlara göre daha az bulunmuş olması nedeniyle, hayvanlar üzerindeki araştırmaların bir β_3 -AR agonistinin insan miyokardındaki farmakolojik profilini tam olarak yansıtmadığı ileri sürülmüştür (Gauthier ve ark, 1999). Öte yandan β_3 -AR agonistlerinin etki güçleri türler arasında farklılık göstermektedir (Gauthier ve ark, 1999). Sıçanlarda ve kobaylarda, sırasıyla sadece BRL 37344 ve CL 316243 negatif inotropik etki göstermesine karşın, ferretlerde (dağgelinciği) hiç bir agonist etki yapmamıştır (Gauthier ve ark, 1999).

1.4.5. Damar

Genel olarak damarlardaki vazodilatasyon hem β_1 - hem de β_2 -AR'lerle ilişkilidir. Periferel damarlarda baskın olan β -AR alt tipi β_2 -AR'dir (Lands ve ark, 1967a). Ancak her bir β -AR alt tipinin fonksiyonu damar yatağına ve türlere göre farklılık göstermektedir (Osswald ve Guimaraes, 1983). Örneğin köpek pulmoner, mezenterik ve dalak arterlerinde β_2 -AR (Begonda ve ark, 1995; Taira ve ark, 1977) , serebral ve koroner arterlerde β_1 -AR'lerin yoğun olduğu gösterilmiştir (O'Donnell ve Wanstall, 1985; Edvinsson ve Owman, 1974). Sıçan ve farelerin damar sisteminde ise, yoğun olarak β_1 -AR olmasına karşın β_2 -AR sadece birkaç büyük damarda adrenerjik vazodilatasyona katkıda bulunmaktadır (Chruscinski ve ark, 2001).

Endotelyal hücrelerde bulunan β -AR'ler de vasküler tonüsün düzenlenmesine aracılık etmektedirler. Ancak, bu etkinin mekanizma(ları) tam olarak anlaşılamamıştır. Bunun nedeni farklı damar yatakları ve türlerde, ilgili olan reseptör alt tipleri arasında farklılık olmasıyla açıklanabilir. Sıçan aortasında isoprenalinle oluşturulan vazodilatasyonun endotelyumdan bağımsız yada kısmen/tümüyle bağımlı olduğu kanıtlanmıştır (Konishi ve Su, 1983; Satake ve ark, 1996; Kamata ve ark,

1989; Gray ve Marshall, 1992; Delpy ve ark, 1996; Toyoshima ve ark, 1998; Brawley ve ark, 2000). Aynı şekilde köpek koroner arterinde de β -AR agonistlerinin sağladığı vazodilatasyonun endotelyuma bağımlı (Rubanyi ve Vanhoutte, 1985) ya da bağımsız olabileceği gösterilmiştir (Bea ve ark, 1994; White ve ark, 1986). Birbiriyle çelişen bu sonuçları Guimaraes ve Moura (1999) aşağıdaki faktörlerle açıklamaya çalışmışlardır:

- ön kasılma oluşturmak için kullanılan ajanların farklı olması (norepinefrin, α -ve β -AR agonist; fenilefrin, selektif α_1 -adrenoseptör agonisti)
- Ön kasılma düzeyindeki farklılık β -AR agonistlerinin gevşeme yanıtlarını etkilemesi.
- Düz kas ve endotelial hücreler arasında farklı β -AR alt tiplerinin ekspresyonunun olması.

Selektif agonist ve antagonistlerin kullanıldığı in vitro ve in vivo çalışmalarda, klasik β -AR'lerden farklı olarak vazodilatasyona aracılık eden üçüncü bir β -AR'ün varlığı gösterilmiştir. Bu çalışmaların birinde pindolol (parsiyel agonist), köpek mezenterik arteri ve sıçan aortasında propranolol ile bloke olmayan gevşemeye neden olmuştur (Clark ve Bertholet, 1983). Benzer şekilde propranolol varlığında isoprenalin, sıçan karotid arterinde (Oriowo, 1994; MacDonald ve ark, 1999), sıçan aortasında (Oriowo, 1995; Souch ve Marshall, 1997), sıçan pulmoner damarlarında (Dumas ve ark, 1998) ve köpek pulmoner arterinde (Tagaya ve ark, 1999) gevşemeye neden olmuştur. Selektif β_3 -AR agonistlerinin çeşitli damarlarda gevşeme yapması atipik β -AR'lerin β_3 -AR olduğunu göstermiştir (Oriowo, 1994; Souch ve Marshall, 1997; Trochu ve ark, 1999). Sağlıklı köpeklerde β_3 -AR agonistler, başta deri ve adipoz dokuda olmak üzere periferel bir vazodilatasyonu indüklemiştir (Shen ve ark, 1994; Berlan ve ark, 1994).

β_3 -AR'lerin vazodilatör etkisine aracılık eden mekanizmalar türlere ve çalışılan damar yatağına göre farklılıklar göstermektedir. Köpek pulmoner arterinde (Tagaya ve ark, 1999) ve sıçan portal veninde (Viard ve ark, 2000) bu mekanizmanın siklik AMP ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Buna karşın, sıçan torasik aortasında endotelial β_3 -AR aracılı gevşemelerin damar düz kas hücresinde siklik GMP'nin artışına ve bir çok potasyum kanalının (BK_{Ca} , K_{ATP} , K_V) aktivasyonuna (Rautureau ve ark, 2002) bağlı olduğu görülmüştür.

Yukarıda belirtilen genel bilgiler ve literatür bulguları göz önüne alındığında, Diabetes mellitus'un diyabetik periferik nöropati nedeniyle çeşitli düz kas hücrelerinde fonksiyon bozukluğuna yol açtığı görülmektedir. Diyabet varlığında gastrointestinal sistemde görülen komplikasyonların patogenezinde, periferik nöropatinin sempatik sinir sistemindeki olumsuz etkilerinin rol oynadığı düşünülmektedir. Sempatik sinir sisteminin aktivasyonu β -adrenerjik reseptörler aracılığıyla sıçan gastrik fundusunda gevşemeye neden olmaktadır. Sıçan gastrik fundusunda bu etkiyi sağlayan başlıca β -adrenoseptör alt tipinin hangisi/hangileri olduğu konusunda tartışmalar devam etmektedir. Ayrıca diyabet varlığında, sıçan gastrik fundusunda bulunan β -adrenoseptör alt tiplerinin ne ölçüde değiştiği ve diyabetin yol açtığı komplikasyonlardan hangi reseptör alt tip(ler)indeki değişikliğin sorumlu olduğu bilinmemektedir. Bu nedenle çalışmamızda, sıçan gastrik fundusundaki gevşeme yanıtlarından hangi β -adrenoseptör alt tipinin sorumlu olduğu ve bunun streptozotosin ile diyabet yapılmış sıçanların gastrik fundusunda, ne şekilde değiştiğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Kullanılan Gereçler

2.1.1. Malzemeler

- İsometik Force Displacement Transducer (May FDT 10, Commat Ltd., Ankara, TÜRKİYE)
- 10 ml rezervuar hacimli (çift duvarlı) izole organ banyosu düzeneği
- Bilgisayar aracılı kayıt ölçüm sistemi ve programı (Data Acquisition system, MAY TDA 97, Commat Ltd., Ankara, TÜRKİYE)
- %95 Oksijen, %5 karbondioksit içeren gaz karışım tüpü
- Spektrofotometre (Shimadzu, UV-visible-240, JAPONYA)
- Glukoz Analizörü (YSI, ABD)
- Gama Counter (Mini Instruments, İNGİLTERE)
- İnsülin kitleri (DPC, ABD)
- Santrifüj (Hettich, EBA 12, Tuttlingen, ALMANYA)
- Kaba terazi (Scaltec, SBA 61 Heiligenstadt, ALMANYA)
- Hassas terazi (Scaltec, SBA 31 Heiligenstadt, ALMANYA)
- Su banyosu (MAY, Commat Ltd. Ankara, TÜRKİYE)
- Çeşitli hacimli otomatik pipetler (Genex, FİNLANDİYA)
- Vortex
- Kronometre
- Pipet uçları
- Lityum-Heparinli tüpler (10 mL Hacimli)
- Spektrofotometre kuvvetleri
- Çeşitli cam malzemeler
- Cerrahi makas ve pensler

- NanoDrop (NanoDrop Tech., ABD)
- Thermocycler (ThermoHybaid, ABD)
- Dry Bath (Major Science, ABD)
- Elektroforez aleti (SCIE-PLAS, İngiltere)
- Güç kaynağı (SCIE-PLAS, İngiltere)
- Mikrodalga fırın (Arçelik)
- Jel görüntüleme sistemi (Kodak EDAS 290, ABD)

2.1.2. Kimyasal maddeler

- Streptozotosin (Sigma Chemical Co, ABD)
- Karbakol (Sigma Chemical Co, ABD)
- İso prenatalin (Sigma Chemical Co, ABD)
- Nadolol (Sigma Chemical Co, ABD)
- BRL 37344 (Sigma Chemical Co, ABD)
- SR 59230 A (Sigma Chemical Co, ABD)
- Tiyopental sodyum (Abbott, İstanbul, TÜRKİYE)
- Trigliserid ölçüm kitleri (Roche-Hitachi, Roche Diagnostics Co, ABD)
- Krebs çözeltisi
- Prazosin (Sigma Chemical Co, ABD)
- Askorbik asit (Sigma Chemical Co, ABD)
- Prednizolon (Fako)
- SV Total RNA İzolasyon Sistemi (Promega, ABD)

2.1.3. Deney hayvanları

Bu çalışmada erkek Sprague Dawley sıçanların bakımları “Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Bakım Ünitesi”nde (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 22±1 °C) yapılmıştır.

2.2. Kullanılan Yöntemler

2.2.1. Deneysel diyabetin oluşturulması

Araştırmamızda 200-250 gram ağırlığındaki 26 adet erkek Sprague Dawley sıçan beden ağırlıkları eşleştirilerek Kontrol (K, n=11) ve Diyabetik (D, n=15) olmak üzere iki deney grubuna ayrılmıştır. Deneysel diyabet, sıçanların kuyruk veninden sitrat tamponu (pH=4,5) içinde hazırlanmış STZ (40mg/kg) verilerek yapılmıştır. Kontrol sıçanlara ise aynı yolla sadece sitrat tamponu uygulanmıştır.

2.2.2. Mide fundus preparatının hazırlanması

Tiyopental sodyum (50 mg/kg, ip.) anestezisi altındaki sıçanların karın bölgesi açılarak mideleri çıkartılmış ve sonrasında fundus preparatının hazırlanmasında Vane'nin (1957) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle göre, yağ ve bağ dokusundan tümüyle temizlenmiş mide fundus düz kasından 15-20 mm uzunluğunda ve 3-5 mm genişliğinde mukoza tabakası uzaklaştırılmış iki adet "longitudinal" şerit hazırlanmıştır. Preparatlar 1 gramlık isometrik gerim altında 10 mL fizyolojik Krebs çözeltisi (mM/L: NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, MgSO₄.7H₂O 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25 ve glukoz 11.1, pH=7.4). içeren organ banyolarına yerleştirilmiştir. Krebs çözeltisi sürekli olarak 37°C'de tutulmuş ve %95 O₂ ve %5 CO₂ ile havalandırılmıştır. Dokular, deneysel protokol başlamadan önce 60 dakika dengelenmeye bırakılmış ve bu süre içerisinde banyo çözeltisi 10 dakikalık aralıklarla yenilenmiştir.

Bütün deneylerde agonistlerin ekstrasöronal uptake'ini, α_1 -adrenerjik reseptör ile etkileşmesini ve oksidasyonlarını engellemek için fizyolojik Krebs çözeltisine, sırasıyla, prednizolon (0.1 μ M), prazosin (0.1 μ M) ve askorbik asit (30 μ M) katılmıştır.

2.2.3. Deneysel protokol

Araştırmamızda öncelikle sıçan mide fundusunda β -adrenerjik reseptör aracılı gevşemeler araştırılmıştır. Bu amaçla, isoprenalin (selektif olmayan β -AR agonisti) ve BRL 37344 (selektif β_3 -AR agonisti) yanıtları tek başına ya da antagonist varlığında (nadolol ve/veya SR 59230 A) aşağıdaki deneysel protokol uygulanarak incelenmiştir.

60 dakikalık dengeleme süresinin sonunda mide fundus preparatları karbakol (10 μ M) ile kastırılmıştır. Yıkılarak bazal gerime inmesi sağlanan preparatlarda 15 dakika sonra karbakol kümülatif konsantrasyon (0.001-30 μ M) yanıt eğrisi çıkartılmıştır. 15 dakikalık yıkama süresinden sonra dokular, karbakolün maksimum yanıtın %80-85'ini oluşturan submaksimal konsantrasyonu (1 μ M veya 3 μ M) ile kastırılmıştır. Bu şekilde ön kasılma sağlanmış mide fundus şeritlerinde isoprenalin (0.001-30 μ M) ile kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisi elde edilmiştir. Daha sonra nadololün (β_1 ve β_2 -AR antagonisti) artan konsantrasyonlarının (0.1-100 μ M) varlığında 1 saat arayla üç isoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrisi daha oluşturulmuştur. Nadolol her bir konsantrasyon-yanıt eğrisinden 45 dakika önce organ banyosuna eklenmiştir. Literatürdeki veriler (McLaughlin ve MacDonald, 1991) mide fundusunda isoprenalinin gevşeme yanıtlarının zamana bağlı olarak sağa kaydığını gösterdiği için, bazı dokularda nadolol olmaksızın 1 saat aralıklarla dört isoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrisi çıkarılmış ve kayma oranları hesaplanmıştır.

Aynı dokuda tekrarlanan BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrilerinde elde edilen gevşemelerin desensitizasyon nedeniyle önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (McLaughlin ve MacDonald, 1991).Bu nedenle, antagonistlerin (nadolol veya SR 59230A) BRL 37344 gevşeme yanıtları üzerine etkisini incelemek için aynı mide fundusundan hazırlanan iki preparatın biri kontrol olarak değerlendirilmiştir.

β_3 -AR aracılı gevşemelerin K^+ kanallarının aktivasyonu ile ilgili olup olmadığını araştırmak için BRL 37344 yanıtları 80 mM KCl ile kastırılmış preparatlarda incelenmiştir.

Araştırmamızın ikinci bölümünde kontrol ve diyabetik hayvanlarda β -AR aracılı gevşeme yanıtlarındaki değişiklikler incelenmiş ve aşağıda açıklanan protokol uygulanmıştır.

60 dakikalık dengeleme süresinin sonunda mide fundus preparatları 10^{-5} M karbakol ile kastırılmıştır. Yıkanarak bazal gerime inmesi sağlanan preparatlarda 15 dakika sonra karbakol kümülatif konsantrasyon ($0.001-30 \mu\text{M}$) yanıt eğrisi çıkartılmıştır. 15 dakikalık yıkama süresinden sonra dokular, karbakolün maksimum yanıtın %80-85'ini oluşturan submaksimal konsantrasyonu ($1 \mu\text{M}$ veya $3 \mu\text{M}$) ile kastırılmıştır. Bu şekilde ön kasılma sağlanmış mide fundus şeritlerinde isoprenalin ($0.001-30 \mu\text{M}$) ile kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisi elde edilmiştir. Yıkama işlemlerinden 15 dakika sonra aynı submaksimal karbakol konsantrasyonu ile ikinci kez ön kasılma sağlanmış mide fundus şeritlerinde BRL 37344 ($0.001-100 \mu\text{M}$) ile gevşeme yanıtları oluşturulmuştur.

İsoprenalin ve BRL 37344 gevşeme yanıtları karbakol ile elde edilen başlangıç gerimin % değeri olarak hesaplanmıştır.

2.2.4. Schild plot

Agonistin etki gücü pD_2 ($-\log EC_{50}$) değeri olarak ifade edilmiştir. Agonist kayma oranları (AKO) antagonist varlığında ve yokluğundaki EC_{50} değerlerinden hesaplanmıştır. Nadolol varlığında isoprenalin için elde edilen kayma oranları antagonist olmaksızın zamana bağlı olarak tekrarlanan isoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrilerinde görülen kayma oranlarına bölünerek düzeltilmiştir.

Antagonistin gücü pA_2 değeri olarak ifade edilmiştir. Bu değer Schild plot (Arunklakshana ve Schild, 1959) analizi yapılarak hesaplanmıştır. Bunun için $\log(\text{agonist kayma oranı} - 1)$ 'e karşı $\log(\text{antagonist konsantrasyonu})$ lineer regresyonla analiz edilmiştir. Buna göre elde edilen doğrunun x eksenini kestiği nokta pA_2 değeri olarak alınmıştır. Doğru eğiminin anlamlı olarak 1 den farklı

olmaması kompetatif tipte bir antagonizmanın göstergesi olarak kabul edilmiştir. Bu durumda pA_2 değeri, aşağıdaki eşitlik kullanılarak her bir antagonist konsantrasyonunda elde edilen kayma oranlarından hesaplanmıştır:

$$pA_2 = \log(\text{agonist kayma oranı}-1) - \log[\text{antagonist}]$$

Bazı deneylerde antagonistin tek bir konsantrasyonu test edilmiş ve yukarıdaki eşitlik kullanılarak elde edilen pA_2 değeri, pK_B değeri olarak ifade edilmiştir.

2.2.5. Biyokimyasal Analizler

Deney günü sıçanlar öldürülmeden önce kuyruklarından alınan kan örnekleri (500 μ l) 6000 g'de 10 dak. santrifüj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Plazma glukoz düzeyleri Glukoz Analizörü'nde, plazma trigliserit düzeyleri ise uygun enzim kiti kullanılarak kolorimetrik yöntemle UV-visible spektrofotometrede ölçülmüştür. Plazma insülin düzeyleri radyoimmüoassay ile tayin edilmiştir.

2.2.6. Total RNA Ekstraksiyonu:

-80°C de saklanan mide fundus düz kas dokusu porselen havanda likit nitrojenle toz edilmiştir. Bundan yaklaşık 50-150 mg ağırlıkta doku tartılarak üzerine 1ml RNA lizis tamponu konulmuş ve vortekslenmiştir. Daha sonra bu karışım cam ekstraktörlere konarak homojenize edilmiş ve bütün bu işlemler sırasında RNaz kontaminasyonunu engellemek için steril malzeme kullanılmıştır. Homojenatların 1.5 ml lik tüplere alınmasından sonra 175 μ l alınıp üzerine 350 μ l RNA dilüsyon tamponu eklenmiş ve karıştırılıp 70°C de 3dk ısıtılmıştır. Sonra buzda soğutulup 14 000 g de 10 dk santrifüj edilmiştir. Supernatant kısmı alınarak üzerine 200 μ l %95 lik etanol eklenerek karıştırılıp spin sepeti ve toplama tüpünden oluşan özel spin kolonlarına aktarılmış ve 14 000 g de 1 dk santrifüj edilmiştir. Altta toplanan sıvı atılıp spin sepetine 600 μ l RNA yıkama solüsyonu konulmuş ve 14 000 g de 1 dk

santrifüj edilmiştir. Altta biriken sıvı tekrar atılıp spin sepetine 40 µl sarı renkli tampon çözelti, 5 µl MnCl₂ ve 5 µl DNaz enziminden oluşan 50 µl karışım konulup 15 dk 20-25°C de bekletilmiştir. Bu süre sonunda spin sepetine 200 µl DNaz durdurma solüsyonu konularak 14 000 g de 1 dk santrifüj edilmiştir. Toplama tüpü yine boşaltılarak 600 µl RNA yıkama solüsyonu konulup 14 000 g de 1 dk santrifüj edilmiştir. Alt sıvı tekrar boşaltılıp bu kez 250 µl RNA yıkama solüsyonu konularak 14 000 g de bu sefer 2 dk santrifüj edilmiştir. Bu işlem sonunda toplama tüpü atılıp spin sepeti temiz ve steril bir tüpe yerleştirilmiş ve sepet üzerine 100 µl nükleaz içermeyen su konulmuştur. 14 000 g de 1 dk santrifüj edilmiş ve spin sepetleri atılarak tüpler kapatılmıştır. Böylece total RNA elde edilmiştir. Bu total RNA dan 5 µl alınıp üzerine 95 µl nükleaz içermeyen su konularak karıştırılmış ve Nanodrop cihazıyla 260 ve 280 nm dalga boylarında verdiği absorbans, OD (260/280 değeri) ve numunenin içerdiği protein miktarı okunmuştur. Buna göre OD değerleri 1.7-2.2 arasındaki numuneler RT-PCR reaksiyonuna sokulmuştur.

2.2.7. RT-PCR

RT-PCR' ın (reverse transcriptasepolymerase chain reaction) ilk adımında total RNA lardan oligo dT primeri kullanılarak mRNA' lar elde edilmiştir. Daha sonra bu mRNA' lardan “revers transkriptaz” enzimiyle cDNA iplikçikleri yapılmıştır.

1 µg total RNA'ya karşılık gelen µl RNA örneğine nükleaz içermeyen su eklenerek toplam 4 µl'ye tamamlanmıştır. Üzerine 1 µl oligo dT'nin primer eklenmiş ve PCR-makinesinde 70°C' de 5dk. tutulmuştur. Daha sonra örnekler üzerine sırasıyla aşağıdakiler eklenmiştir:

Su	6,1 µl
5X Tampon	4,0 µl
MgCl ₂ (25 mM)	2,4 µl
dNTP	1,0 µl
RNazin	0,5µl
RT(Reverse transkriptase)	1,0 µl

Final hacmi 20µl olan örneklere PCR makinesinde aşağıdaki program uygulanmıştır:

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

2.2.8. PCR

RT-PCR ile elde edilen cDNA iplikçikleri Taq DNA polymeraz enzimi varlığında çoğaltılmıştır. β -aktin, β_1 -AR, β_2 -AR ve β_3 -AR olmak üzere dört farklı primerla çalışılmıştır.

cDNA	5,0 µl
10X Tampon	5,0 µl
MgCl ₂ (25 mM)	2,4 µl
dNTP	1,0 µl
Taq	0,2 µl
Primer (10 pmol/ml)	2,0 µl
Primer (10 pmol/ml)	2,0 µl
Distile su	(-)*ml
Toplam Hacim	50 ml

* Her deney için $MgCl_2$, cDNA, ve primer miktarları değişebileceği için su miktarı toplam hacim olan 50 μl den çıkarılarak her deney için özel olarak hesaplanacaktır.

PCR karışımları daha sonra aşağıdaki programlara göre PCR makinesine konmuştur.

94 °C	3 dk	Denatürasyon
50-60 °C	1 dk	Tutunma*
72 °C	2 dk	Uzama

1 Döngü

* herbir primer için farklıdır

94 °C	3 dk
50-60 °C	1 dk
72 °C	2 dk

35 döngü

72 °C	10 dk
4 °C	5 dk

Primer Adı	$MgCl_2(25mM)$	Tutunma Derecesi($^{\circ}C$)	Ürün Büyükülüğü(BP)
β -aktin	2,4	58	387
β_1 -AR	2,4	58	327
β_2 -AR	2,4	60	560
β_3 -AR	2,8	58	444

Şekil 2.1. Reaksiyonda kullanılan primerlerin $MgCl_2$ konsantrasyonları, tutunma dereceleri ve ürün büyüklükleri

2.2.9. Jel Elektroforezi

1. Agaroz jel kasetine tarak yerleştirilmiştir.
2. %1.5' lik jel hazırlamak için, bir erlene 1.35 g agaroz tartılarak 90 ml 10XTBE elektroforez tamponu eklenmiş ve mikrodalga fırında çözülmüştür.
3. Yaklaşık 40-45 °C' a soğutularak final konsantrasyonu 0.3 µg/ml olacak şekilde 10 mg/ml' lik etidyum bromürden 2,7 µl eklenmiştir.
4. Jel kasete dökülerek 30-60 dakika süre ile donması beklenmiş ve sonra taraklar çıkarılarak içinde 10X TBE bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir.
5. Numuneden 50 µl alınıp üzerine 10 µl 6X blue orange dye konulup jel üzerindeki yuvalara uygulanmıştır. Jele ayrıca 1Kb'lik DNA ladder uygulanmıştır.
6. 1 saat boyunca elektroforez yapılmıştır. Bu süre sonunda jelin UV ışığı altında fotoğrafı çekilerek Kodak 1D 3,5 programı ile analizleri yapılmış ve söz konusu reseptörlerin mRNA düzeylerindeki değişimler belirlenmiştir.

2.2.10. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, belli sayıda (n) deney sonucundan elde edilen ortalama±standart hata olarak gösterilmiştir. Schild plot grafiğinde oluşan doğrunun eğimi için eğim± %95 güven aralığı olarak verilmiştir. Sonuçların istatistiksel analizi için Student's paired ya da unpaired t testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık $P < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

3. BULGULAR

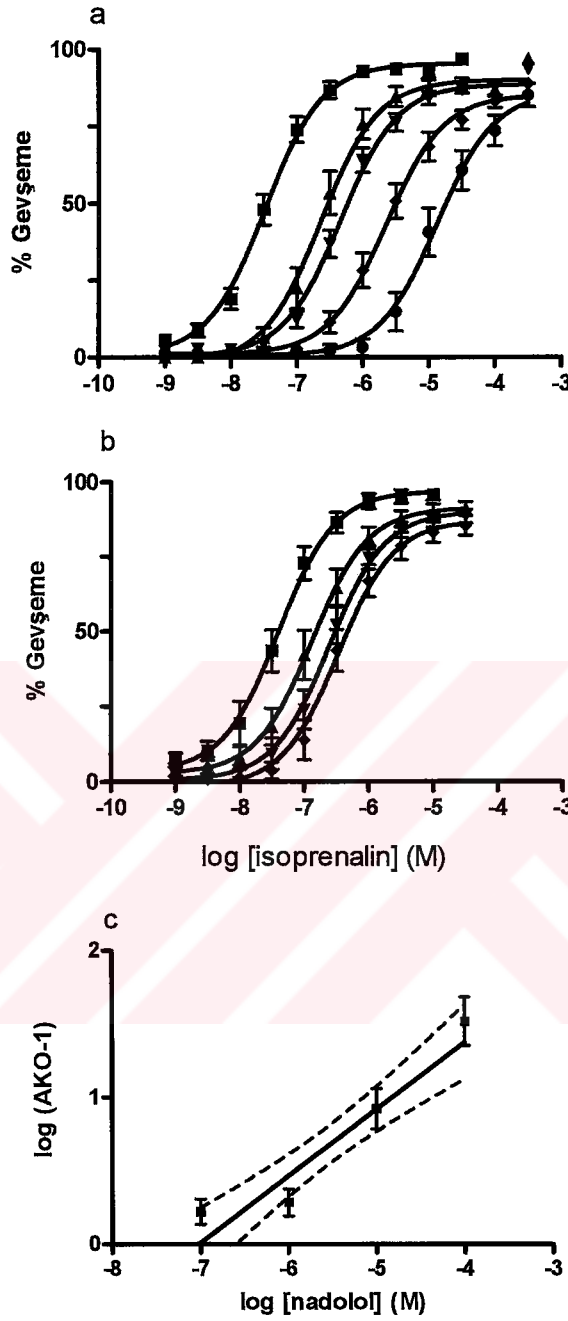
3.1. İzole sıçan mide fundus şeritlerinde isoprenalin ile elde edilen gevşeme yanıtları

Karbakol ile kastırılmış izole mide fundus şeritlerinde isoprenalin konsantrasyon (0,001-30 μ M) bağımlı gevşemeler oluşturmuştur (pD_2 $7.48 \pm 0,08$, $n=14$).

β_1/β_2 -AR antagonisti nadolol (0,1; 1; 10; 100 μ M), isoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrisini sağa kaydırmıştır (Şekil 3.1a). Tek başına tekrarlanan isoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrisinde (Şekil 3.1b) zamana bağlı olarak oluşan doku duyarlılığındaki azalma sonucu gerçekleşen kayma oranları göz önüne alındıktan sonra yapılan Schild plot analizi, doğru eğiminin anlamlı olarak 1'den küçük olduğunu göstermiştir (eğim, $0,46 \pm 0,14$, %95 güven aralığı $n=42$) (Şekil 3.1c). Bu sonuç nadolol ile elde edilen inhibisyonun kompetatif tipte bir antagonizma olmadığını ve agonistin birden fazla reseptör tipi üzerinden etki yapabileceğini göstermektedir. Buna göre her bir nadolol konsantrasyonunda elde edilen pK_B değerleri çizelge 3.1'de görülmektedir.

Çizelge 3.1. İsoiprenalin konsantrasyon-yanıt eğrisinde nadolol için hesaplanan pK_B değerleri.

Konsantrasyon (μ M)	pK_B
0.1	7.22 ± 0.09 (8)
1.0	6.29 ± 0.09 (14)
10.0	5.92 ± 0.14 (14)
100.0	5.52 ± 0.16 (6)



Şekil 3.1. Sıçan izole mide fundusunda isoprenalin konsantrasyon yanıt eğrisi üzerinde; (a) nadololün etkisi. (■), kontrol (n=14); (▲), 0,1 μM nadolol (n=8); (▼), 1 μM nadolol (n=14); (◆), 10 μM nadolol (n=14); (●), 100 μM nadolol (n=6). (b) İsoiprenalin yanıtlarının zamana bağlı değişimi (■), birinci (n=6), (▲), ikinci (n=6), (▼), üçüncü (n=6) ve (◆), dördüncü (n=6), (c) a grafiğindeki veriler kullanılarak çizilen Schild grafiği.

3.2. İzole sıçan mide fundus şeritlerinde BRL 37344 ile elde edilen gevşeme yanıtları

BRL 37344 (0,01-30 μM), selektif β_3 -AR agonist, mide fundus preparatında karbakol ile sağlanmış tonüsü konsantrasyon bağımlı olarak bifazik olarak gevşetmiştir. İsoiprenalin ile elde edilen yanıtlarla karşılaştırıldığında BRL 37344 başlangıç konsantrasyonlarında yavaş ve yatık, yüksek konsantrasyonlarda ise hızlı ve keskin bir gevşeme profili oluşturmuştur (Şekil 3.2a ve 3.2b). Bu nedenle BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrisi iki parçaya bölünerek incelenmiştir (faz 1: 0,01-1 μM ; faz 2:1-100 μM). Öte yandan nadolol (1 μM) BRL 37344 gevşeme yanıtlarının birinci ve ikinci fazları üzerinde anlamlı bir değişiklik yapmamıştır (Çizelge 3.2).

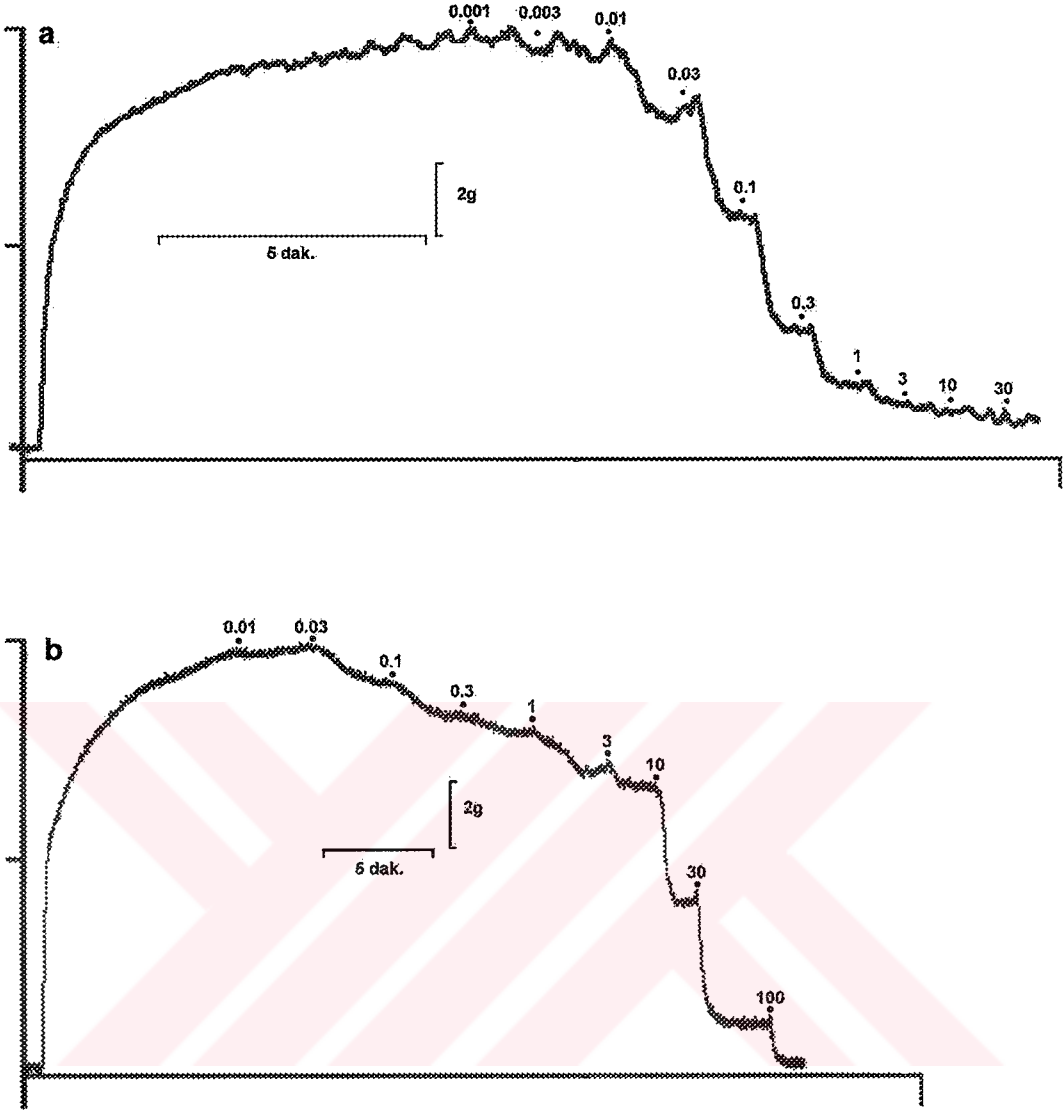
Çizelge 3.2. Sıçan mide fundusunda nadolol (1 μM) varlığında ve yokluğunda BRL 37344'in gevşeme grafiğinin her iki parçası ve tamamı için bulunan pD_2 değerleri

	1. faz	2. faz	Total
Kontrol (n=5)	7,13 $\pm$ 0,19	4,87 $\pm$ 0,14	5,46 $\pm$ 0,30
Nadolol (n=5)	7,30 $\pm$ 0,11	4,86 $\pm$ 0,11	5,46 $\pm$ 0,31

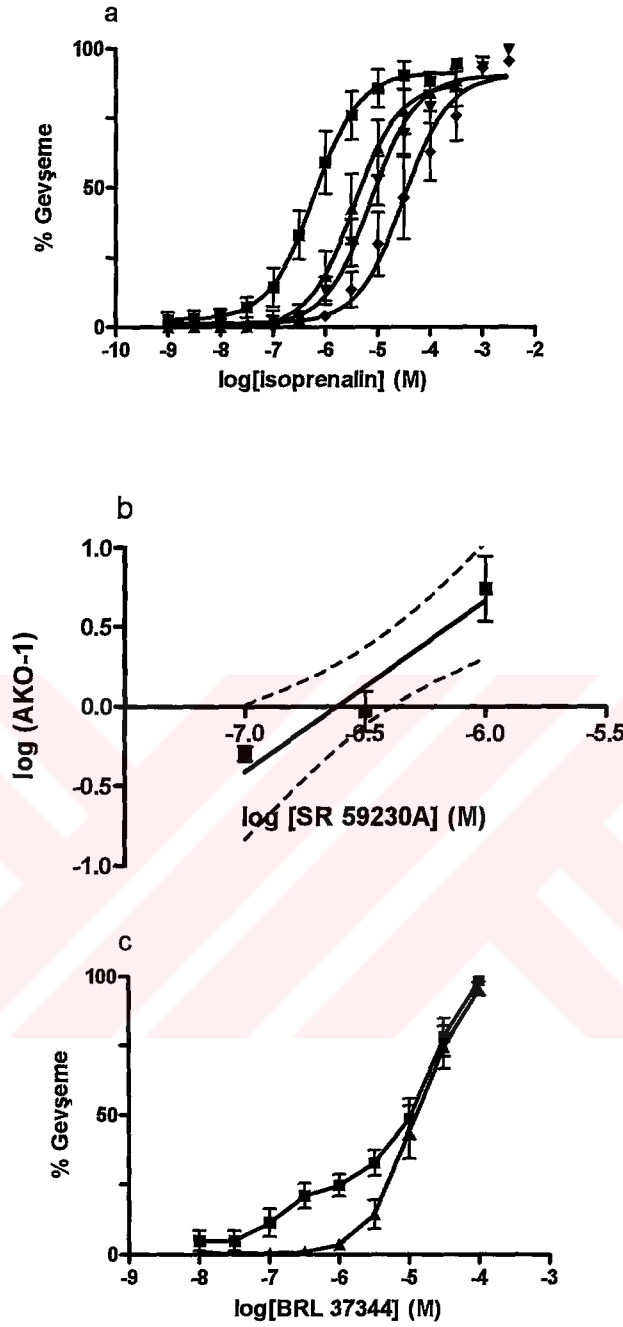
3.3. İsoiprenalin ve BRL 37344 yanıtları üzerinde SR 59230A'nın etkisi

Nadolol (1 μM) varlığında SR 59230A (selektif β_3 -AR antagonisti) konsantrasyona (0,1; 0,3; 1 μM) bağlı olarak isoprenalin yanıtlarını antagonize etmiştir ($\text{pA}_2=6,63\pm0,09$, n=8) (Şekil 3.3a). Schild doğrusunun eğimi ($1,07 \pm 0,62$, %95 güven aralığı, n=8) istatistiksel olarak 1'den farklı olmadığı için bu antagonizmanın kompetatif nitelikte olduğu kabul edilmiştir (Şekil 3.3b).

SR 59230A (1 μM) BRL 37344 gevşeme yanıtının ilk fazını tamamen bloke etmiştir ancak ikinci fazı üzerinde bir inhibisyon oluşturmamıştır (antagonist yokluğunda; pD_2 : 4,83 $\pm$ 0,16; SR 59230A varlığında 4,69 $\pm$ 0,13) (Şekil 3.3c).



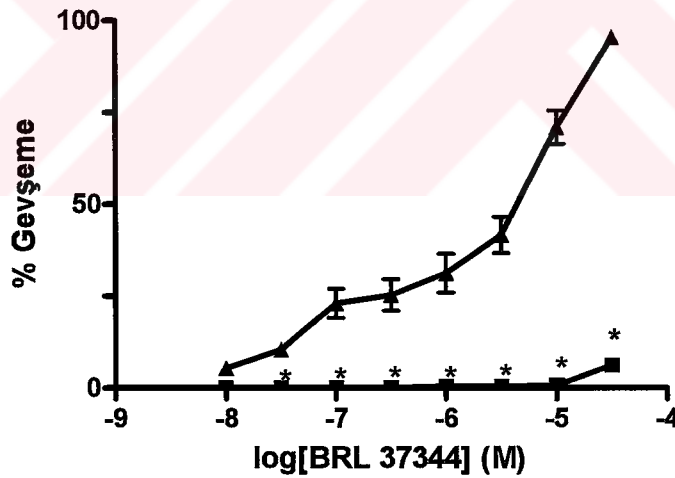
Şekil 3.2. Sıçan mide fundusunda (a) isoprenalin ve (b) BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrilerinin traseleri. Traselerde belirtilen konsantrasyonlar μM cinsinden verilmiştir.



Şekil 3.3. Sıçan izole mide fundusunda isoprenalin konsantrasyon yanıt eğrisi üzerinde; (a) 1 μ M nadolol varlığında SR 59230A'nın etkisi. (■), kontrol (n=3); (▲), 0,1 μ M SR 59230A (n=3); (▼), 0,3 μ M SR 59230A (n=3); (◆), 1 μ M SR 59230A (n=3), (b) (a) grafiğindeki veriler kullanılarak çizilen Schild grafiği, (c) 1 μ M nadolol varlığında BRL 37344 konsantrasyon yanıt eğrisi üzerine 1 μ M SR 59230A'nın etkisi. (■), kontrol (n=4), (▲), SR 59230A varlığında (n=4).

3.4. KCl ile ön kasılma oluşturulmuş mide fundus preparatlarında BRL 37344 gevşeme yanıtları

K^+ kanallarının aktivasyonun β_3 -AR aracılı gevşemelere aracılık edip etmediğini tayin etmek için yüksek konsantrasyonda (80 mM) KCl'in inhibitör etkisi incelenmiştir. Submaksimal karbakol ile önkasılma yapılmış dokularda BRL 37344'ün maksimum gevşeme yanıtı ($\%95,5 \pm 1,5$) ile karşılaştırıldığında, 80mM KCl ile kastırılmış mide fundus preparatlarında bu yanıtın belirgin şekilde inhibe olduğu ($\%6,2 \pm 1,2$) saptanmıştır. Bu bulgu β_3 -AR aracılı gevşemelerde K^+ kanallarının önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Yüksek konsantrasyonda KCl'in BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerine olan etkisi. (▲), ön kastırıcı olan karbakolün kullanıldığı BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrisi; (■), ön kastırıcı olarak (80 mM) KCl'in kullanıldığı BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrisi. *P<0,05 Kontrol gruba göre anlamlı farklılık.

3.5. Kontrol ve diyabetik sıçanların genel özellikleri

Çizelge 3.3 de görüldüğü gibi 20 haftalık bakım süresi sonunda beklendiği gibi diyabetik sıçanların beden ağırlıkları kontrollere göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Buna ek olarak, diyabetik sıçanlarda belirgin şekilde hiperglisemi, hipoinsülinemi ve hipertrigliseridemi geliştiği saptanmıştır. Öte yandan, mide fundus şeritlerinin uzunluğu ve ağırlığında kontrol ve diyabetik gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşmamıştır.

Çizelge 3.3. Kontrol ve diyabetik sıçanların beden ağırlıkları, biyokimyasal değerleri ve fundus şeritlerinin özellikleri

	Kontrol (n=11)	Diyabetik (n=15)
Beden ağırlığı (g)	470,3±10,8	250,4±17,3 *
Plazma glukoz (mg/dL)	128,9±3,1	547,9±26,0 *
Plazma İnsulin (μIU/ml)	16,3±1,1	3,6±0,6 *
Plazma Trigliserit (mg/dL)	99,8±8,2	132,1±7,4 *
Fundus Şeritlerinin Ağırlığı (mg)	59,9±4,6	52,7±3,4
Fundus Şeritlerinin Uzunluğu (mm)	22,1±0,9	20,5±0,7

*, P<0,05 Kontrol gruba göre anlamlı farklılık.

3.6. Deneysel diyabetin mide fundusdaki kasılma ve gevşeme yanıtları üzerine etkisi

Kontrol ve diyabetik sıçanların mide fundus şeritlerindeki karbakol konsantrasyon-yanıt eğrisi Şekil 3.5a'da görülmektedir. Kontrol sıçanlar ile karşılaştırıldığında diyabetik sıçanların mide fundus şeritlerinde karbakolle oluşan maksimum kasılma yanıtı daha düşük olmasına karşın, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Kontrol 16,1±0,8 gram, n=11; Diyabetik 13,8±0,8 gram, n=15, p>0,05) Öte yandan, kontrol ve diyabetik sıçanlarda karbakolün pD₂ değerleri

farklılık göstermemiştir (Kontrol $6,51 \pm 0,07$, $n=11$; Diyabetik $6,65 \pm 0,08$, $n=15$, $p>0,05$).

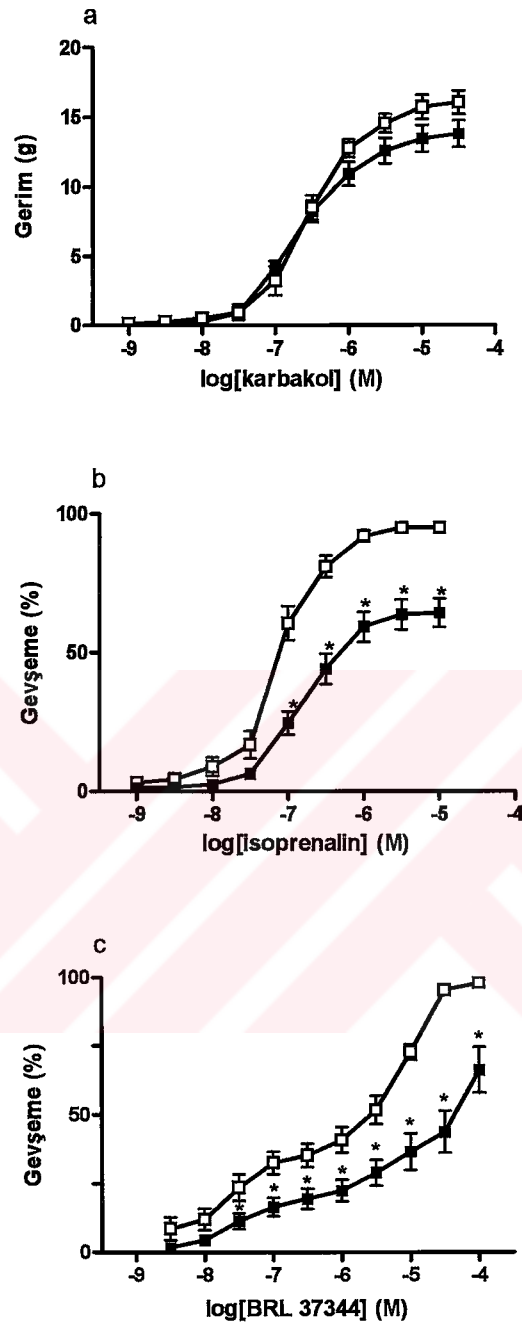
Submaksimal karbakol konsantrasyonları ($1\mu\text{M}$ veya $3\mu\text{M}$) ile aynı düzeyde (kontrol $11,0 \pm 0,5$ $n=11$; diyabetik $10,9 \pm 0,5$ $n=15$, $p>0,05$) ön kasılma sağlanmış mide fundus preparatlarında isoprenalin gevşeme yanıtları kontrollerle karşılaştırıldığında diyabetiklerde anlamlı olarak azalmıştır (maksimum gevşeme %: kontrol $95,9 \pm 1,1$; diyabetik $64,9 \pm 4,8$; $P<0,05$). (Şekil 3.5.b). Buna ek olarak, isoprenalin'in pD_2 değerleri diyabetik grupta ($6,73 \pm 0,07$) kontrol gruba ($7,08 \pm 0,09$) göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Kontrol dokularla karşılaştırıldığında diyabetiklerde BRL 37344 daha az gevşeme yapmıştır (Şekil 3.5.c). Maksimum gevşeme yanıtı ve etki gücü açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel farklılık olduğu görülmüştür (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Kontrol ($n=11$) ve diyabetik ($n=15$) grupta BRL 37344 ile elde edilen gevşeme yanıtının birinci ve ikinci fazları ile tamamı için hesaplanan pD_2 değerleri ve maksimum gevşeme yanıtları.

	1. faz		2. faz		Total	
	E_{maks} (%)	pD_2	E_{maks} (%)	pD_2	E_{maks} (%)	pD_2
Kontrol	$35,3 \pm 4,3$	$7,59 \pm 0,10$	$60,2 \pm 4,2$	$4,99 \pm 0,06$	$95,5 \pm 1,5$	$5,18 \pm 0,12$
Diyabetik	$19,6 \pm 3,7^*$	$7,29 \pm 0,16$	$46,7 \pm 7,4^*$	$4,08 \pm 0,19^*$	$66,3 \pm 8,2^*$	$4,45 \pm 0,29^*$

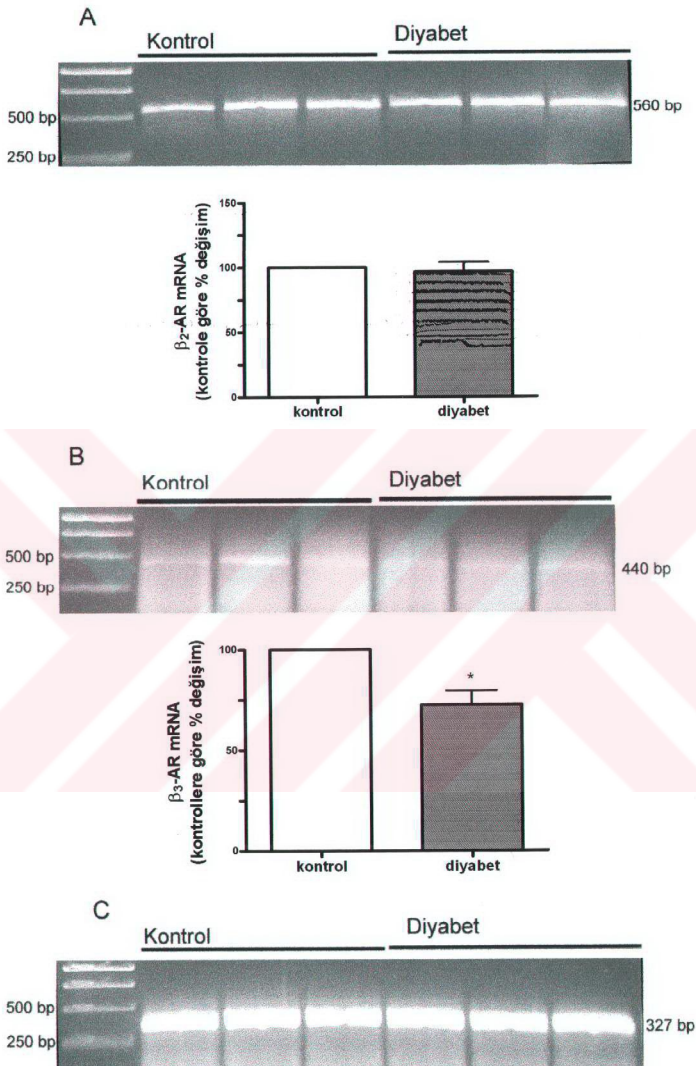
* $P<0,05$ Kontrol gruba göre anlamlı farklılık.



Şekil 3.5. Karyakol (a), isoprenaline (b) ve BRL 37344 (c) konsantrasyon yanıt eğrileri. (□), kontrol (n=11); (■), diyabetik (n=15). *P < 0,05 kontrol gruba göre anlamlı farklılık.

3.7. β -AR mRNA ekspresyonlarının değerlendirilmesi

Kontrol ve diyabetik sıçan mide fundusundaki β_1 -, β_2 -, β_3 -AR ve β -Aktin mRNA ekspresyonları RT-PCR tekniği kullanılarak ölçülmüştür. Çalışmamızda farklı reaksiyon şartları (tutunma derecesi 54-62°C ve $MgCl_2$ konsantrasyonu (25 mmol/l'lik stoktan) 2.2-3l) uygulanmasına karşın, sıçan mide fundusunda β_1 -AR mRNA ekspresyonu oluşmamıştır. Belirli şartlarda β_2 - ve β_3 -AR mRNA sinyallerinin saptanmış olduğu dokularda, β_2 -AR mRNA ekspresyonunun kontrollerle karşılaştırıldığında diyabetiklerde değişmediği (şekil 3.6A), ancak β_3 -AR mRNA düzeylerinin kontrollere göre % 27,47,05 oranında anlamlı olarak azaldığı (şekil 3.6B) saptanmıştır ($P<0,05$). Öte yandan internal kontrol olarak kullanılan β -aktin mRNA düzeylerinde gruplar arasında bir farklılık oluşmamıştır (şekil 3.6C).



Şekil 3.6. Diyabetik ve kontrol grupta PCR reaksiyonu sonucu elde edilen (A) β_2 AR ve (B) β_3 AR ait sinyallerin (C) β -aktin değerlerine oranlanmasıyla elde edilen band fotoğrafları ve bunlara ait bar grafikleri. (* $P < 0,05$ kontrol gruba göre anlamlı farklılık)

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada sıçan mide fundus dokusunda β -AR aracılı gevşemelerde β_3 alt tipinin katkısı ve kronik diyabetin bu yanıtlar üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çeşitli endojen ve ekzojen β agonistlerin deney hayvanlarından izole edilen gastrointestinal düz kaslarda (fundus, duodenum, ileum, kolon gibi) gevşeme yaptığı bilinmektedir (Horinouchi ve Koike, 1999a; 1999b; 2002; Van der Vliet ve ark, 1990). Bu gevşemelere büyük oranda aracılık eden β -AR alt tipinin, klasik β_1 ve β_2 den farklı olarak atipik β adrenoseptörler olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde, sıçan yağ dokusunda da lipolizisi ve termogenezisi uyaran atipik β -AR'lerin bulunduğu anlaşılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda gastrointestinal düz kas gevşemelerine ve lipolizis'e aynı tip atipitik reseptörlerin aracılık ettiği ve bunun β_3 -AR'ler olduğu ileri sürülmüştür (Arch and Kaumann, 1993).

Bir farmakolojik yanıtın β_3 -AR'ler aracılığıyla oluştuğunun kabul edilebilmesi için aşağıdaki dört kriterin karşılanması gerektiği düşünülmektedir (Kaumann ve Molenaar, 1996):

1. Yüksek afiniteli bir β_1 ve β_2 -AR antagonisti varlığında isoprenalin etkisi görülebilmelidir.
2. Selektif β_3 reseptör agonisti ile uyarılabilmelidir.
3. Selektif β_3 reseptör antagonisti ile bloke edilebilmelidir.
4. Konvensiyonel olmayan bir parsiyel agonistle uyarılabilmelidir.

Araştırmamızda öncelikle sıçan mide fundusunda isoprenalin'in (selektif olmayan β -AR agonist) gevşeme yanıtları incelenmiştir. İsoiprenalin için hesaplanan pD_2 değeri (7,5), aynı dokuda daha önce elde edilmiş verilere uymaktadır (6,2-7,7; McLaughlin ve MacDonald, 1991; Cohen ve ark., 1995). İsoiprenalinle oluşan gevşeme, selektif β_1/β_2 reseptör antagonisti nadolol varlığında bloke olmuştur. Bu sonuç, sıçan mide

fundusunda isoprenalin yanıtlarına klasik β_1 ve β_2 -AR'lerin aracılık ettiğini gösterebilir. Ancak, Schild eğiminin anlamlı olarak 1'den küçük olması nadolol ile oluşan antagonizmanın kompetatif nitelikte olmadığını ve isoprenalinin birden fazla reseptör tipi üzerinden etki yapabileceğini düşündürmektedir.

Bu düşüncüyü destekler şekilde, isoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrisinde $1\mu\text{M}$ nadolol varlığındaki kayma oranı (3,14) ve pK_B (6,29) değerleri sırasıyla atria stimülasyonu ve trakea gevşemesine aracılık eden β_1 ve β_2 -AR'lerin propranolol (klasik β adrenoseptör blokörü) ile bloke edilmesi için hesaplanan pK_B değerlerinden (β_1 için 8,2-8,8; β_2 için 8,3-8,6) çok daha düşük bulunmuştur. Buna göre sıçan mide fundusunda sadece klasik β_1 ve β_2 -AR'ler bulunmuş olsaydı, nadolol ile elde ettiğimiz kayma oranlarının yaklaşık 300-1000 düzeyinde olması gerekirdi. Bulgularımız McLaughlin ve MacDonald (1991) da sıçan mide fundusunda propranolol ($1\mu\text{M}$) için hesaplanan pK_B değeri (6,3) ile tamamen örtüşmektedir. Buna ek olarak, propranolol için düşük pK_B değerleri atipik β AR aracılı lipolizis ve gevşeme yanıtlarının sırasıyla sıçan adipositlerinde (6,6; Wilson ve ark, 1984) ve sıçan kolonunda (6,57; McLaughlin ve MacDonald, 1990) inhibe olduğu çalışmalarda da bulunmuştur. Bu sonuçlara göre sıçan mide fundusunda isoprenalin ile elde edilen gevşemelere klasik β -AR'ler (β_1 ve β_2) yanında atipik β -AR'lerin de aracılık ettiğini olası gözükmemektedir.

Çalışmamızda bu olasılığı aydınlatmak için isoprenalin gevşeme yanıtları SR 59230A (selektif β_3 reseptör antagonisti) varlığında incelenmiştir. $1\mu\text{M}$ nadolol ile β_1/β_2 -AR'lerin bloke edildiği şartlarda SR 59230A, isoprenalin konsantrasyon yanıt eğrisini maksimum yanıtta bir değişiklik yapmaksızın sağa kaydırmıştır. Elde ettiğimiz pA_2 değeri (6,62), çeşitli türlerin gastrointestinal düz kaslarında isoprenalin yanıtlarını bloke eden selektif β_3 reseptör antagonistlerinin pA_2 değerlerinden (sıçan fundusu 7,44; McLaughlin ve MacDonald 1991; kobay fundusu 7,35; Horinouchi ve ark 2001; sıçan kolonu 7,12; McLaughlin ve MacDonald 1990; kobay ileumu 7,63; Blue ve ark 1989) daha düşük bulunmuştur. Bununla birlikte, nadolol varlığında SR 59230A ile oluşan Schild grafiği eğiminin ($1,07 \pm 0,25$ $p > 0,05$) istatistiksel olarak 1'den farklı olmaması tek bir kompetatif antagonizmanın olduğunu göstermektedir.

Bu sonuçlar sıçan mide fundusunda β_3 -AR'lerin de bulunduğunu ve bu reseptörlerin isoprenalin ile elde edilen gevşemelere aracılık ettiğini ortaya koymuştur.

Yukarıdaki bulguyu destekler şekilde selektif β_3 -AR agonisti, BRL 37344, sıçan mide fundusunda konsantrasyona bağımlı gevşemeler oluşturmuştur. BRL 37344 ile elde edilen bifazik gevşemeler izole sıçan ileum dokusunda Growcott ve ark (1993) ve Roberts ve ark (1999) tarafından da gözlemlenmiştir. Buna karşın, öteki bazı çalışmalarda (McLaughlin ve MacDonald 1990; 1991 ;Horinouchi ve ark 2001) selektif β_3 -AR agonistleri (BRL 37344, CL 316243) ile monofazik gevşeme yanıtları elde edilmiştir. BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrisinin ilk parçası için hesapladığımız pD_2 değeri (7,13) sıçan ileum dokusunda aynı şekilde bifazik yanıtlar gözlemleyen Roberts ve ark'nın (1999) bulguları (7,31) ile tutarlıdır. Buna ek olarak, BRL 37344 için benzer pD_2 değerleri sıçan distal kolon ($pD_2=7,33$; McLaughlin ve MacDonald, 1990), tavşan jejunum ($pD_2=7,41$; MacDonald ve Watt, 1999), kobay mide fundus ($pD_2=7,38$; Horinouchi ve ark, 2002) dokularında da monofazik yanıtlardan elde edilmiştir. Öte yandan, nadolol (1 μM) BRL 37344 konsantrasyon yanıt eğrisinin iki parçası üzerinde de herhangi bir antagonizma yapmamasına karşın, nadolol varlığında SR 59230A (1 μM) gevşemelerin ilk bölümünü tamamen ortadan kaldırmış ancak ikinci bölümü üzerinde bir inhibisyon oluşturmamıştır. Bu sonuçlar BRL 37344'ün düşük konsantrasyonlarda β_3 -AR'ler üzerinden, yüksek konsantrasyonlarda ise mevcut bulgularla açıklanamayan farklı bir mekanizmayla gevşeme yaptığını göstermektedir.

Buraya kadar elde ettiğimiz sonuçlar klasik β_1 ve β_2 -AR'lerden farklı olarak sıçan mide fundusunda gevşemeye aracılık eden β_3 -AR alt tipinin de bulunduğunu ortaya koymaktadır. Buna ek olarak, β_3 -AR dışında BRL 37344 ile uyarılabilen farklı bir atipik β -AR varlığının da gözardı edilmemesi gerekmektedir.

Yakın zamanda Horinouchi ve Koike (2002)'nin sonuçları kobay midé fundus ve duodenum dokularında β_3 -AR'lerin uyarılması sonucu oluşan gevşemenin mekanizmasında siklik AMP den bağımsız bir yolağın (klasik β_1 ve β_2 -AR'lerden farklı olarak) öncelikli olarak rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. Benzer şekilde,

damar düz kasında yapılan çalışmalarda da G_s proteiniyle kenetli olmasına karşın prostasiklin reseptörlerinin uyarılmasıyla sağlanan gevşemelerin siklik AMP den bağımsız bir mekanizmayla oluştuğu saptanmıştır (Turcato ve Clapp, 1999; Yamaki ve ark, 2001). Söz konusu araştırmalarda beraprost'un BK_{Ca} kanallarını aktive ederek gevşeme yaptığı ve bu yanıtın yüksek KCl ile önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır (Yamaki ve ark 2001). Bu bulgudan hareketle Horinouchi ve ark (2003) kobay fundus ve duodenum preparatlarında β_3 -AR aracılı gevşemelerde BK_{Ca} kanallarının rolünü incelemişlerdir. Araştırmacılar 80mM KCl ile kastırılmış dokularda β_3 -AR agonist (BRL 37344 ve CGP12177A) aracılı gevşemelerin önlemleri ölçüde inhibe olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte aynı araştırmada, damar düz kasından farklı olarak, gastrointestinal düz kaslarda β_3 -AR'lerin uyarılması sonucu oluşan gevşemelerde BK_{Ca} tipi potasyum kanallarının yerine 4-aminopiridinle inhibe olan K_v tipi potasyum kanallarının önemli olduğu gösterilmiştir. Araştırmamızda da 80mM KCl ile kastırılmış dokularda BRL 37344 ile sağlanan gevşemenin büyük ölçüde inhibe olması, sıçan mide fundusunda da β_3 -AR aracılı gevşemelerin alt tipi aydınlatılmamış olmakla birlikte potasyum kanallarının aktivasyonu ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır.

“Diabetes Mellitus” organizmada çeşitli komplikasyonlara yol açan metabolik bir hastalıktır. Diyabetiklerde nöropati, nefropati, retinopati, vaskülopati, kardiyomiyopati yanında diyabetik gastropati de sıklıkla görülmektedir. Gastropati, diyabetik hastaların midelerinde görülen çeşitli patofizyolojik nöromüsküler bozuklukları (fundus gevşemesindeki azalma, antral genişleme, antral motilitede azalma, gastrik ritim bozuklukları antroduodenal uyumun bozulması ve gastroparezis) kapsamaktadır. Bu bozuklukların en son noktası gastroparezis olarak adlandırılan geciken gastrik boşalma ve artmış gastrik hacim ile ilişkili gastrik atonidir. Bunun sonucu ortaya çıkan klinik belirtiler ise bulantı, kusma, karın ağrısı, erken doyumluk hissi, şişkinlik şeklinde sıralanabilir. Diyabetik gastroparezis'in oluşumunda rol oynayan mekanizmalar arasında otonomik nöropati, enterik nöropati ve akut hiperglisemi sayılabilir (Koch, 1999).

Diyabetik gastroparezis’de gözlemlenen dispepsi benzeri semptomların (özafagusda yanma, erken doyumluk hissi, hazımsızlık, şişlik, bulantı, kusma) mide fundus tonüsündeki bozukluklardan kaynaklanabileceği öne sürülmektedir (Koch, 1999; Read, 1999; Samsom ve ark, 1998). Gerçekten kontrol bireylerle karşılaştırıldığında diyabetiklerde balonla oluşturulan gerime karşı normal bir fundus gevşemesi oluşmadığı gözlemlenmiştir (Undeland ve ark, 1997). Buna ek olarak, diyabetiklerde katı yiyeceklerin mide fundusunda normalden uzun süre kalarak antrumun geç dolmasına ve buna bağlı olarak gastroparezis’e yol açtığı saptanmıştır (Urbain ve ark, 1993). Benzer şekilde bazı diyabetiklerde de sıvıların mideden boşalma hızının yavaşlamış olduğu gözlemlenmiştir (Horowitz ve ark, 1986; Urbain ve ark, 1990). Buna karşın, bazı diyabetiklerde alınan sıvının ilk 15 dakika içinde mideden atıldığı ve bunun da fundus gevşemesindeki azalmadan kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Keshvarian ve ark, 1987; Troncon ve ark, 1998).

Diyabetiklerdeki en önemli klinik komplikasyon motor, duyuşal ve otonom sinir sistemini etkileyen periferik nöropatidir (Nathan, 1993). STZ-diyabetik sıçanların gastrointestinal sistemindeki adrenerjik, peptiderjik, purinerjik, kolinerjik ve seratornerjik iletimde fonksiyonel, morfolojik ve nörokimyasal değişiklikler olduğu saptanmıştır (Belai ve ark, 1987; 1988; D’Amato ve Curro, 1990; Lincoln ve ark, 1984; Nowak ve ark, 1986). Buna bağlı olarak nörotransmitter salımında ve düz kas yanıtlarında bozukluklar oluşmaktadır. Bu bağlamda STZ-diyabetik sıçanların mide fundus düz kasında elektrik stimülasyonu ile sağlanan gevşeme yanıtlarındaki azalmanın NANC sinir uçlarından inhibitör nitelikteki NO ve VIP salımındaki azalmadan kaynaklandığı saptanmıştır (Jenkinson ve Reid, 1995; 2000; Gibson ve ark, 2003). Bu nedenle sıçan gastrik fundusunun longitudinal şeritlerinde gösterilen NANC gevşemelerdeki bozukluklar geciken gastrik boşalmada önemli olabilir.

Sempatik sinir sisteminin aktivasyonu gastrointestinal kanalda motilitenin düzenlenmesi, sıvı sekresyonu/absorpsiyonu ve vasküler tonüste rol oynamaktadır (Meintyre ve Thompson, 1992; De Ponti ve ark, 1996). β -AR’lerin aktivasyonu motilitayı azaltmakta ve gastrointestinal düz kaslarda gevşemeye aracılık etmektedir. Bu nedenle otonomik nöropatiye bağlı olarak sempatik sinir uçlarından katekolamin

(noradrenalin) salımındaki bozukluk ve/veya β -AR aracılı gevşeme yanıtlarındaki değişiklik diyabette ortaya çıkan gastrointestinal bozuklukların patogeneze katkıda bulunabilir. Bu nedenle araştırmamızda da diyabetik sıçan mide fundusunda β -AR aracılı gevşeme yanıtları incelenmiştir.

Bulgularımız diyabetik sıçan fundusunda isoprenalinle elde edilen gevşeme yanıtlarının azaldığının gösterildiği önceki araştırmaları (Sakai ve ark, 1991; Kamata ve ark, 1988a) desteklemektedir. Buna ek olarak, sıçan mide fundusunda selektif β_3 -AR agonisti BRL 37344'ün neden olduğu gevşemelerin de diyabette azaldığı ilk kez çalışmamızda gösterilmiştir. Öte yandan, duodenum (Altan ve ark, 1987 ; Yıldızoğlu-Arı ve ark, 1988 ; Öztürk ve ark, 1990 ; Öztürk ve ark, 1992a ; Öztürk ve ark, 1992b ; Öztürk ve ark, 1993 ; Öztürk ve ark, 1994a; Öztürk ve ark, 1994b) , jejunum (Mathison ve Davison, 1988; Öztürk ve ark, 1990), ileum (Öztürk ve ark, 1990) gibi gastrointestinal sistemin farklı segmentlerinde de β -AR aracılı gevşeme yanıtların azaldığı saptanmıştır. Söz konusu çalışmalarda elde edilen farmakodinamik analiz sonuçları (potens ve/veya maksimum yanıt) diyabetik sıçanların gastrointestinal sistem düz kaslarında azalmış olan β -adrenerjik yanıtların, bu dokularda β -AR sayısının azalmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Bu düşüncüyü destekler bir şekilde araştırmamızdaki RT-PCR sonuçları β_3 -AR mRNA ekspresyonunun diyabetiklerde kontrollere göre belirgin şekilde düşük olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde Sakai ve ark. (1991) da sıçan mide fundusunda [125 I]ICYP'ün β -AR'ere bağlanma oranının diyabetiklerde kontrollere göre yaklaşık olarak % 50 azaldığını bulmuşlardır. Ek olarak β -AR yanıtı ve sayısının azaldığı diyabetik sıçan kalp dokusunda da gösterilmiştir (Yu ve McNeill, 1991; Dinçer ve ark, 1998 ; Dinçer ve ark, 2001). Diyabette β -AR sayısındaki azalmanın plazma katekolamin düzeyindeki artışa bağlı olarak oluşan reseptör “down regulation” dan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Sakai ve ark, 1991). Öte yandan çalışmamızda kontrol dokularda β_1 -AR'lere ait mRNA ekspresyonu oluşmamıştır. Benzer şekilde Roberts ve ark. (1999) da sıçan ileum ve kolonunda β_1 -AR mRNA ekspresyonunun olmadığını saptamışlardır. Araştırmamızda fonksiyonel olarak incelenmemiş olmasına karşın, kontrol ve diyabetik sıçanların mide fundusunda β_2 -AR mRNA ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Bu nedenle moleküler

tekniklerle elde ettiğimiz sonuçlar, diyabetik sıçan fundusunda β -AR aracılı gevşemelerdeki azalmanın büyük oranda β_3 -AR sayısındaki bir azalmadan kaynaklanabileceğini göstermektedir. Buna ek olarak, BRL 37344'ün yüksek konsantrasyonlarında selektif β_3 -AR antagonisti SR 59230 A ile bloke olmayan ve bu nedenle mevcut bulgularla açıklanamayan farklı bir gevşeme mekanizmasının da diyabetik sıçanlarda bozulduğu gözlenmiştir.

Daha önce de belirtildiği gibi β_3 -AR'erin uyarılması sonucu gastrointestinal düz kaslarda oluşan gevşemelerde 4-aminopiridinle inhibe olan K_v tipi potasyum kanallarının önemli olduğu gösterilmiştir. Yakın zamanda yapılan bir araştırmada (Liu ve Gutterman, 2001) koroner düz kas hücre membranında yüksek glukoz konsantrasyonu (23 mM) nedeniyle oluşan süperoksit anyon radikallerinin etkisiyle azalan K_v tipi potasyum kanal aktivitesinin SOD ve katalaz gibi antioksidan enzimlerle kısmen düzeldiği saptanmıştır. Bilindiği gibi diyabetin yol açtığı komplikasyonların en önemli nedeni artmış olan oksidatif strestir (Brownlee, 2001). Bu nedenle Liu ve Gutterman'ın (2001) bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde, çalışmamızda diyabetik sıçan fundusunda β_3 -AR aracılı gevşeme yanıtlarının bozulması, oksidatif strese bağlı olarak bu reseptörlerle kenetli K_v tipi potasyum kanallarının aktivitesindeki bir azalmadan da kaynaklanabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak elde ettiğimiz bulgular, literatür bilgisi ile birlikte değerlendirildiğinde sıçan mide fundusunda β_3 -adrenerjik reseptör alt tipinin olduğunu göstermektedir. Buna ek olarak, kronik deneysel diyabetin sıçan mide fundusunda β_3 -adrenoseptör aracılı gevşemeleri azalttığı ilk kez çalışmamızda saptanmıştır. Deneysel diyabetik sıçanların mide fundusunda gözlemlenen bu bozukluk klinikte diabetik gastroparesis'in oluşmasına katkıda bulunabilir.



ÖZET

Streptozotosin-diyabetik Sıçan İzole Gastrik Fundus Preparatında β -adrenerjik Reseptör Yanıtlarındaki Olası Değişiklikler

Bu çalışmada, sıçan mide fundusunda β -adrenoseptör aracılı yanıtlara β_3 alt tipinin katkısını ve bu gevşemeler üzerine kronik diyabetin etkisi araştırılmıştır.

İsoprenalin sıçan mide fundusunda konsantrasyona bağımlı gevşemeler oluşturmuştur. Karbakolle sağlanan ön kasılmalar üzerine isoprenalinin gevşetici etkisi nadolol (β_1/β_2 antagonist) tarafından zayıf olarak ve kompetatif olmayan bir şekilde antagonize edilmiştir. BRL 37344 (β_3 agonist), nadololle (1 μ M) antagonize olmayan bifazik gevşemelere neden olmuştur.

Nadolol varlığında (1 μ M) isoprenalin yanıtları SR 59230A (β_3 antagonist; 0,1; 0,3; 1 μ M) tarafından pA_2 değeri 6,62 ve schild grafiğinin eğimi bire yakın olarak kompetatif bir şekilde antagonize edilmiştir. Aynı şartlar altında, BRL 37344 konsantrasyon-yanıt eğrisinin sadece ilk fazı SR 59230A (1 μ M) ile bloke olmuştur.

Sıçan mide fundusu, yüksek konsantrasyonda KCl (80 mM) ile kastırıldığında BRL 37344 yanıtları büyük oranda inhibe olmuştur. Bu bulgu β_3 -adrenoseptor-aracılı gevşemelerin K^+ kanallarının aktivasyonu ile oluştuğunu göstermektedir.

Kronik diyabetin sıçan mide fundus fonksiyonları üzerine olan etkisini araştırmak için isoprenalin, BRL 37344 ve karbakolün aracılık ettiği gevşeme ve kasılma yanıtları incelenmiştir.

Kontrollerle karşılaştırıldığında diyabetik sıçanların mide fundusunda karbakolün maksimum yanıtı ve duyarlılığında anlamlı bir farklılık oluşmamıştır. Buna karşın, diyabetiklerde, isoprenalin ve BRL 37344'ün gevşeme yanıtları kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalmıştır. Öte yandan isoprenalin ve BRL 37344 konsantrasyon yanıt eğrisinin ikinci fazına ait pD_2 değerleri kontrollere göre diyabetik grupta istatistiksel olarak düşük bulunmuştur.

Sıçan mide fundusunda β_2 ve β_3 -mRNA ekspresyonu saptanmasına karşın β_1 -mRNA ait herhangi bir sinyal elde edilememiştir. Fonksiyonel çalışmalardaki bulguları destekler biçimde, kronik diyabet β_3 -AR mRNA ekspresyonunda anlamlı bir azalmaya neden olmuştur.

Bu sonuçlar sıçan mide fundusunda β_3 -adrenoseptörlerin var olduğunu, kronik diyabetin β_3 -mRNA ekspresyonunun azalmasının bir sonucu olarak β_3 -adrenoseptörlerin aracılık ettiği gevşeme yanıtlarını azalmaya neden olduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: β -adrenerjik reseptörler, Diyabet, Gastrik fundus, Sıçan, Streptozotosin

SUMMARY

The Possible Changes on β -adrenergic Receptor Responses in Streptozotocin-Diabetic Rat Isolated Gastric Fundus

In this study, we investigated the contribution of β_3 -subtype on β -adrenoceptors mediating relaxations in gastric fundus from rats and effects of chronic diabetes on this relaxations.

Isoprenaline caused concentration-dependent relaxations in rat gastric fundus. Relaxant responses to isoprenaline on carbachol-induced precontraction were antagonized by nadolol (β_1 and β_2 antagonist), but this antagonism was weak and non-competitive in nature. BRL37344 (β_3 agonist) caused biphasic relaxation which was not antagonized by nadolol (1 μ M)

Responses to isoprenaline in the presence of nadolol (1 μ M) was antagonized in a competitive manner by SR 59230A (β_3 antagonist; 0,1; 0,3; 1 μ M), with the slope of a Schild plot close to the unity and a pA_2 value of 6,63. Under the same conditions, only first component of BRL37344 concentration-response curve was completely antagonized by SR 59230A (1 μ M)

When rat gastric fundus were precontracted with high KCl (80mM), the relaxation to BRL37344 was profoundly diminished. This finding reveals that β_3 -adrenoceptor-induced relaxations are mediated by activation of K^+ channels.

To investigate the effects of chronic diabetes on functions of rat gastric fundus, we examined relaxations and contractile response to isoprenaline, BRL37344 and carbachol, respectively.

Neither maximal contractile response nor sensitivity of fundus to carbachol were not significantly altered in diabetic rats compared with controls. In contrast, relaxation responses to isoprenaline and BRL37344 in fundus isolated from diabetic rats were significantly less than in that from controls. In addition, pD_2 values of isoprenaline and BRL37344 for second but not first component of concentration-response curve have been found to be statistically decreased in diabetics as compared with controls.

We detected β_2 -, β_3 - but not β_1 -AR mRNA in rat gastric fundus. In agreement with findings of functional study, chronic diabetes significantly caused a decrease in β_3 -AR mRNA expression.

These results show that β_3 -ARs are present in the rat gastric fundus, and chronic diabetes decreases β_3 -ARs mediating relaxations as a result of lowering in β_3 -AR mRNA expression.

Key Words: β -adrenergic receptors, Diabetes, Gastric fundus, Rat, Streptozotocin.

KAYNAKLAR

- ABELL, T.L., CAMILLERI, M., HENCH, V.S., MALAGELADA, J.R. (1991). Gastric electromechanical function and gastric emptying in diabetic gastroparesis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* **3**:163-167
- ADAMI, M., CORUZZI, G., SOTIROV, E., BERTINI, S., SOLDANI, G. (2003). Pharmacological evidence for β_3 adrenoceptors in the control of rat gastric acid secretion. *Dig Dis Sci.* **48**:334-339
- AHLQUIST, R.P. (1980). Historical perspective. Classification of adrenoreceptors. *J Auton Pharmacol.* **1**:101-106
- AIHARA, K., SAKAI, Y. (1989). Hyperreactivity of contractile response in the gastric fundus smooth muscle from rats with diabetes induced by streptozotocin. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* **302**:220-231
- ALBERTI, K.G.M.M., ZIMMET, P.Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet. Med.* **15**:539-553
- ALTAN, V.M., YILDIZOGLU-ARI, N., OZTURK, Y. (1987). Decreased gastro-intestinal responses to certain agonists in streptozotocin- and alloxan-diabetic rats in vitro. *Pharmacology (Basel).* **34**:143-148
- AMOS, A.F., MCCARTY, D.J., ZIMMET, P. (1997). The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabetes Med.* **14**: Suppl. 5:S1-85
- ANTHONY, A., SCHEPELMANN, S., GUILLAUME, J.L., STROSBERG, A.D., DHILLON, A.P., POUNDER, R.E., WAKEFIELD, A.J. (1998). Localization of the β_3 -adrenocenoceptor in the human gastrointestinal tract: an immunohistochemical study. *Aliment Pharmacol Ther.* **12**:519-525
- ANURAS, S., SHIRAZI, S.S. (1984). Colonic pseudo-obstruction. *Am J Gastroenterol* **79**:525-532
- ARCH, J.R.S. (1989). The brown adipocyte beta-adrenoceptor. *Proc Nut Soc.* **48**:215-223
- ARCH, J.R.S., AINSWORTH, A.T., CAWTHORNE, M.A., PIERCY, V., SENNITT, M.V., THODY, V.E., WILSON, C., WILSON, S. (1984). Atypical beta-adrenoceptor on brown adipocytes as target for anti-obesity drugs. *Nature.* **309**:163-165

- ARCH, J.R.S., KAUMANN, A. (1993). β_3 and atypical β -Adrenoceptors. *Med Res Rev.* 13:663-729
- ARIENS, E.J. (1981). The classification of beta adrenoceptors-2. *Trends Pharmacol Sci.* 2:170-173
- ARNOLD, A., MCAULIFF, J.P. (1969). Correlation of calorigenesis with other beta-1 receptor mediated responses to catecholamines. *Arch Int Pharmacodyn.* 179:381-387
- ARUNKLAKSHANA, O., SCHILD, H.O. (1959). Some quantitative uses of drug antagonists. *Br J Pharmacol Chemother.* 14:48-58
- ATKINSON, M., HOSKING, D.J. (1983). Gastrointestinal complications of diabetes mellitus. *Clin Gastroenterol.* 12:633-650
- BATTLE, W.M., COHEN, J.D., SNAPE, W.J. (1983). Disorders of colonic motility in patients with diabetes mellitus. *Yale J Biol Med.* 56:277-283
- BATTLE, W.M., SNAPE, W.J., ALAVI, A., COHEN, S., BRAUNSTEIN, S. (1980). Colonic dysfunction in diabetes mellitus. *Gastroenterology.* 79:1217-1221
- BEA, M.L., GHALEH, B., GIUDICELLI, J.F., BERDEAUX, A. (1994). Lack of importance of NO in β -adrenoceptor-mediated relaxation of large epicardial canine coronary arteries. *Br J Pharmacol.* 111:981-982 ;
- BEGONDA, R., MOURA, D., GUIMARAES, S. (1995). Vascular β -adrenoceptor-mediated relaxation and the tone of the tissue in canine arteries. *J Pharm Pharmacol.* 47:510-513
- BELAI, A., LEFEBVRE, R.A., BURNSTOCK, G. (1991). Motor activity and neurotransmitter release in the gastric fundus of streptozotocin-diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 194:225-234
- BELAI, A., LINCOLN, J., BURNSTOCK, G. (1987). Lack of release of vasoactive intestinal polypeptide and calcitonin gene-related peptide during electrical stimulation of enteric nerves in streptozotocin-diabetic rats. *Gastroenterology.* 93:1034-1040
- BELAI, A., LINCOLN, J., MILNER, P., BURNSTOCK, G. (1988). Progressive changes in adrenergic, serotonergic, and peptidergic nerves in proximal colon of streptozotocin-diabetic rats. *Gastroenterology.* 95:1234-1241
- BELAI, A., LINCOLN, J., MILNER, P., BURNSTOCK, G. (1991). Differential effect of streptozotocin-induced diabetes on the innervation of the ileum and distal colon. *Gastroenterology* 100:1024-1032
- BELAI, A., LINCOLN, J., MILNER, P., CROWE, R., LOESCH, A., BURNSTOCK, G. (1985). Enteric nerves in diabetic rat: increase in VIP but not substance P. *Gastroenterology.* 89:967-976

- BENSAID, M., KAGHAD, M., RODRIGUEZ, M., LE FUR, G., CAPUT, D. (1993). The rat β_3 -adrenergic receptor gene contains an intron. *FEBS*. **318**:223-226
- BERLAN, M., GALITZKY, J., BOUSQUET-MELOU, A., LAFONTAN, M., MONTASTRUC, J.L. (1994). β_3 -adrenoceptor –mediated increase in cutaneous blood flow in the dog. *J Pharmacol Exp Ther*. **268**:1444-1451
- BIANCHETTI, A., MANARA, L. (1990). In vitro inhibition of intestinal motility by phenylethanolaminotetralines: evidence of atypical β -adrenoceptors in rat colon. *Br J Pharmacol*. **100**:831-839
- BLUE, D.R., BOND, R.A., ADHAM, N., DELMONDO, R., MICHEL, A.D., EGLEN, R.M., WHITING, R.L., CLARKE, D.E. (1990). Antagonist characterization of atypical beta adrenoceptors in guinea pig ileum: blockade by alprenolol and dihydroalprenolol. *J Pharmacol Exp Ther*. **252**:1034-1042
- BLUE, D.R., BOND, R.A., ADHAM, N., DELMONDO, R., MICHEL, A.D., EGLEN, R.M., WHITING, R.L., CLARKE, D.E. (1989). Interaction of dihydroalprenolol and cyanopindolol with atypical β -adrenoceptors in guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol*. **96**:246P
- BRAWLEY, L., SHAW, A.M., MACDONALD, A. (2000). Role of endothelium/nitric oxide in atypical β -adrenoceptor-mediated relaxation in rat isolated aorta. *Eur J Pharmacol*. **398**:285-296
- BRISTOW, M.R., GINSBURG, R., UMANS, V. et al. (1986). β_1 - and β_2 -adrenoceptor subpopulations in nonfailing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective β_1 -receptor regulation in heart failure. *Circ Res*. **59**:297-309
- BRODDE, O.E. (1991). β_1 - and β_2 -adrenoceptors in the human heart: Properties, function, and alterations in the chronic heart failure. *Pharmacol Rev*. **43**:203-242
- BRODDE, O.E., MICHEL, M.C. (1999) Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. *Pharmacol Rev*. **51**:651-690
- BROWLEE, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. **414**:813-820
- BUCKNER, C.K., CHRISTOPHERSON, R.C. (1974). Adrenergic receptors of rat esophageal smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther*. **189**:467-475
- BUYSSCHAERT, M., MOULART, M., URBAIN, J.L., PAUWELS, S., DE ROY, L., KETELSLEGERS, J.M., LAMBERT, A.E. (1987). Impaired gastric emptying in diabetic patients with cardiac autonomic neuropathy. *Diabetes Care* **10**:448-452

- CAMILLERI, M., MALAGELADA, J.R. (1984). Abnormal intestinal motility in diabetics with the gastroparesis syndrome. *Eur J Clin Invest.* **14**:420-427
- CAMILLERI, M., MALAGELADA, J.R., BROWN, M.L., BECKER, G., ZINSMEISTER, A.R. (1985). Relation between antral motility and gastric emptying of solids and liquids in humans. *Am J Physiol.* **249**:G580-G585
- CAMPBELL, I.W., HEADING, R.C., TOTHILL, P., BUIST, T.A., EWING, D.J., CLARKE, B.F. (1977). Gastric emptying in diabetic autonomic neuropathy. *Gut* **18**:462-467
- CANFIELD, P., ABDUL-GHAFFAR, T. (1992). Stimulation of bicarbonate secretion by atypical beta-receptor agonists in rat cecum in vitro. *Eur J Pharmacol.* **216**:293-297
- CANFIELD, P., PARASKEVA, P. (1992). Beta-adrenoceptor agonist stimulation of acid secretion by rat stomach in vitro is mediated by 'atypical' beta-adrenoceptors. *Br J Pharmacol.* **106**:583-586
- CHAMBERLAIN, P.D., JENNINGS, K.H., PAUL, F., CORDELL, J., BERRY, A., HOLMES, S.D., PARK, J., CHAMBERS, J., SENNITT, M.V., STOCK, M.J., CAWTHORNE, M.A., YOUNG, P.W., MURPHY, G.J. (1999). The tissue distribution of the human β_3 -adrenoceptor studied using a monoclonal antibody: direct evidence of the β_3 -adrenoceptor in human adipose tissue, atrium and skeletal muscle. *Int J Obes Relat Metab Disord.* **10**:1057-1065
- CHANG, E.B., BERGENSTAL, R.M., FIELD, M. (1985). Diarrhea in streptozotocin-treated rats: loss of adrenergic regulation of intestinal fluid and electrolyte transport. *J Clin Invest.* **75**:1666-1670
- CHANG, E.B., FIELD, M., MILLER, R.J. (1983). Alpha-2-adrenergic receptor regulation of ion transport in rabbit ileum. *Am J Physiol.* **244**:G76-G82
- CHESTA, J., DEBNAM, E.S., SRAI, S.K., EPSTEIN, D. (1990). Delayed stomach to caecum transit time in diabetic rat: possible role of hyperglucagonaemia. *Gut.* **31**:660-662
- CHRISTENSEN, J. (1981). Motility of the colon. In: *Physiology of Gastrointestinal Tract.* Ed.: L.R. JOHNSON. New York: Raven Press. p.: 445-471
- CHRUSCINSKI, A., BREDE, M.E., MEINEL, L., LOHSE, M.J., KOBILKA, B.K., HEIN, L. (2001). Differential distribution of β -adrenoceptor receptor subtypes in blood vessels of knockout mice lacking $\beta_{(1)}$ - or $\beta_{(2)}$ -adrenergic receptors. *Mol Pharmacol.* **60**:955-962
- CLARK, B.J., BERTHOLET, A. (1983). Effects of pindolol on vascular smooth muscle. *Gen Pharmacol.* **14**:117-119

- COHEN, M.L., GRANNEMAN, J.G., CHAUDRY, A., SCHENCK, K.W., CUSHING, D.J., PALKOWITZ, A.D. (1995). Is the "Atypical" β -Receptor in the rat stomach fundus the rat β_3 receptor? *J Phar Exp Ther.* 272:446-451
- CROCI, T., CECCHI, R., TARANTINO, A., AUREGGI, G., BIANCHETTI, A., BOIGEGRAIN, R., MANARA, L. (1988). Inhibition of rat colon motility by stimulation of atypical beta-adrenoceptors with new gut-specific agents. *Pharmacol Res Commun.* 20:147-151
- CUCCHIARA, S., MINELLA, R., RIEZZO, G., VALLONE, G., VALLONE, P., CASTELLONE, F., AURICCHIO, S. (1992). Reversal of gastric electrical dysrhythmias by cisapride in children with functional dyspepsia. Report of three cases. *Dig Dis Sci.* 37:1136-1140
- CUZICK, J., BABIKER, A.G. (1989). Pancreatic cancer, alcohol, diabetes mellitus, and gallbladder disease. *Int J Cancer.* 43:415-421
- DALY, M.J. (1981). The classification of beta adrenoceptors-1. *Trends Pharmacol Sci.* 2:168-169
- D'AMATO, M., CURRO, D. (1990). Non-adrenergic non-cholinergic innervation of the rat gastric fundus in streptozotocin-diabetic rats. *Acta Physiol Hung.* 75:77-78 (Suppl.)
- DAVIS, S.N., GRANNER, D.K. (2001). Insulin, Oral Hypoglycemic Agents and the Pharmacology of the Endocrine Pancreas. In: *Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10th Edition. Ed.: J.G. Hardman, L.E. Limbird, p.: 1679-1715
- DE PONTI, F., GIARONI, C., COSENTINO, M., LECCHINI, S., FRIGO, G. (1996). Adrenergic mechanisms in the control of gastrointestinal motility: From basic science to clinical applications. *Pharmacol Ther.* 69:59-78
- DE VENTE, J., BAST, A., VAN BREE, L., ZAAGSMA, J. (1980). Beta-Adrenoceptor studies. 6. Further investigations on the hybrid nature of the rat adipocyte beta-adrenoceptor. *Eur J Pharmacol.* 63:73-83
- DELPY, E., COSTE, H., GOUVILLE, A.C. (1996). Effects of cyclic GMP elevation isoprenaline-induced increase in cyclic AMP and relaxation in rat aortic smooth muscle/role of phosphodiesterase 3. *Br J Pharmacol.* 119:471-478
- DI GIULIO, A.M., TENCONI, B., LA CROIX, R., MANTEGAZZA, P., CATTABENI, F., GORIO, A. (1989). Denervation and hyperinnervation in the nervous system of diabetic animals: I. The autonomic neuronal dystrophy of the gut. *J Neurosci Res* 24:355-361

- DINCER, U.D., BIDASEE, K.R., GUNER, S., TAY, A., OZCELIKAY, A.T., ALTAN, V.M. (2001). The effect of diabetes on expression of β_1 -, β_2 -, and β_3 -adrenoceptors in rat hearts. *Diabetes*. **50**:455-461
- DINCER, U.D., ONAY, A., ARI, N., OZCELIKAY, A.T., ALTAN, V.M. (1998). The effects of diabetes on β -adrenoceptor mediated responsiveness of human and rat atria. *Diabetes Research and Clinical Practice*. **40**:113-122
- DOOLEY, C.P., NEWIHI, H.M., ZEIDLER, A., VALENZUELA, J.E. (1988). Abnormalities of the migrating motor complex in diabetics with autonomic neuropathy and diarrhea. *Scand J Gastroenterol*. **23**:217-223
- DREWES, V.M. (1971). Mechanical and electrical activity in the duodenum of diabetics with and without diarrhea: pressures, differential pressures and action potential. *Am J Dig Dis*. **16**:628-634
- DUMAS, M., DUMAS, J.P., BARDOU, M., ROCHETTE, L., ADVENIER, C., GIUDICELLI, J.F. (1998). Influence of β -adrenoceptor agonists on the pulmonary circulation. Effects of a β_3 -adrenoceptors antagonist, SR 59230A. *Eur J Pharmacol*. **348**:223-228
- EDVINSSON, L., OWMAN, C. (1974). Pharmacological characterization of adrenergic α and β -receptors mediating the vasomotor responses of cerebral arteries in vitro. *Circ Res*. **35**:835-849
- EMORINE, L.J., MARULLO, S., BRIEND-SUTREN, M.M., PATEY, G., TATE, K., DELAVIER-KLUTCHKO, C., STROSBERG, A.D. (1989). Molecular characterization of the human beta 3-adrenergic receptor. *Science*. **245**:1118-1121
- ENGEL, G., HOYER, D., BERTHOLD, R., WAGNER, H. (1981). (+/-)[¹²⁵Iodo] cyanopindolol, a new ligand for beta-adrenoceptors: identification and quantitation of subclasses of beta-adrenoceptors in guinea pig. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*. **317**:277-285
- EVANS, B.A., PAPAIOANNOU, M., BONAZZI, V.R., SUMMERS, R.J. (1996). Expression of β_3 -adrenoceptor mRNA in rat tissues. *Br J Pharmacol*. **117**:210-216
- EXPERT COMMITTEE. (1997). Report of the Expert committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. **20**:1183-1195
- FELDMAN, M., SCHILLER, L.R. (1983). Disorders of gastrointestinal motility associated with diabetes mellitus. *Ann Intern Med*. **98**:378-384
- FLATT, P.R., BAILEY, C.J., CONLON, J.M. (1991). Somatostatin, gastrin-releasing peptide and gastrin in stomach of rats with streptozotocin-induced diabetes and insulinoma. *J Nutr*. **121**:1414-1417

- FORD, A.P.D.W., TANEJA, D.T., CLARKE, D.E. (1992). Atypical β -adrenoceptor-mediated relaxation and cyclic AMP formation in tunica muscularis mucosae (TMM) of the rat oesophagus. *Br J Pharmacol.* **105**:235P
- FORREST, A., MOLLEMAN, A., PARSONS, M. (2005). The responses to manipulation of extracellular and intracellular calcium are altered in streptozotocin-diabetic rat colon and ileum. *Eur J Pharmacol.* **509**:77-83
- FOX, S., BEHAR, J. (1980). Pathogenesis of diabetic gastroparesis: A pharmacologic study. *Gastroenterology* **78**:757-763 ;
- FRASER, R.J., HOROWITZ, M., MADDUX, A.F., HARDING, P.E., CHATTERTON, B.E., DENT, J. (1990). Hyperglycaemia slows gastric emptying in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* **33**:675-680
- FREGLY, M.J. (1983). An attempt to characterize the beta-adrenoceptor subtype mediating tail skin temperature response of rats to acute administration of isoproterenol. *Pharmacology.* **27**:150-159
- FRILLE, T., CARON, M.G., LEFKOWITZ, R.J. (1989). Properties of the beta 1- and beta 2-adrenergic receptor subtypes revealed by molecular cloning. *Clin Chem.* **35**:721-725
- FUNAKOSHI, A., GLOWNIAK, J., OWYANG, C., VINIK, A.I. (1982). Evidence for cholinergic and vagal noncholinergic mechanisms modulating plasma motilin-like immunoreactivity. *J Clin Endocrinol Metab.* **54**:1129-1134
- GAUTHIER, C., LEBLAIS, V., KOBZIK, L., TROCHU, J.N., KHANDOUDI, N., BRIL, A., BALLIGAND, J.L., LE MAREC, H. (1998). The negative inotropic effect of β_3 -adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle. *J Clin Invest.* **102**:1377-1384
- GAUTHIER, C., TAVERNIER, G., CHARPENTIER, F., LANGIN, D., LE MAREC, H. (1996). Functional β_3 -adrenoceptor in the human heart. *J Clin Invest.* **98**:556-562
- GAUTHIER, C., TAVERNIER, G., TROCHU, J.N., LEBLAIS, V., LAURENT, K., LANGIN, D., ESCANDE, D., LE MAREC, H. (1999). Interspecies differences in the cardiac negative inotropic effects of β_3 -adrenoceptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther.* **290**:687-693
- GENTRY, P., MILLER, P. (1989). Nutritional considerations in a patient with gastroparesis. *Diabetes Educ* **15**:374-376
- GIBSON., T.M., COTTER, M.A., CAMERON, N.E. (2003). Effects of α -lipoic acid on impaired gastric fundus innervation in diabetic rats. *Free Radical Biology & Medicine.* **35**:160-168

- GOLDSTEIN, F., WIRTS, C.W., KOWLESSAR, O.D. (1970). Diabetic diarrhea and steatorrhea: microbiologic and clinical observations. *Ann Intern Med.* **72**:215-218
- GORIO, A., DI GIULIO, A.M., DONADONI, L., TENCONI, B., GERMANI, E., BERTELLI, A., MANTEGAZZA, P. (1992). Early neurochemical changes in the autonomic neuropathy of gut in experimental diabetes. *Int. J. Clin. Pharmacol. Rev.* **12**:217-224
- GOYAL, R.K., HIRANO, I. (1996). The enteric nervous system. *N Engl J Med.* **334**:1106-1115
- GRAY, D.W., MARSHALL, I. (1992). Novel signal transduction pathway mediating endothelium-dependent β -adrenoceptor vasorelaxation in rat thoracic aorta. *Br J Pharmacol.* **107**:684-690
- GROWCOTT, J.W., HOLLOWAY, B., GREEN, M., WILSON, C. (1993). Zeneca ZD 7114 acts as an antagonist at β_3 -adrenoceptors in rat isolated ileum. *Br J Pharmacol.* **110**:1375-1380
- GROWCOTT, J.W., HOLLOWAY, B., WILSON, C., MAINWARING, S., GREEN, M. (1992). The novel brown adipocyte stimulant, ICI D7114, reveals possible differences in atypical β -adrenoceptor reserve. *Br J Pharmacol.* **105**:232P
- GUIMARAES, S., MOURA, D. (1999). Advances in vascular neuroeffector mechanisms. *Trends Pharmacol Sci.* **20**:90-93
- HARMS, H.H., ZAAGSMA, J., VAN DER WAL, B. (1974) Beta-adrenoceptor studies. III. On the beta-adrenoceptors in rat adipose tissue. *Eur J Pharmacol.* **25**:87-91
- HAUSKEN, T., BERSTAD, A. (1992). Wide gastric antrum in patients with non-ulcer dyspepsia. Effect of cisapride. *Scand J Gastroenterol.* **27**:427-432
- HOLLENGA, C.H., BROUWER, F., ZAAGSMA, J. (1991). Relationship between lipolysis and cyclic AMP generation mediated by atypical beta-adrenoceptors in rat adipocytes. *Br J Pharmacol.* **102**:577-580
- HOLLIS, J.B., CASTELL, D.O., BRADDOM, R.L. (1977). Esophageal function in diabetes mellitus and its relation to peripheral neuropathy. *Gastroenterology.* **73**:1098-1102
- HORINOUCI, T., KOIKE, K. (1999a). Pharmacological analysis of atypical β -adrenoceptors in the guinea-pig gastric fundus using the β_3 -adrenoceptor antagonist bupranolol. *Pharmacology.* **59**:290-297
- HORINOUCI, T., KOIKE, K. (1999b). Characterization of atypical β -adrenoceptors in the guinea-pig duodenum. *Eur J Pharmacol.* **376**:61-66
- HORINOUCI, T., KOIKE, K. (2002). Cyclic AMP-independent relaxation mediated by β_3 -adrenoceptors on guinea pig gastrointestinal. *Eur J Pharmacol.* **442**:137-146

- HORINOUCHI, T., TANAKA, Y., KOIKE, K. (2003). Evidence for the primary role for 4-aminopyridine-sensitive K(v) channels in beta(3)-adrenoceptor-mediated, cyclic AMP-independent relaxations of guinea-pig gastrointestinal smooth muscles. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* **367**:193-203
- HOROWITZ, M., COLLINS, P.J., SHEARMAN, D.J.C. (1985). Disorders of gastric emptying in humans and use of radionuclide techniques. *Arch Intern Med* **145**:1467-1472
- HOROWITZ, M., EDELBROEK, M., FRASER, R., MADDOX, A., WISHART, J. (1991) Disordered gastric motor function in diabetes mellitus. Recent insights into prevalence, pathophysiology, clinical relevance, and treatment. *Scand J Gastroenterol* **26**:673-684
- HOROWITZ, M., HARDING, P.E., MADDOX, A., MADDERN, G.J., COLLINS, P.J., CHATTERTON, B.E., WISHART, J., SHEARMAN, D.J.C. (1986). Gastric and oesophageal emptying in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol.* **1**:97-113
- HOROWITZ, M., HARDING, P.E., MADDOX, A.F., WISHART, J.M., AKKERMANS, L.M.A., CHATTERTON, B.E., SHEARMAN, D.J.C. (1989) Gastric and oesophageal emptying in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* **32**:151-159
- JENKINSON, K.M., REID, J.J. (1995). Effect of diabetes on relaxations to non-adrenergic, non-cholinergic nerve stimulation in longitudinal muscle of the rat gastric fundus. *Br J Pharmacol.* **116**:1551-1556
- JENKINSON, K.M., REID, J.J. (2000). Altered non-adrenergic non-cholinergic neurotransmission in gastric fundus from streptozotocin-diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* **401**:251-258
- JOLLY, S.R., LECH, J.J., MENAHAN, L.A. (1978). Comparison of isoproterenol, salbutamol and tazolol as lipolytic agents with isolated rodent adipocytes. *Biochem Pharmacol.* **27**:1885-1887
- KAIBUCHI, K., SANO, K., HOSHIJIMA, M., TAKAI, Y., NISHIZUKA, Y. (1982). Phosphatidylinositol turnover in platelet activation: calcium mobilization and protein phosphorylation. *Cell Calcium.* **3**:323-335
- KAIBUCHI, K., TAKAI, Y., NISHIZUKA, Y. (1981). Cooperative roles of various membrane phospholipids in the activation of calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase. *J Biol Chem.* **256**:7146-7149

- KAMATA, K., MIYATA, N., KASUYA, Y. (1989). Involvement of endothelial cells in relaxation and contraction responses of the aorta to isoproterenol in naive and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pharmacol Exp Ther.* **249**:890-894
- KAMATA, K., SAKAMOTO, A., KASUYA, Y. (1988a). Changes in sensitivity of the rat stomach fundus to various drugs in streptozotocin-induced diabetic rats. *Jpn J Pharmacol.* **47**:99-102
- KAMATA, K., SAKAMOTO, A., KASUYA, Y. (1988b). Changes in the sensitivity of rat stomach fundus to various drugs in streptozotocin-induced diabetic rats. *Jpn J Pharmacol.* **47**:99-102
- KARAKIDA, T., ITO, S., HOMMA, S. (1989). In vitro motor activity of intestinal segments of streptozotocin diabetic rats. *J Auton Nerv Syst.* **26**:43-50
- KASSANDER, P. (1958). Asymptomatic gastric retention in diabetics (gastroparesis diabeticorum). *Ann Intern Med.* **48**:797-812
- KAUMANN, A.J. (1989). Is there a third heart beta-adrenoceptor? *Trends Pharmacol Sci.* **10**:316-320
- KAUMANN, A.J., LOBNIG, B.M. (1986). Mode of action of (-)-pindolol on feline and human myocardium. *Br J Pharmacol.* **89**:207-218
- KAUMANN, A.J., MOLENAAR, P. (1996). Differences between the third cardiac β -adrenoceptor and the colonic β_3 -adrenoceptor in the rat. *Br J Pharmacol.* **118**:2085-98
- KENNEDY, B.L., ELLIS, S. (1969). Interactions of sympathomimetic amines and adrenergic blocking agents at receptor sites mediating lipolysis in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med.* **130**:1223-1229
- KESHAVERZIAN, A., IBER, F.L., NASRALLAH, S. (1987a). Radionuclide esophageal emptying and manometric studies in diabetes mellitus. *Am J Gastroenterol.* **82**:625-631
- KESHAVERZIAN, A., IBER, F.L. (1986). Intestinal transit in insulin requiring diabetics. *Am J Gastroenterol.* **81**:257-260
- KESHVARIAN, A., IBER, F.L., VAETH, J. (1987b). Gastric emptying in patients with insulin requiring diabetes mellitus. *Am J Gastroenterol.* **82**:29-35
- KIRKHAM, D., KELLY, J. (1992). Direct in vitro comparison of the rat atypical β -adrenoceptor mediating white adipocyte lipolysis and colonic relaxation. *Br J Pharmacol.* **105**:231P
- KITAMURA, T., ONISHI, K., DOHI, K., OKINAKA, T., ISAKA, N., NAKANO, T. (2000). The negative inotropic effect of β_3 -adrenoceptor stimulation in the beating guinea pig heart. *J Cardiovasc Pharmacol.* **35**:786-790

- KOCH, K.L. (1993). Stomach. In: *Atlas of Gastrointestinal Motility in Health and Disease*. Ed.: M.M. Schuster. Baltimore, Williams and Wilkins, p.:158-176
- KOCH, K.L. (1999). Diabetic gastropathy: gastric neuromuscular dysfunction in diabetes mellitus: a review of symptoms, pathophysiology, and treatment. *Dig Dis Sci*. **44**:1061-1075
- KOCH, K.L., STERN, R.M. (1993). Electrogastrography. In: *An Illustrated Guide to Gastrointestinal Motility*, 2nd ed. Ed.: D. Kumar, D. Wingate. London, Churchill Livingstone, p.: 290-307
- KOCH, K.L., STERN, R.M., STEWART, W.R., VASEY, M.W. (1989). Gastric emptying and gastric myoelectrical activity in patients with diabetic gastroparesis: Effect of long-term domperidone treatment. *Am J Gastroenterol*. **84**:1069-1075
- KONISHI, M., SU, C. (1983). Role of endothelium in dilator responses of spontaneously hypertensive rat arteries. *Hypertension*. **5**:881-886
- LANDS, A.M., ARNOLD, A., MCAULIFF, J.P., LUDUENA, F.P., BROWN, T.G. (1967a). Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature*. **214**:597-598
- LANDS, A.M., LUDUENA, F.P., BUZZO, H.J. (1967b). Differentiation of receptors responsive to isoproterenol. *Life Sci*. **6**:2241-2249
- LANGIN, D., PORTILLO, M.P., SAULNIER-BLACHE, J.S., LAFONTAN, M. (1991). Coexistence of three beta-adrenoceptor subtypes in white fat cells of various mammalian species. *Eur J Pharmacol*. **199**:291-301
- LEAN, M.E.J., JAMES, W.P.T. (1986). Brown Adipose Tissue. In: *Brown Adipose Tissue in Man*. Ed.: P. Trayhurn, D.G. Nicholls. Edward Arnold, London, p.: 339-365
- LEFEBVRE, R.A., VERPLANKEN, P.A., BOGAERT, M.G. (1984). Pharmacological characterization of the postjunctional beta-adrenoceptors in the rat gastric fundus. *Eur J Pharmacol*. **106**:1-9
- LIN, H.C., HASLER, W.L. (1995). Disorders of gastric emptying. In: *Textbook of Gastroenterology*, 2nd ed. Ed.: T. Yamada. Philadelphia: JB Lippincott, p.:1318-1346 ;
- LINCOLN, J., BOKOR, J.T., CROWE, R., GRIFFITH, S.G., HAVEN, A.J., BURNSTOCK, G. (1984). Myenteric plexus in streptozotocin-treated rats: neurochemical and histochemical evidence for diabetic neuropathy in the gut. *Gastroenterology*. **86**:654-661
- LIU, H.S., KARAKIDA, T., HOMMA, S. (1988). Acetylcholine and substance P responsiveness of intestinal smooth muscles in streptozotocin diabetic rats. *Jpn J Physiol*. **38**:787-797

- LIU, Y., GUTTERMAN, D.D. (2002). The coronary circulation in diabetes: influence of reactive oxygen species on K⁺ channel-mediated vasodilation. *Vascul Pharmacol.* **38**:43-49
- LOO, F.D., PALMER, D.W., SOERGER, K.H., KALBFLEISCH, J.H., WOOD, C.M. (1984). Gastric emptying in patients with diabetes mellitus. *Gastroenterology* **86**:485-494
- LUCAS, P.D., SARDAR, A.M. (1991). Effects of diabetes on cholinergic transmission in two rat gut preparations. *Gastroenterology* **100**:123-128
- MACDONALD, A., FORBES, I.J., GALLACHER, D., HEEPS, G., MCLAUGHLIN, D.P. (1994). Adrenoceptors mediating relaxation to catecholamines in rat isolated jejunum. *Br J Pharmacol.* **112**:576-578
- MACDONALD, A., MCLEAN, M., MACAULAY, L., SHAW, A.M. (1999). Effects of propranolol and L-NAME on β -adrenoceptor-mediated relaxation in rat carotid artery. *J Auton Pharmacol.* **19**:145-149
- MACDONALD, A., WATT, K. (1999). Characterisation of the atypical β -adrenoceptor in rabbit isolated jejunum using BRL 37344, cyanopindolol and SR 59230A. *J Auton Pharmacol.* **19**:91-95
- MALAGELADA, J.R., AZPINOZ, F., MEARIN, F. (1993). Gastroduodenal motor function in health and disease. In: *Gastrointestinal Disease: Pathophysiology/Diagnosis/Management*, Vol 1. Ed.: M.H. Sleisenger, J.S. Fordtran. Philadelphia, WB Saunders, p.:486-508
- MALAGELADA, J.R., REES, W.D., MAZZOTTA, L.J., GO, V.L. (1980). Gastric motor abnormalities in diabetic and postvagotomy gastroparesis: Effect of metoclopramide and bethanechol. *Gastroenterology* **78**:286-293
- MALINS, J.M., FRENCH, J.M. (1957) Diabetic diarrhea. *Q J Med.* **26**:461-480
- MALONE, J.I. (1974). Juvenile diabetes and acute pancreatitis. *J Pediatr.* **85**:825
- MANARA, L., BIANCHETTI, A., CROCI, T., GIUDICE, A. (1989). In: *Neurochemical Pharmacology* Ed.: E. Costa, Raven, New York, p.:131
- MANDELSTAM, P., SIEGAL, C.I., LIEBER, A., SIEGEL, M. (1969). The swallowing disorder in patients with diabetic neuropathy-gastroenteropathy. *Gastroenterology.* **56**:1-12
- MATHISON, R., DAVISON, J.S. (1988). Modified smooth muscle responses of jejunum in streptozotocin-diabetic rats. *J Pharmacol Exp Ther.* **244**:1045-1050

- MCCALLUM, R.W. (1988). Role of motility in gastric emptying and gastroduodenal reflux. In: *Progress in the Treatment of Gastrointestinal Motility Disorders: The Role of Cisapride*. Ed.: A.G. Johnson, Amsterdam: Excerpta Medica, p.: 99-112
- MCDEWITT, D.G. (1989). In vivo studies on the function of cardiac β -adrenoceptors in man. *Eur Heart J.* **10**:Suppl B:22-28
- MCGREGOR, I.L., GUELLER, R., WATTS, H.D., MEYER, J.H. (1976). The effect of acute hyperglycemia on gastric emptying in man. *Gastroenterology* **70**:190-196
- MCLAUGHLIN, D.P., MACDONALD, A. (1990). Evidence for the existence of 'atypical' beta-adrenoceptors (beta 3-adrenoceptors) mediating relaxation in the rat distal colon in vitro. *Br J Pharmacol.* **101**:569-574
- MCLAUGHLIN, D.P., MACDONALD, A. (1991). Characterization of catecholamine-mediated relaxations in rat isolated gastric fundus: evidence for an atypical β -adrenoceptor. *Br J Pharmacol.* **103**:1351-1356
- MCNALLY, E.F., REINHARD, A.E., SCHWARTZ, P.E. (1969). Small bowel motility in diabetics. *Am J Dig Dis.* **14**:163-169
- MEARIN, F., CAMILLERI, M., MALAGELADA, J.R. (1986). Pyloric dysfunction in diabetics with recurrent nausea and vomiting. *Gastroenterology.* **90**:1919-1925
- MEINTYRE, A.S., THOMPSON, D.G. (1992). Adrenergic control of motor and secretory function in the gastrointestinal tract. *Aliment Pharmacol Ther.* **6**:125-142
- MINNEMAN, K.P., PITTMAN, R.N., MOLINOFF, P.B. (1981). Beta-adrenergic receptor subtypes: properties, distribution, and regulation. *Ann Rev Neurosci.* **4**:419-461
- MONIOTTE, S., KABZIK, L., FERON, O., TROCHU, J.N., GAUTHIER, C., BALLIGAND, J.L. (2001). Upregulation of $\beta_{(3)}$ -adrenoceptors and altered contractile response to inotropic amines in human failing myocardium. *Circulation.* **103**:1649-1655.
- MURRAY, F.E., LOMBARD, M.G., ASHE, J., LYNCH, D., DRURY, M.I., O'MOORE, B., LENNON, J., CROWE, J. (1987). Esophageal function in diabetes mellitus with special reference to acid studies and relationship to peripheral neuropathy. *Am J Gastroenterol.* **82**:840-843
- NATHAN, D.M. (1993). Long-term complications of diabetes mellitus. *New Engl. J Med.* **328**:1676-1685
- NELSON, J.S., LACY, P.E., HIRSHBERG, G.E. (1976). Megacolon and autonomic neuropathy in diabetic rats (Abstract). *J. Neuropathol. & Exp. Neurol.* **35**:335

- NORMAN, B.J., LEATHARD, H.L. (1990). Evidence that an atypical beta-adrenoceptor mediates the inhibition of spontaneous rhythmical contractions of rabbit isolated jejunum induced by ritodrine and salbutamol. *Br J Pharmacol.* **101**:27-30
- NOWAK, T.W., HARRINTON, B., WEISBRUCH, J.P., KALBFLEISCH, J.H. (1990b). Structural and functional characteristics of muscle from diabetic rdent small intestine. *Am J Physiol.* **258**:690-698
- NOWAK, T.V., HARRINGTON, B., KALBFLEISCH, J.H., AMATRUDA, J.M. (1986). Evidence for abnormal cholinergic neuromuscular transmission in diabetic rat small intestine. *Gastroenterology.* **91**:124-132
- NOWAK, T.W., HARRINTON, B., KALBFLEISCH, J.H. (1990a). Adaptation of cholinergic enteric neurotransmission in diabetic rat small intestine. *Diabetes.* **39**:891-897
- NWOKOLO, C.U., DEBNAM, E.S., BOOTH, J.D., SIM, R., SANKEY, E.A., DHILLON, A.P., POUNDER, R.E. (1992). Neuroendocrine changes in rat stomach during experimental diabetes mellitus. *Dig Dis Sci.* **37**:751-756
- O'DONNELL, S.R., WANSTALL, J.C. (1985). Responses to the β_2 -selective agonist procaterol of vascular and atrial preparations with different functional β -adrenoceptor populations. *Br J Pharmacol.* **84**:227-235
- OGBONMAYA, K.L., AREM, R. (1990). Diabetic diarrhea: pathophysiology, diagnosis and management. *Arch Intern Med.* **150**:262-275
- ORIOWO, M.A. (1994). Atypical β -adrenoceptors in the rat isolated common carotid artery. *Br J Pharmacol.* **113**:699-702
- ORIOWO, M.A. (1995). Different atypical β -adrenoceptors mediate isoprenaline-induced relaxation in vascular and non-vascular smooth muscles. *Life Sci.* **56**:269-275
- OSSWALD, W., GUIMARAES, S. (1983). Adrenergic mechanisms in blood vessels: morphological and pharmacological aspects. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* **96**:53-122
- OZTURK, Y., ALTAN, V.M., OZCELIKAY, A.T., YIDIZOGLU-ARI, N. (1992a). Beneficial effect of insulin on the decreased gastrointestinal β -adrenergic responses in streptozotocin-diabetic rats: a contributing role of protein biosynthesis. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* **317**:81-92
- OZTURK, Y., ALTAN, V.M., YIDIZOGLU-ARI, N. (1992b). β -Adrenergic responsiveness of the gastrointestinal tract in diabetic rats. *Pharmacol Toxicol.* **71**:250-253

- OZTURK, Y., ALTAN, V.M., YILDIZOGLU-ARI, N. (1996). Duration-dependent changes in calcium responsiveness in the alloxan-diabetic rat intestine. *J Diabetes Complications*. **10**:288-293
- OZTURK, Y., YILDIZOGLU-ARI, N., ALTAN, N., ALTAN, V.M., (1992b). Effect of lithium on gastro-intestinal complications in alloxan-diabetic rats. *Gen. Pharmacol.* **23**:769-773
- OZTURK, Y., YILDIZOGLU-ARI, N., ALTAN, V.M., KARASU, C. (1987). Altered responses to calcium and trifluoperazine in K^+ -depolarized duodenum from alloxan diabetic rats. *Pharmacol Res Commun.* **19**:597-608
- OZTURK, Y., YILDIZOGLU-ARI, N., ALTAN, V.M., OZCELİKAY, A.T.(1993). Effect of insulin on the decreased β -adrenergic responses of duodenum and atrium isolated from streptozotocin diabetic rats. *Gen. Pharmacol.* **24**:217-223
- OZTURK, Y., YILDIZOGLU-ARI, N., OZUARI, A., ALTAN, V.M. (1994a). The effects of glyburide and insulin on the decreased β -adrenergic responsiveness of the gastrointestinal tract in rats with non-insulin-dependent diabetes. *Gen. Pharmacol.* **25**:1511-1517
- OZTURK, Y., YILDIZOGLU-ARI, N., OZUARI, A., OZCELİKAY, A.T., ALTAN, V.M. (1990). Decreased β -adrenergic responses of rat small intestine due to non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **9**:123-127
- OZTURK, Y., YILDIZOGLU-ARI, N., PEKINER, C., OZCELİKAY, A.T., ALTAN, V.M. (1994b). Vanadate treatment reverses gastrointestinal complications in the streptozotocin-diabetic rats. *Gen. Pharmacol.* **25**:1109-1114
- POZZI, M., RIVOLTA, M., GELOSA, M., CAPRA, M., POGGIOLI, G., BERNASCONI, A., LOMUSCIO, G. (1988). Upper gastrointestinal involvement in diabetes mellitus: Study of esophagogastric function. *Acta Diabetol.* **25**:333-341
- RAMABADRAN, K., BANSINATH, M., TURNDORF, H., PUIG, M.M. (1990). Streptozotocin-diabetes attenuates α_2 -adrenoceptor agonist-induced delay in small intestinal transit in mice. *J Auton Pharmacol.* **10**:163-171
- RAPER, C. (1987). Adrenoceptor classification. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **14**:401-407
- RAUTUREAU, Y., TOUMANIANTZ, G., SERPILLON, S., JOURDAN, P., TROUCHU, J.N., GAUTHIER, C. (2002). β_3 -adrenoceptor in rat aorta: molecular and biochemical characterization and signalling pathway. *Br J Pharmacol.* **137**:153-161
- READ, N.W. (1999). Functional dyspepsia: a case of indecision. *Gastroenterology.* **116**:761-762

- RENNER, J.G., SAVAGE, W.T., PANTOJA, T.L. et al (1985). Death due to acute pancreatitis: A retrospective analysis of 405 autopsy cases. *Dig Dis Sci.* **30**:1005-1018
- ROBERTS, S.J., PAPAIOANNOU, M., EVANS, B.A., SUMMERS, R.J. (1999). Characterization of β -adrenoceptor mediated smooth muscle relaxation and the detection of mRNA for β_1 -, β_2 - and β_3 -adrenoceptors in rat ileum. *Br J Pharmacol.* **127**:949-961
- ROTHSTEIN, R.D., ALAVI, A., REYNOLDS, J.C. (1993). Electrogastrography in patients with gastroparesis and effect of long-term cisapride. *Dig Dis Sci.* **38**: 1518-1524
- RUBANYI, G., VANHOUTTE, P.M. (1985). Endothelium-removal decreases relaxations of canine coronary arteries caused by β -adrenergic agonists and adenosine. *J Cardiovasc Pharmacol.* **7**:139-144
- RUNDLES, R.W. (1945). Diabetic neuropathy: General review with report of 125 cases. *Medicine* **24**:111-160
- RUSSEL, C.O., GANNAN, R., COATSWORTH, J., NIELSEN, R., ALLEN, F., HILL, L.D., POPE, C.E. (1983). Relationship among esophageal dysfunction, diabetic gastroenteropathy, and peripheral neuropathy. *Dig Dis Sci.* **28**:289-293
- SAKAI, Y., INUZU, M., AIHARA, K., INOUE, K., HOMMA, I. (1991). Relations between contractile responses and β -adrenceptors in gastric fundus of diabetic rats. *Life Sci.* **48**:1043-1049
- SAKAI, Y., INUZU, M., HONDA, H., INOUE, K., HOMMA, I. (1990). Abnormality of smooth muscle functions in diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* **183**:550-551
- SAMSOM, M., ROELOFS, J.M., AKKERMANS, L.M., BERGE HENEGOUWEN, G.P., SMOUT, A.J. (1998). Proximal gastric motor activity in response to a liquid meal in type I diabetes mellitus with autonomic neuropathy. *Dig Dis Sci.* **43**:491-496
- SASLOW, S.B., CAMILLERI, M. (1995). Diabetic diarrhea. *Semin Gastrointest Dis.* **6**:187
- SATAKE, N., SHIBATA, M., SHIBATA, S. (1996). The inhibitory effects of iberiotoxin and 4-aminopyridine on the relaxation induced by β_1 - and β_2 -adrenoceptor activation in rat aorta rings. *Br J Pharmacol.* **119**:505-510
- SCARPELLO, J.H.B., HAGUE, R.V., CULLEN, D.R., SLADEN, G.E. (1976). The ^{14}C -glycocholate test in diabetic diarrhea. *Br Med J.* **2**:673-675
- SCHMIDT, R.E., COGSWELL, B.E. (1989). Tyrosine hydroxylase activity in sympathetic nervous system of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes.* **38**:959-968
- SCHMIDT, R.E., NELSON, J.S., JOHNSON, E.M. (1981). Experimental diabetic autonomic neuropathy. *Am J Physiol.* **103**:210-225

- SCHMIDT, R.E., PLURAD, D.A., PLURAD, S.B., COGSWELL, B.E., DIANI, A.R., ROTH, K.A. (1989). Ultrastructural and immunohistochemical characterization of autonomic neuropathy in genetically diabetic Chinese hamsters. *Lab Invest* **61**:77-92
- SCHMIDT, R.E., PLURAD, S.B., ROTH, K.A. (1988). Effects of chronic experimental streptozotocin-induced diabetes on the noradrenergic and peptidergic innervation of the rat alimentary tract. *Brain Res.* **458**:353-360
- SCHUSTER, M.M. (1968). Motor action of rectum and anal sphincters in continence and defecation. In: *Handbook of Physiology*. Ed.: C.F. Code. Washington, D.C.: American Physiological Society, p.: 2121-2146
- SHEARMAN, M.S., SEKIGUCHI, K., NISHIZUKA, Y. (1989) Modulation of ion channel activity: a key function of the protein kinase C enzyme family. *Pharmacol Rev.* **41**:211-237
- SHEN, Y.T., CERVONI, P., CLAUS, T., VATNER, S.F. (1996). Differences in β_3 -adrenergic receptor cardiovascular regulation in conscious primates, rats and dogs. *J Pharmacol Exp Ther.* **278**:1435-1443
- SHEN, Y.T., ZHANG, H., VATNER, S.F. (1994). Peripheral vascular effects of β_3 -adrenergic receptor stimulation in conscious dog. *J Pharmacol Exp Ther.* **268**:466-473
- SHILS, M.E., GILAT, T. (1966). The effect of esophagectomy on absorption in man: clinical and metabolic observations. *Gastroenterology.* **50**:347-357
- SMITH, B. (1974). Neuropathology of the esophagus in diabetes mellitus. *J Neurosurg Psychol.* **37**:1151-1154
- SNAPE, W.J., SULLIVAN, M.A., COHEN, S. (1980). Abnormal gastrocolic response in patients with intestinal pseudo-obstruction. *Arch Intern Med.* **140**:386-387
- SOOCH, S., MARSHALL, I. (1997). Atypical β -adrenoceptors in the rat vasculature. *Ann N Y Acad Sci.* **812**:211-212
- SOULIE, M.L., CROS, G., SERRANO, J.J., BALI, J.P. (1992). Impairment of contractile response to carbachol and muscarinic receptor coupling in gastric antral smooth muscle cells isolated from diabetic streptozotocin-treated rats and db/db mice. *Mol Cell Biochem.* **109**:185-188
- STERN, R.M., KOCH, K.L., STEWART, W.R., VASEY, M.W. (1987). Electrogastrography: Current issues in validation and methodology. *Psychophysiology.* **24**:55-64
- STEWART, I.M., HOSKING, D.J., PRESTON, B.J., ATKINSON, M. (1976). Oesophageal motor changes in diabetes mellitus. *Thorax.* **31**:278-283

- SUMI, S.M., FINDAY, J.M. (1961). On the pathogenesis of diabetic steatorrhea. *Ann Intern Med.* **55**:994-997
- SUNDKVIST, G., HILLCARP, B., LILJA, B. (1989). Esophageal motor function evaluated by scintigraphy, video-radiography, and manometry in diabetic patients. *Acta Radiol* **30**:17-19
- TAGAYA, E., TAMAOKI, J., TAKEMURA, H., ISONO, K., NAGAI, A. (1999). Atypical adrenoceptor-mediated relaxation of canine pulmonary artery through a cyclic adenosine monophosphate-dependent pathway. *Lung.* **177**:321-332
- TAIRA, N., YABUUCHI, Y., YAMASHITA, S. (1977). Profile of β -adrenoceptors in femoral, superior mesenteric and renal vascular beds of dogs. *Br J Pharmacol.* **59**:577-583
- TAKAI, Y., MINAKUCHI, R., KIKKAWA, U., SANO, K., KAIBUCHI, K., YU, B., MATSUBARA, T., NISHIZUKA, Y. (1982). Membrane phospholipid turnover, receptor function, and protein phosphorylation. *Prog Brain Res.* **56**:289-301
- TAKAYAMA, S., FURUKAWA, Y., REN, L.M., INOUE, Y., SAWAKI, S., CHIBA, S. (1993). Positive chronotropic and inotropic responses to BRL 37344, a β_3 -adrenoceptor agonist in isolated, blood-perfused dog atria. *Eur J Pharmacol.* **231**:315-321
- TAN, S., CURTIS-PRIOR, P.B. (1983). Characterization of the beta-adrenoceptor of the adipose cell of the rat. *Int J Obes.* **7**:409-414
- TAVERNIER, G., GALITZKY, J., BOUSQUET-MELOU, A., MONTASTRUC, J.L., BERLAN, M. (1992). The positive chronotropic effect induced by BRL 37344 and CGP 12177, two β_3 -adrenergic agonists, does not involve cardiac β -adrenoceptors but reflex mechanisms. *J Pharm Exp Ther.* **263**:1083-1090
- TOYOSHIMA, H., NASA, Y., HASHIZUME, Y., KOSEKI, Y., ISAYAMA, Y., KOHSAKA, Y., YAMADA, T., TAKEO, S. (1998). Modulation of cAMP-mediated vasorelaxation by endothelial nitric oxide and basal cGMP in vascular smooth muscle. *J Cardiovasc Pharmacol.* **32**:543-551
- TROCHU, J.N., LEBLAIS, V., RAUTUREAU, Y., BEVERELLI, F., LE MAREC, H., BERDEAUX, A., GAUTHIER, C. (1999). β_3 -adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta. *Br J Pharmacol.* **128**:69-76
- TRONCON, L.E., SILVA, L., OLIVEIRA, R.B., IAZIGI, N., GALLO, L. Jr., FOSS, M.C. (1998). Abnormal intragastric distribution of a liquid nutrient meal in patients with diabetes mellitus. *Dig Dis Sci.* **43**:1421-1429

- TURCATO, S., CLAPP, L.H. (1999). Effects of the adenylyl cyclase inhibitor SQ22536 on iloprost-induced vasorelaxation and cyclic AMP elevation in isolated guinea-pig aorta. *Br J Pharmacol.* **126**:845-847
- UNDELAND, K.A., HAUSKEN, T., AANDERUD, S., BERSTAD, A. (1997). Lower postprandial gastric volume response in diabetic patients with vagal neuropathy. *Neurogastroenterol Motil.* **9**:19-24
- UNDELAND, K.A., HAUSKEN, T., SVEBAK, S., AANDERUD, S., BERSTAD, A. (1996). Wide gastric antrum and low vagal tone in patients with diabetes mellitus type I compared to patients with functional dyspepsia and healthy individuals. *Dig Dis Sci.* **41**:9-16
- URBAIN, J.L.C., VANTRAPPEN, J., JANSSENS, J., VAN CUTSEM, E., PEETERS T., DE ROO, M. (1990). Intravenous erythromycin dramatically accelerates gastric emptying in gastroparesis diabeticorum and normals and abolishes the emptying discrimination between solids and liquids. *J Nucl Med.* **31**:1490-1493
- URBAIN, J.L.C., VEKEMANS, M.C., BOUILLON, R., VAN CAUTEREN, J., BEX, M., MAYEUR, S.M., VAN DEN MAEGDENBERGH, V., BATAILLE, G., CHARKES, N.D., MALMUD, L.S., DE ROO, M. (1993). Characterization of gastric antral motility disturbances in diabetes using a scintigraphic technique. *J Nucl Med* **34**:576-581
- VAN BUUREN, K.J.H., KRIELAART, M.J., VEENSTRA, D.M.J. (1991). In: *Adrenoceptors: Structure, Mechanisms, Function*. Ed: E. Szabadi, C.M. Bradshaw. Birkahuser Verlag, Basel, p.:30
- VAN DER VLIET, A., RADEMAKER, B., BAST, A. (1990). A beta adrenoceptor with atypical characteristics is involved in the relaxation of the rat small intestine. *J Pharmacol Exp Ther.* **250**:218-226
- VAN LIEFDE, I., VAN WITZENBERG, A., VAUQUELIN, G. (1992). Multiple beta adrenergic receptor subclasses mediate the l-isoproterenol-induced lipolytic response in rat adipocytes. *J Pharmacol Exp Ther.* **262**:552-558
- VANE, J.R. (1957). A sensitive method for the assay of 5-hydroxytryptamine. *Br J Pharmacol Chemother.* **12**:344-349
- VERNE, G.N., SNINSKY, C.A. (1995). Chronic intestinal pseudo-obstruction. *Dig Dis.* **13**:163-181
- VERNE, G.N., SNINSKY, C.A. (1998). Diabetes and the gastrointestinal tract. *Gastroenterol Clin North Am.* **27**:861-874

- VIARD, P., MACREZ, N., COUSSIN, F., MOREL, J.L., MIRONNEAU, J. (2000). β_3 -adrenergic stimulation of L-type Ca^{2+} channels in rat portal vein myocytes. *Br J Pharmacol.* **129**:1497-1505
- WALD, A., TUNUGUNTLA, A.K. (1984). Anorectal sensorimotor dysfunction in fecal incontinence, and diabets mellitus. *N Engl J Med.* **310**:1282-1287
- WALI, R.K., DUDEJA, P.K., BOLT, M.J., SITRIN, M.D., BRASITUS, T.A. (1990). Correction of abnormal small intestine cytoplasmic protein kinase C activity in streptozotocin-induced diabetes by insulin therapy. *Biochem. J.* **272**:653-658
- WHALEN, G.E., SOERGEL, K.H., GEENEN, J.E. (1969). Diabetic diarrhea: a clinical and pathophysiological study. *Gastroenterology.* **56**:1021-1032
- WHEELDON, N.M., MCDEWITT, D.G., LIPWORTH, B.J. (1993). Investigation of putative cardiac β_3 -adrenoceptors in man. *Q J Med.* **86**:255-261
- WHEELDON, N.M., MCDEWITT, D.G., LIPWORTH, B.J. (1994). Cardiac effects of the β_3 -adrenoceptor agonist BRL 35135 in man. *Br J Clin Pharmacol.* **37**:363-369
- WHITE, R.E., JOLLY, S.R., CARRIER, G.O. (1986). Enhanced relaxation response of canine coronary artery to isoproterenol and salbutamol after removal of endothelial cells. *Gen Pharmacol.* **17**:497-499
- WILSON, C., WILSON, S., PIERCY, V., SENNITT, M.V., ARCH, J.R.S. (1984). The rat lipolytic beta-adrenoceptor: studies using novel beta-adrenoceptor agonists. *Eur J Pharmacol.* **100**:309-319
- WRIGHT, R.A., CLEMENTE, R., WATHEN, R. (1985) Diabetic gastroparesis: an abnormality of gastric emptying of solids. *Am J Med Sci* **289**:240-242
- XIAO, R.P., CHENG, H., ZHOU, Y.Y., KUSHEL, M., LAKATTA, E.G. (1999). Recent advances in cardiac $\beta_{(2)}$ -adrenergic signal transduction. *Circ Res.* **85**:1092-1100
- YAMAKI, K., KAGA, M., HORINOUCI, T., TANAKA, H., KOIKE, K., SHIGENOBU, K., TORO, L., TANAKA, Y. (2001). MaxiK-channel mediated relaxation of guinea-pig aorta following stimulation of IP receptor with beraprost via cyclic AMP-dependent and -independent mechanisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* **364**:538-550
- YANG, R., AREM, R., CHAN, L. (1984). Gastrointestinal tract complications of diabetes mellitus. *Arch Intern Med.* **144**:1251-1254
- YIDIZOGLU-ARI, N., ALTINKURT, O., OZTURK, Y., ALTAN, V.M., PEKINER, C., KARASU, C. (1988). Decreased gastro-intestinal responses to salbutamol and serotonin in streptozotocin-induced diabetes: improving effect of insulin in vivo and in vitro. *Gen Pharmacol.* **19**:665-668

- YILDIZOGLU-ARI, N., ALTINKURT, O., OZTURK, Y., ALTAN, V.M., PEKINER, C., KARASU, C. (1988). Decreased gastro-intestinal responses to salbutamol and serotonin in streptozotocin-induced diabetes: improving effect of insulin in vivo and in vitro. *Gen Pharmacol.* **19**:665-668
- YOSHIDA, M.M., SCHUFFLER, M.D., SUMI, S.M. (1988). There are no morphologic abnormalities of the gastric wall or abdominal vagus in patients with diabetic gastroparesis. *Gastroenterology.* **94**:907-914
- YU, Z., MCNEILL, J.H. (1991). Altered inotropic responses in diabetic cardiomyopathy and hypertensive-diabetic cardiomyopathy. *J Pharmacol Exp Ther.* **257**:64-71
- ZAAGSMA, J., DE VENTE, J., HARMS, H.H., JANSEN, J-D. (1985). In: *Pharmacology of Adrenoceptors*. Ed.: E. Szabadi, C.M. Bradshaw, S.R. Nahorski., Macmillan, London, p.:247



ÖZGEÇMİŞ

Adı: Işıl

Soyadı: ÖZAKCA

Doğum Yeri ve Tarihi: Bolu- 08.10.1980

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Bekar

İletişim Adresi: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji
ABD Tandoğan/ANKARA

Telefon: 0 532 715 81 20

Eğitimi: 1998/2002 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
1991/1998 Bolu İzzet Baysal Anadolu Lisesi
1986/1991 Bolu Sakarya İlköğretim Okulu

Yabancı Dili: İngilizce