

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİTAGLİPTİNİN STREPTOZOTOSİN
DİABETİK RATLARDA β -AR ARACILI KARDİYAK
YANITLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Ceren UYAR BOZTAŞ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ebru ARIOĞLU İNAN

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün 15L0237005
proje numarası ve TÜBİTAK'ın SBAG-115S564 proje numarası ile desteklenmiştir**

**ANKARA
2018**

ETİK BEYAN

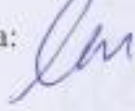
Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum "Sitagliptinin Streptozotosin Diabetik Ratlarda β -AR Aracılı Kardiyak Yanıtları Üzerindeki Etkileri" başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ceren UYAR BOZTAŞ

Tarih: 12.02.2018

İmza:



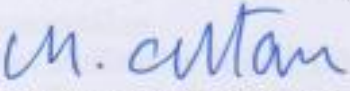
KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalında Ceren UYAR BOZTAŞ tarafından hazırlanan “Sitagliptinin Streptozotosin Diabetik Ratlarda β -AR Aracılı Kardiyak Yanıtları Üzerindeki Etkileri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

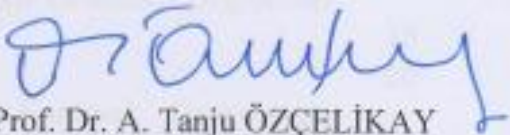
Tez Savunma Tarihi: 12.02.2018


Prof. Dr. Nuray ARI

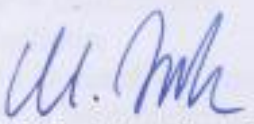
Jüri Başkanı


Prof. Dr. V. Melih ALTAN

Bezmi Alem Vakıf Üni. Eczacılık Fak.


Prof. Dr. A. Tanju ÖZÇELİKAY

Ankara Üni. Eczacılık Fak.


Prof. Dr. Mustafa ARK

Gazi Üni. Eczacılık Fak.


Doç. Dr. Ebru ARIÖĞLU İNAN

Ankara Üni. Eczacılık Fak.

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür V.

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Beta Adrenerjik Reseptörler	1
1.1.1. β -Adrenoseptörlerin Kardiyak Fonksiyonlardaki Rolü	2
1.1.1.1. β -Adrenoseptörlerin Kardiyak Patolojilerdeki Rolü	5
1.2. Diabetes Mellitus	10
1.2.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı ve Sınıflandırılması	10
1.2.2. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları	13
1.2.2.1. Diabetik Kardiyak Disfonksiyon	13
1.2.2.1.1. Diabetik Kalpte β -Adrenerjik Yanıtverirlikte Gözlenen Değişimler ve Olası Mekanizmaları	15
1.2.3. Diabetes Mellitus'ta Tedavi Yaklaşımları	20
1.2.3.1. Diabet Tedavisinde Kullanılan İlaçların Kardiyak Fonksiyonlar Üzerindeki Etkileri	24
1.2.3.2. İncretinmimetikler	27
1.2.3.2.1. GLP-1 Analogları	29
1.2.3.2.2. DPP-4 İnhibitörleri	30
1.2.3.2.1.1. Sitagliptin	32
1.2.3.2.3. GLP-1'in Kardiyak Fonksiyonlar Üzerindeki Etkileri	34
1.2.3.2.3.1. DPP-4 İnhibitörlerinin Kardiyak Fonksiyonlar Üzerindeki Etkileri	37
1.3. Amaç	41
2. GEREÇ VE YÖNTEM	43
2.1. Kullanılan Gereçler	43
2.1.1. Malzemeler	43
2.1.2. Kimyasal Maddeler	44
2.2. Kullanılan Yöntemler	45
2.2.1. Deney Hayvanları	45
2.2.2. STZ Diabet Modelinin Oluşturulması	46
2.2.3. Ön Çalışma: Sitagliptin Etkin Dozunun Belirlenmesi	46
2.2.4. Sitagliptin Tedavisi	47
2.2.5. Papiller Kas Deneyi	48
2.2.6. Langendorff Sistemi Deneyi	48
2.2.7. Kalp Dokusundan Protein İzolasyonu	49
2.2.8. Western Blot Deneyleri	50
2.2.8.1. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi	50
2.2.8.2. Proteinlerin Membrana Transferi	51
2.2.9. İstatistiksel Analiz	52

3. BULGULAR	53
3.1. Morfolojik Özellikler	53
3.2. İzole Papiller Kas Preparatında İzoprenalin ile Elde Edilen Farmakodinamik Bulgular	54
3.3. İzole Langendorff Kalp Preparatında β_3 -AR Agonisti CL 316,243 ile Elde Edilen Bulgular	55
3.4. eNOS, fosforile eNOS, β_3 -AR, GRP78 ve SERCA2a Protein İfadeleri	56
4. TARTIŞMA	59
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
ÖZET	69
SUMMARY	70
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ	87



ÖNSÖZ

Diabet hastalığının tedavisindeki temel amaç, iyi bir glisemik kontrol sağlayarak, kardiyovasküler ya da diğer komplikasyonların gelişimini önlemektir. Ne var ki, klasik antihiperglisemik ajanlar ile kardiyovasküler yan etki oluşturmada kan şekeri homeostazını sağlamak pek mümkün olmamaktadır. Bu sebeple antihiperglisemik etkinliğin yanı sıra, kardiyovasküler komplikasyonları da azaltan DPP-4 inhibitörleri yeni nesil antihiperglisemik ajan olarak önem kazanmaktadır. Diabetik kalpte ortaya çıkan bozuklukların başında β -AR aracılı yanıtverirliğin azalması gelmektedir. Ne var ki, DPP-4 inhibitörlerinin diabetik kalpte β -AR'ler üzerindeki direkt etkileri tam olarak bilinmemektedir. Bu noktadan hareketle, projemizde, bir DPP-4 inhibitörü olan sitagliptinin, diabetik ratlardaki kardiyak β -AR aracılı yanıtlar üzerine kan şekerinden bağımsız etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimiyle yolumu aydınlatan, gerek bilimsel gerek hayata dair her konuda bana kılavuzluk eden, hedeflerime nasıl ulaşabileceğimi, düzenin hayatımı kolaylaştıracağını, istersem başarabileceğimi bana sabırla öğreten, benim için hep çok özel bir yeri olan danışmanım, Değerli Hocam Doç. Dr. Ebru ARIÖĞLU İNAN'a,

Beni kabul ederek doktora eğitimime başlamamı sağlayan, bilgi birikimi, tecrübesi, anlayışı ve entelektüel kişiliği ile benim ve birçok öğrencisinin rol model olarak benimsediği Değerli Hocam Prof.Dr. Melih ALTAN'a,

Tez çalışmam boyunca benden hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen ve farmakolojiyi bana sevdiren Sayın Hocam Prof. Dr. A. Tanju ÖZÇELİKAY'a;

Güler yüzü ve engin bilgisiyle her zaman bana destek olan Sayın Hocam Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU'na;

Anlayışları ve yardımları için her zaman sevgi, saygı ve minnet duyduğum değerli Hocalarım Prof. Dr. Gülgün OZANSOY, Prof. Dr. Nuray ARI ve Prof. Dr. Serap GÜR'e;

Her zaman bilimsel çalışmalarımızı destekleyerek bizlere huzurlu bir çalışma ortamı sağlayan, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Hocam Prof. Dr. Arzu ONAY BEŞİKÇİ'ye;

Hem akademik anlamda hem de manevi olarak bana kazandırdıkları, bana verdiği sonsuz güven ve desteği ile benim için çok özel olan Değerli Hocam Işıl ÖZAKÇA'ya;

Bilgi ve deneyimlerini bana aktarmanın yanı sıra ihtiyacım olan her zaman yanımda olan, her konuda çekinmeden fikrine danışabildiğim, projeme katkılarının tartışılmaz derecede büyük olduğu Değerli Hocam Dr. Gizem KAYKI MUTLU'ya;

Umutsuzluğa kapılmama hiçbir zaman izin vermeyen, benim için yaptığı yardımları sayfalara sığdıramayacağım, sevgi ve minnetimi kelimelerle anlatamayacağım canım arkadaşım Dr. Ecz. Cennet BOLAT BALCILAR'a;

Bana karşı her zaman olağanüstü anlayış ve iyi niyet gösteren, birlikte unutulmaz anılar biriktirdiğim yol arkadaşım Uzm. Ecz. Ayhanım Elif MÜDERRİSOĞLU'na;

Her an tüm samimiyeti ve içtenliğiyle yanımda olan, gerek laboratuvar çalışmalarında gerekse özel hayatta desteğini hiç esirgemeyen, varlığı mutlu eden arkadaşım Ecz. Betül Rabia ERDOĞAN'a;

Çalışmalarım boyunca ihtiyacım olduğu her an yanımda olan, alçakgönüllülüğüyle beni her zaman kendisine hayran bırakan arkadaşım Ecz. Zeynep Elif YEŞİLYURT'a ve sakinliği, yerinde müdahaleleri ile beni defalarca zor durumlardan kurtaran, birlikte başardığımız unutulmayacak tecrübeler paylaştığım Ecz. İrem KARAÖMERLİOĞLU'na;

Güleryüzleri ve sıcak sohbetleri ile birlikte çok keyifli zamanlar geçirdiğim arkadaşlarım Ecz. Zümra KARA, Ecz. Berna GÜVEN, Ecz. Didem YILMAZ, Ecz. Heba ASKER ve Ecz. Mesut ÇİÇEK'e;

Bana her zorluğun üstesinden gelebilecek cesareti veren, her koşulda yanımda olduklarını bildiğim, bugüne kadar başardığımı düşündüğüm her şeyi borçlu olduğum annem ve babama

Tüm sıkıntılarımı benimle birlikte paylaşmasına rağmen bitmeyen sabır ve şefkatiyle yola devam etmem için bana güç veren, karamsarlığımı umuda, paylaştığımız her anı mutluluğa çeviren ve benimle olduğu için ne kadar şanslı olduğumu çok iyi bildiğim eşime;

Doktora eğitimim boyunca sağladıkları destek nedeniyle Ankara Üniversitesi BAP Koordinatörlüğüne (15L0237005) ve TÜBİTAK'a (SBAG-115S564),

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

SİMGELER VE KISALTMALAR

μ	Mikro
α -AR	Alfa Adrenerjik Reseptör
β -AR	Beta Adrenerjik Reseptör
AC	Adenylate Cyclase
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
Ang II	Anjiyotensin II
apoE	Apolipoprotein E
AR	Adrenerjik Reseptör
Bcl	B Cell Lymphoma
CaMKII	Ca ⁺² /Calmodulin Dependent Protein Kinase II
cAMP	Cyclic Adenosine Monophosphate
CREB	cAMP Response Element Binding Protein
CREM	cAMP Response Element Modulator Protein
DPP-4	Dipeptidil Peptidaz-4
eNOS	endotelial Nitrik Oksit Sentaz
ERK	Extracellular Signal-Regulated Kinase
GC	Guanylate Cyclase
GDP	Guanosine DiPhosphate
G _i	İnhibitör nitelikteki G Proteini
GLP-1	Glucagon Like Peptide-1
GLUT4	Glucose Transporter Type 4
GMP	Guanosine MonoPhosphate
GRK	G Protein Reseptör Kinaz
G _s	Stimülatör nitelikteki G Proteini
GSK-3	Glycogen Synthase Kinase-3
GTP	Guanosine TriPhosphate

HbA1c	Glikozillenmiş Hemoglobin A1c
IL-6/STAT3	InterLeukin-6/Signal Transducer Activator of Transcription 3
JNK	c-Jun N-terminal Kinases
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MEK, MAPKK	Mitogen Activated Protein Kinase Kinase
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NFAT	Nuclear Factor of Activated T-Cells
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
PI3K	PhosphoInositol-3-Kinase
PKA	Protein Kinaz A
PKB, Akt	Protein Kinaz B
PKG	Protein Kinaz G
PLB, PLN	Fosfolamban
PVDF	PoliViniliden DiFluorid
RAAS	Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi
ROS	Reactive Oxygen Species
RyR	Ryanodin Reseptörü
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SERCA2a	Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca ⁺² -ATPase
SGLT2	Sodium Glucose co-Transporter 2
STZ	Streptozotosin
TGF	Transforming Growth Factor
T1D	Tip 1 Diabet
T2D	Tip 2 Diabet
TBST	Tris Buffered Saline % 0,1 Tween 20
TEMED	TetraMetilEtilenDiamin
TGS	Tris Glisin SDS tampon çözeltisi
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Kalp kasında β -AR'lerin sinyal transdüksiyon kaskadları	4
Şekil 1.2. β -AR sinyal yolağı ve kalp yetmezliğinde β -AR duyarsızlaşması	6
Şekil 1.3. Kardiyak remodelinge aracılık eden beta adrenoseptör sinyal yolakları	7
Şekil 1.4. Diabetik Kardiyomyopatinin patolojik mekanizmaları	15
Şekil 1.5. Kalpteki insülin sinyali ve insülin direnci	16
Şekil 1.6. GLP-1 aracılı glukozu bağımlı insülin salımı mekanizması	28
Şekil 1.7. DPP-4 inhibitörlerinin etki mekanizması	32
Şekil 3.1. (a) Deney gruplarının haftalık kan şekeri değişimleri (b) 12 hafta sonunda deney gruplarının ölçülen kan şekeri değerlerinin değerlendirilmesi	53
Şekil 3.2. 12 hafta sonunda deney gruplarının beden ağırlıklarının değerlendirilmesi	54
Şekil 3.3. (a) 12 hafta sonunda deney gruplarından izole edilen papiller kaspreparatlarına ait izoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrileri (b) 10 μ M iso konsantrasyonuna ait Emax değerleri	55
Şekil 3.4. (a) 12 hafta sonunda deney gruplarından izole edilen kalbe ait CL 316,243 konsantrasyon-yanıt eğrileri (b) 0,01 μ M CL 316,243 konsantrasyonuna ait Emax değerleri	56
Şekil 3.5. (a) +dP/dt değerleri (b) -dP/dt değerleri	56
Şekil 3.6. (a) SERCA2a mRNA protein ekspresyonlarına ait band yoğunluklarının analizi (b) GRP78 mRNA protein ekspresyonlarına ait band yoğunluklarının analizi (c) β_3 -AR mRNA protein ekspresyonlarına ait band yoğunluklarının analizi (d) Proteinlere ait reprezentif band görselleri	57
Şekil 3.7. (a) eNOS mRNA protein ekspresyonuna ait band yoğunluklarının analizi (b) p-eNOS mRNA protein ekspresyonuna ait band yoğunluklarının analizi (c) peNOS/eNOS band ekspresyonlarının oranının analizi (d) Proteinlere ait reprezentif band görselleri	58

1. GİRİŞ

1.1. Beta Adrenerjik Reseptörler

Adrenerjik reseptörler (AR), guanin nükleotid bağlı G-protein çifti reseptör süperfamilyasına ait heterometrik G proteinlerini aktive eden membran reseptörleridir. Tüm AR'lerde bir hücre dışı amino terminali, üç ekstraselüler ve üç intraselüler kıvrımla birbirine bağlanmış yedi transmembranal segment ve bir hücre içi karboksit terminali mevcuttur. Bu yapı, reseptörlere yüksek afinite ve stabilite sağlar (Santulli ve Iaccarino, 2016). Katekolaminlerle aktivasyon sonucu G proteini α -altbiriminin guanin nükleotid bağlama bölgesinden guanozin difosfattan (GDP) serbestlenir ve yerine guanozin trifosfat (GTP) bağlanır. GTP'nin bağlanması, G proteininin yapısal değişikliğine neden olur. GTP-bağlı α -altbirimi, uyarılmış reseptörden ve $\beta\gamma$ dimerinden ayrılmaktadır. Hem α -altbirimi hem de $\beta\gamma$ -kompleksi birbirlerinden bağımsız olarak farklı aktiviteleri düzenlemektedir. G proteini tipik olarak adenil siklaz enzimi ile stimüle ya da inhibe olur veya fosfolipaz C'yi aktive eder. Sinyal yolağı, G protein reseptör kinaz (GRK) aracılı fosforilasyonla sonlandırılır. (Lymperopoulos ve ark., 2013)

Adrenerjik reseptörler genetik farklılıkları açısından α -adrenoseptörler (α -AR) ve β -adrenoseptörler (β -AR) olmak üzere iki grupta sınıflandırılmıştır. Şimdiye kadar α -AR'lerin iki; β -AR'lerin üç alt tipi tanımlanmıştır. β_1 -AR'ler yoğun olarak kalpte toplanmıştır. β_2 -AR'ler ise vücutta geniş alanlara dağılmıştır. Öte yandan, β_3 -AR'ler özellikle beyaz ve kahverengi adipoz dokuda yanıtı aracılık eder (Belge ve ark., 2014; Santulli ve Iaccarino, 2013). Tüm β -AR'ler öncelikle G proteini ile, sonrasında siklik adenosin mono fosfat (cAMP) aracılı yollarla ilişkilidir. Özellikle β_2 -AR ve β_3 -AR sinyalleri, kronik stimülasyon, hücre hipoksisi, asidozis, yaşlanma gibi faktörlere bağlı

olarak G proteininden bağımsız mekanizmalarla da etki gösterebilir (Santulli ve Iaccarino, 2016).

1.1.1. β -Adrenoseptörlerin Kardiyak Fonksiyonlardaki Rolü

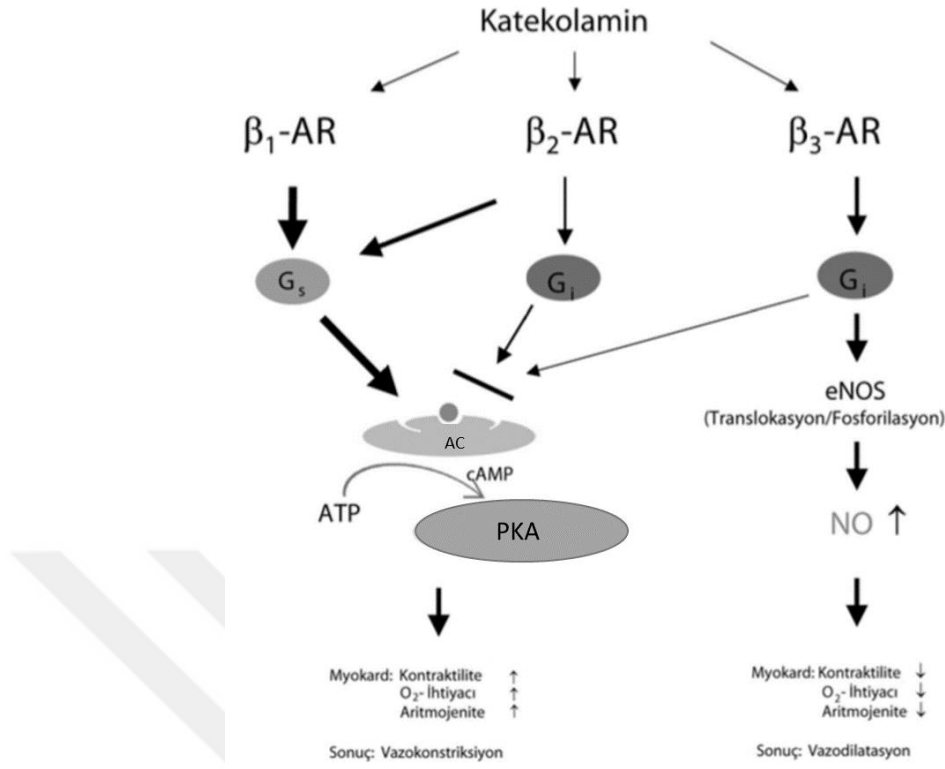
β adrenerjik sistem, kardiyovasküler yapının ve fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynayan en güçlü mekanizmadır. İlk başta kalpte yalnızca β_1 ve β_2 adrenoseptör alttipleri tanımlansa da sonraki çalışmalarda β_3 -AR'lerin varlığı da (Emorine ve ark., 1989) gösterilmiştir. β_4 -AR olduğu varsayılan dördüncü bir reseptör alttipinin varlığı halen sorgulansa da, şimdilik bu reseptörlerin β_1 -AR'lerin düşük afiniteli şekli olduğu düşünülmektedir (Moens ve ark., 2010).

Kalpte en fazla β_1 -AR'ler, en az β_3 -AR'ler bulunur. Farklı alt tipler farklı sinyal yollarına aracılık etmektedir. Sempatik sinir sistemi aktivasyonunun düzenlenmesinde temel rolü üstlenen adrenalin ve noradrenalin gibi endojen katekolaminlerinin hedefleri, ağırlıklı olarak β_1 ve β_2 -AR'lerdir. β_1 -AR'ler kalpte pozitif inotropik (kardiyak kontraktilitenin artması), pozitif kronotropik (frekansın artması), lusitropik (gevşeme hızı) ve pozitif dromotropik (atrioventriküler nod boyunca impuls iletimi) etkilere; böbrekte renin salgısındaki artışa bağlı renin anjiyotensin sisteminin aktivasyonuna aracılık ederler (Brodde ve Michel, 1999). β_2 -AR'ler, β_1 -AR'lere oranla kalpte daha düşük miktarlarda bulunurlar ve daha düşük şiddette G_s aracılı pozitif inotropik ve kronotropik yanıtlar meydana getirir. (Guimaraes ve Moura, 2001).

β_3 -AR'lerin varlığı ilk kez adipoz dokuda gösterilmiş (Napp ve ark., 2009), ilerleyen çalışmalarda ise insan kalbinde de bulundukları ve adrenerjik uyarılma sonucu oluşan kardiyak cevaplarda rol oynadıkları bildirilmiştir. Bu alttipin kalpteki

rolü tam olarak aydınlatılmamışsa da, β_1 ve β_2 -AR'lerden bağımsız olarak nitrik oksit sentaz (NOS) aracılı negatif inotropik etki gösterdikleri bulunmuştur.

Kalpde stimülatör G proteini (G_s) ile kenetli β_1 -AR'lerin katekolaminlerle uyarılması sonucu adenilat siklaz (AC) enzimi aktive olur ve hücre içinde ATP'den cAMP sentezi artar. Artan cAMP, protein kinaz A'yı (PKA; cAMP bağımlı protein kinaz) aktive ederek sarkolemmadaki L tipi voltaj bağımlı Ca^{+2} kanalları, fosfolamban (PLN), ryanodin reseptörleri (RyR) ve miyofilametlerin (kardiyak Troponin I, C protein gibi) fosforilasyonunu gerçekleştirir. Kanallar fosforilasyon sonucu açılır ve hücreye Ca^{+2} girişi başlar. Ca^{+2} girişi ryanodin reseptörlerini aktive ederek sarkoplazmik retikulumda (SR) depolanmış Ca^{+2} 'nın sitozole salımına neden olur. Hücre içindeki Ca^{+2} artışı ve PKA tarafından miyozin hafif zincirinin fosforilasyonu, kontraktıl filamentlerin yanıtverirliğini ve miyozinin aktine afinitesini arttırır ve kontraktıl yanıtı oluşturur. (George ve Pitt, 2006; Woo ve Xiao, 2012). Benzer şekilde β_2 -AR'lerin uyarılması, β_1 -AR aracılı yanıtlara göre çok daha az olsa da, cAMP/PKA aktivasyonuna bağlı protein fosforilasyonu ve pozitif inotropik yanıtlar oluşturur (R. P. Xiao ve ark., 2004). (Şekil 1.1)



Şekil 1.1. Kalp kasında β -AR'lerin sinyal transdüksiyon kaskadları. PKA, protein kinaz A; eNOS, endotelial nitrik oksit; NO, nitrik oksit (Pott ve ark., 2006)

Kalpdeki β_2 -AR'ler, β_1 -AR'den farklı olarak pertusis toksinine duyarlı inhibitör G (G_i) proteiniyle de kenetlidir. β_2 -AR/ G_i sinyalinin fosfoinositol 3 kinazı (PI3K) aktive etmesi fonksiyonel olarak G_s /AC/cAMP/PKA aracılı protein fosforilasyonunu inhibe ederek pozitif inotropik ve lusitropik etkileri azaltır. (Şekil 1.1) (Pott ve ark., 2006; Woo ve Xiao, 2012). Araştırmalar β_2 -AR/ G_i kenetlenmesi için ön şartın PKA-aracılı β_2 -AR fosforilasyonu olduğunu ortaya koymaktadır (Daaka, Luttrell, ve Lefkowitz, 1997). Bu demektir ki sürekli agonist stimülasyonu, β_2 -AR/G proteini kenetlenmesini G_s 'den G_i 'ye dönüştürür. Bu durum, zamana bağlı olarak G_s 'den G_i 'ye dönen β_2 -AR sinyalinin inotropik yanıtlar açısından reseptör desensitizasyonuna yardımcı olabileceğini düşündürmektedir.

Diğer önemli farklılık ise, β_1 -AR'lerin sürekli sinyalizasyonunun miyositlerde apoptozise neden olurken, β_2 -AR'lerin sinyalizasyonunun bu apoptotik sinyallere

karşı koruyucu etki göstermesidir (Şekil 1.2). β_1 -AR'lerin sürekli sinyalizasyonu, kardiyomyositlerdeki apoptozisi, PKA'dan bağımsız Ca^{+2} / kalmmodulin bağımlı protein kinaz II (CaMKII) aracılı mekanizma ile tetikler (W. Z. Zhu ve ark., 2003). β_1 -AR ile aktive olan CaMKII sinyalinin *in vitro* ortamda katekolaminle şiddetlenen kardiyomyosit hipertrofisine (Sucharov ve ark., 2006); *in vivo* ortamda ise uyumsuz kardiyak yeniden yapılanmaya (remodelling) neden olduğu gösterilmiştir (Bisognano ve ark., 2000).

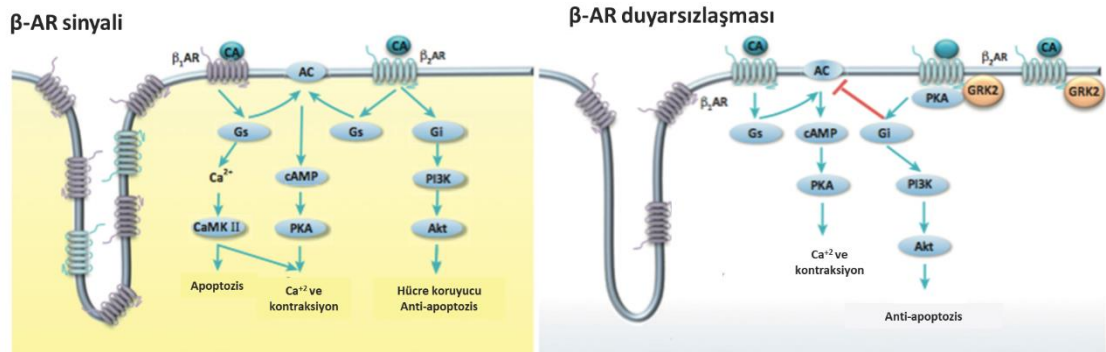
β_1 ve β_2 -AR'ler gibi β_3 -AR'ler de G protein ile kenetli reseptör ailesi üyesidir. β_1 -AR'lerin G_s , β_2 -AR'lerin G_s ya da G_i alternatif kenetinin aksine β_3 -AR'ler G_i proteini ile kenetlidir. Ayrıca β_2 -AR'lerin G_i 'ye bağlanması G_s ile bağlanma sonrası PKA aktivasyonu ve reseptör fosforilasyonuna bağlı olarak gelişirken; β_3 -AR'ler reseptör fosforilasyonuna gereksinim duymadan G_i proteini ile kenetlenir. Bu durum β_3 -AR'lerin en belirgin ayırıcı özelliğidir (Moens ve ark., 2010).

β_3 -AR aktivasyonu, β_1 - ve β_2 -AR'lere kıyasla daha yüksek katekolamin konsantrasyonlarında ortaya çıkar (Nantel ve ark., 1993). Aktivasyon AC inhibisyonuna yol açmadan, ventriküler myositlerde var olan eNOS ve nNOS (Niu ve ark., 2012) üzerinden nitrik oksit (NO) üretimini artırır ve ventrikül myokardındaki kontraksiyonu azaltır. Ancak bu durumun koruyucu bir yanıt mı yoksa kalp yetmezliği patolojisini daha da kötüleştirecek bir durum mu olduğu tartışmalıdır.

1.1.1.1. β -Adrenoseptörlerin Kardiyak Patolojilerdeki Rolü

İskemi ve konjesyon olan bir kalbin debisindeki azalma, santral sinir sistemi aktivitesinde artışa ve dolaşımda artan katekolaminlerin kalpteki β -AR'leri

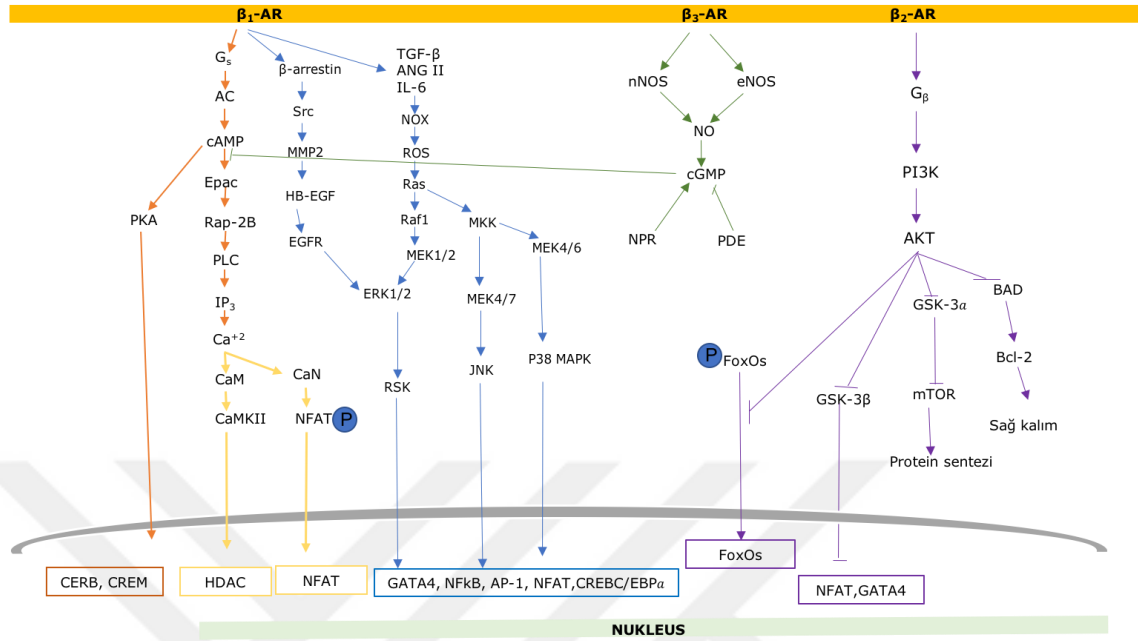
uyarmasına yol açar. Kalbin katekolaminlerle sürekli ve aşırı uyarılması, kardiyomyositlerde PKA ve GRK aracılı β -AR fosforilasyonunu tetikleyerek endositoza ve reseptör desensitizasyonuna neden olur. Aşırı uyarılma, GRK2 ve G_i 'nin ifadesinin artışına (upregülasyon), β_1 -AR'lerin ise ifadesinin azalmasına (downregülasyon) yol açar (Irannejad ve ark., 2013). β_1 -AR'lerin azalması ve duyarsızlaşması sonucu kalbin kasılma yanıtında azalma görülür. Kasılma yanıtındaki azalma daha fazla katekolamin salgılanması için santral sinir sistemini uyararak tabloyu daha da kötüleştirir. Kardiyak β_2 -AR'ler ise tam aksine yetmezlikli bir kalpte kardiyomyositlerdeki kasılma yanıtından sorumlu cAMP-PKA sinyalinin yeniden düzenlenmesine yardımcı olurlar. Bu esnada G_i proteininin upregülasyonu β_2 AR/ G_i sinyal yolağını güçlendirerek myosit apoptozisine karşı kalbi koruyucu etki gösteren protein kinaz B (Akt) aktivasyonunu tetikler ve kalpte kardiyomyopati gelişimi sürecini yavaşlatır (Q. Fu ve ark., 2017). [Şekil 1.2.]



Şekil 1.2. β -AR sinyal yolağı ve kalp yetmezliğinde β -AR duyarsızlaşması. CA, katekolamin; CaMKII, Ca^{+2} / kalmodulin bağımlı protein kinaz II, GRK2, G-protein reseptör kinaz 2; PI3K, fosfotidil inositol 3-kinaz (Q. Fu ve ark., 2017)

Myosit hipertrofisi, apoptozis ve fibrozis gibi kardiyak dokuda yeniden yapılanmaya neden olan önemli hücre değişikliklerinin altında yatan birçok mekanizma β -AR'lerin uyarılması ile tetiklenir. β -AR'ler aracılı mekanizmalar; G_s -mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal yolağı, G_s -AC-cAMP sinyal yolağı, Ca^{+2} -kalsinörin-NFAT/CaMKII-HDACs sinyal yolağı, PI3K sinyal yolağı, β_3 -adrenerjik sinyal yolağı, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS), interlökin-6/sinyal dönüştürücüleri transkripsiyon 3 aktivatörü (IL-6/STAT3) sinyal yolağı ve

dönüştürücü büyüme hormonu (TGF)-beta sinyal yolağı olarak sıralanabilir. [Şekil 1.3.]



Şekil 1.3: Kardiyak remodelinge aracılık eden beta adrenoseptör sinyal yolakları. Turuncu, G_s-AC-cAMP sinyali; Sarı Ca²⁺-kalsinörin-NFAT/CaMKII-HDAC sinyali; mavi, MAPK sinyali; Yeşil, Beta 3 adrenerejik sinyali; Mor, PI3K sinyali (Yang ve ark, 2014)

MAPK Sinyal Yolağı: MAPK'lar sitozolik sinyal proteinleridir ve hücre dışı sinyal düzenleyici kinazlar (ERK1/2), c-jun ekstraselüler sinyal düzenleyici kinazlar (JNK'ler) ve p38 MAP kinaz olmak üzere üç altfamilyadan oluşmaktadır (Asrih ve ark., 2013). Bu proteinler β-AR'ler ile uyarılarak aktive olurlar (Yang ve ark., 2014). β-AR uyarılması sonucu nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazları aktive olur ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi artar. ROS, kardiyak MAPK kaskadlarında önemli bir aktivatördür. Plazma membranına Raf-1 kinaz translokasyonunu sağlayan GTP'yi aktive eder. Sonrasında Raf-1, mitojen aktive protein kinaz kinaz (MEK) proteinlerini fosforiller ve sırasıyla ERK'leri aktive ederek patofizyolojik hipertrofiyi tetikler (Rose ve ark., 2010). Dahası, kalpteki β-AR'lerin aşırı uyarılması hem kardiyak anjiyotensin 2 (Ang II) üretimini hem de anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) aktivitesini artırır. Ang II, fosfo-ERK1/2'yi artırarak kardiyak hipertrofiye neden olur (Yang ve ark., 2014).

G_s-AC-cAMP sinyali: G_s/AC/cAMP sinyal basamağı klasik bir β -AR sinyal yolağıdır. G_s ile kenetli β_1 ve β_2 -AR'ler, AC'yi aktive ederek cAMP birikimini ve PKA aktivasyonunu arttırır. PKA, hücre farklılaşmasında aktif rol oynayan cAMP-cevaplı bağlayıcı proteinini (CREB) ve cAMP cevaplı element modülatörünü (CREM) fosforiller.

PKA, kardiyomyositlerdeki kardiyak dokuların yeniden yapılanmasına aracılık eden Ca^{+2} sirkülasyonunda aktif rol oynar. Aktif PKA, sarkolemmadaki L tipi Ca^{+2} kanallarını ve sarkoplazmik RyR2'leri fosforilleyerek hücre içindeki Ca^{+2} 'yi arttırır. Eş zamanlı olarak PKA tarafından fosforillenen PLN, sitozolik Ca^{+2} 'nin SR'ye geri alımına aracılık eden sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz (SERCA2a) inhibisyonunu azaltır (Fu ve Xiang, 2015).

PKA ayrıca PP1 inhibitör-1 (I-1)'i de aktive eder. Aktive olan I-1, SERCA2a'nın etkisini engelleyerek hücre içindeki Ca^{+2} 'yi arttırır. İlginç bir nokta, I-1 kalsinörini devre dışı bırakabilir. Bu durum kalbin yeniden yapılanmasına aracılık eden G_s-AC-cAMP yolağı ile Ca^{+2} -kalsinörin-NFAT sinyal yolağı arasında bağlantıyı sağlar (El-Armouche ve ark., 2006).

cAMP için tanımlanan başka bir hedef ise GTP'nin GDP'ye dönüşümünü katalizleyen cAMP tarafından doğrudan aktive edilen değişirici proteindir (Epac). Fu ve ark., Epac'ın tek izoformu olan Epac1 düzeyinin *in vitro* ortamda hipertrofik myokardiumda arttığını göstermiştir (Y. Fu ve ark., 2012).

Ca^{+2} -kalsinörin-NFAT/CaMKII-HDAC sinyal yolağı: Hipertrofik cevapların oluşmasında Ca^{+2} çok önemli bir sinyal molekülüdür. Kalbin kronik stimülasyonu sırasında β -AR aracılı PKA aktivasyonu ve RyR fosforilasyonu artar, hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu yükselir (Xiang ve Kobilka, 2003). Hücre içindeki Ca^{+2} artışı,

hipertrofik yollaklarda aktif rol üstlenen kalsinörün ve CaMKII sinyal faktörlerini aktive eder.

SR'den sitozole geçen Ca^{+2} , CaMKII/HDAC yolağını aktive ederken; sitozolik Ca^{+2} , kalsinörin-NFAT sinyalini aktive eder. Kalsinörin NFAT'ı defosforile etmesi sonucu NFAT proteinlerinin nükleusa translokasyonu gerçekleşir ve birçok hipertrofik gen aktive olur (Taigen ve ark., 2000). Ek olarak, CamKII, proapoptotik genleri arttırarak apoptozisi tetikler ve kardiyak remodeling riskini arttırır. Özetle, β_1 -AR'lerin uyarılması sonucu artan CaMKII yalnızca hücre içi Ca^{+2} artışına bağlı PKA aracılı fosforilasyonu arttırmakla kalmaz; PKA'dan bağımsız mitokondriyal ölüm yollarını da tetikler (W. Zhu ve ark., 2007).

PI3K yolağı: PI3K, hücre büyümesi ve hücre canlılığının sürdürülmesinde önemli bir faktördür (Cantley, 2002). PI3K yolağının başlıca hedeflerinden biri PKB olarak da bilinen serin/treonin kinaz Akt'dir. β_2 -AR'ler, G_i proteini aracılığıyla PI3K-Akt sinyal yolağını aktive ederek antiapoptotik etki gösterir ve kardiyomyositlerde hücrel koruma sağlar (W. Z. Zhu ve ark., 2001). Akt, proapoptotik BAD'ın Bcl-xl ve Bcl-2 (B hücreli lenfoma 2)'ye bağlanmasını inhibe ederek hücreyi apoptozise karşı korur (Brunet, Datta, ve Greenberg, 2001). Akt ayrıca eNOS'u aktive ederek NO üretimini arttırır (Sugimoto ve ark., 2007).

Akt'ın diğer önemli hedefi de insanda GSK-3 α ve GSK-3 β olmak üzere iki formu bulunan glikojen sentaz kinaz 3 (GSK-3)'tür. GSK-3 β atrial natriüretik peptid, GATA-4 gibi çok çeşitli kardiyak transkripsiyonel faktörleri fosforilleyerek kardiyak hipertrofiyi tetikler. Akt, β adrenerjik stimülasyon altındaki kardiyomyositlerde GSK-3 β 'yı etkisizleştirilerek kalbi koruyucu etki gösterir (Webb ve ark., 2010).

Beta 3 adrenerjik sinyal yolağı: Kalp yetmezliği olan bir kalpte β_1 -AR'ler downregülasyona uğrarken yapılan çalışmalarda β_3 -AR protein varlığının yetmezlikli

insan kalbinde sağlıklı insan kalbine göre daha fazla olduğu ve NO üretimini düzenleyen enzim seviyelerini arttırdığı gözlenmiştir (Massion ve ark., 2003; Moniotte ve ark., 2001). Bazı çalışmalar bu durumun aşırı sempatik uyarıya karşı koruyucu bir mekanizma olarak işlediğini belirtirken bazı çalışmalar tam tersi görüşü savunmaktadır. Yetmezlik durumunda β_3 AR/NOS/cGMP yolağı aracılığıyla gerçekleşen siklik nükleotid fosfodiesterazların (PDE) aktivasyonunun inotropik rezervi azaltarak sistolik fonksiyon bozukluğunu kötüleştirebileceğine ilişkin varsayımlar bulunmaktadır (Mongillo ve ark., 2006).

G_i proteini ile kenetlenen β_3 -AR'lerin uyarılması sonucu NOS aktive olur ve NO üretimi artar (Moens ve ark., 2009; Niu ve ark., 2012). Sentezlenen NO, guanil siklaza (GC) bağlanır ve NO-GC aktive olur. Aktif NO-GC, GTP'nin siklik guanozin mono fosfata (cGMP) dönüşümünü arttırır. cGMP, PKG'leri (cGMP bağımlı protein kinaz), cGMP kapılı katyon kanallarını ve PDE'leri hedef alır. PKG'nin aktivasyonu, L tipi Ca^{+2} kanallarını inhibe ederek hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonlarını düşürür. PDE'lerin aktivasyonu ise cAMP'yi hidroliz ederek adrenerjik uyarıyı sonlandırır. Bu tablo, β_3 -AR'lerin PDE üzerinden fizyolojik bir fren işlevi göstererek β -adrenerjik sinyalin baskılamasındaki rolünü açıklamaktadır.

1.2. Diabetes Mellitus

1.2.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı ve Sınıflandırılması

Diabetes Mellitus, insülin eksikliği ve/veya insülin aracılı metabolik bozukluklar nedeniyle gelişen hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. Populasyonlardaki büyüme, yanlış beslenme alışkanlıkları, obezite, yetersiz fiziksel hareketlilik, yaşlanma ve kentleşme gibi faktörler nedeniyle diabetik birey sayısı hızla

artmaktadır (Baltzis ve ark., 2014). Dünya çapında diabetin görülme sıklığı bölgeler arasında farklılıklar gösterse de, şu an birçok ülkede ölüme neden olan ilk beş hastalık içerisinde yer almaktadır. Geçmiş yıllarda yapılan projeksiyon çalışmalarına göre hasta popülasyonunun 2030 yılında 366 milyona yükseleceği öngörülmüşken (Wild ve ark., 2004); WHO'nun güncel verilerine bakıldığında 2014 yılında bile dünya çapındaki yetişkin diabet hastası sayısının 422 milyona ulaştığı görülmektedir (WHO 2016).

Diabet vakalarının büyük çoğunluğu iki kategoride sınıflandırılmaktadır. İlk kategori, Tip 1 diabet (T1D), diğer adıyla juvenil başlangıçlı diabet, mutlak insülin yokluğu ile ortaya çıkan otoimmün bir hastalıktır. İnsülin salgılayan pankreas β hücrelerinin otoantikorlar ile hasarı sonucu pankreastan insülin üretilemez. Bu sebeple T1D hastalarının tedavisinde insülin preparatları kullanımı şarttır. İnsülin bağımlı T1D, tüm vakaların %5-10'luk kısmını oluşturmaktadır. Erken yaşlarda ortaya çıkar, kontrol altına alınmadığı takdirde ketoasidoz ile sonuçlanabilir (Devendra ve ark., 2004). Hiperglisemiye eşlik eden poliüre, polidipsi, kilo kaybı, nadiren polifaji, bulanık görme ve yorgunluk, T1D'nin belirleyici semptomlarını oluşturur (Roden, 2016).

%80-90 oranında daha sık karşılaşılan ikinci kategori, Tip 2 diabet (T2D), dokulardaki insülin direnci ve/veya kan şekerini dengeleyecek insülin salgımının yetersiz kalması sonucu görülen bir patolojidir. Daha çok erişkin yaşlarda ortaya çıkmasına rağmen son dönemde çocuklarda da görülmeye başlamıştır (WHO, 2016). Genellikle metabolik sendrom kaynaklıdır. Spontan ketoasidoz gelişmez (American Diabetes, 2014; Roden, 2016).

Gebelik sırasında görülen gestasyonel diabet ile T1D ve T2D dışında kalan tüm diabet türlerinin sıralandığı Tip 3 Diabetin ise (diabeti tetikleyen bir hastalık, ilaç

kullanımı, enfeksiyonlar, diyabetle ilişkili bazı sendromlar gibi çeşitli faktörlerin sebep olduğu diyabet) görülme sıklığı diğerlerine oranla daha düşüktür (Roden, 2016).

Diyabet veya prediyabet tanısı; açlık plazma glukozu (APG), iki saatlik oral glukoz tolerans testi (OGTT) ve glikozillenmiş hemogloblin A1c (HbA1c) ölçümleri ile konur.

- Açlık kan plazma glukoz düzeyi 126 mg/dl veya üzerinde olan;
- Oral glukoz tolerans testinde glukoz yüklemesi sonrası glukoz düzeyi 200 mg/dl veya üzerinde olan;
- Rastgele bir zamanda ölçülen plazma glukoz düzeyi 200 mg/dl veya üzerinde olan;
- Hb1Ac düzeyi %6,5 veya üzerinde olan kişilere diyabet tanısı konulmaktadır (Türk Diyabet Programı 2015).

Diyabet vücudun birçok bölgesinde komplikasyonlara ve erken ölümlere sebep olmaktadır. Muhtemel komplikasyonları kalp krizi, inme, böbrek yetmezliği, sinir hasarı ve görme kaybı olarak sıralanabilir. (WHO 2016) Bu hastalarda aterosklerotik kardiyovasküler, periferik arteriyel ve serebrovasküler hastalıkların görülme sıklığı artar. Kan şekeriindeki yükselmenin kontrol altına alınamaması durumunda, hastalığın ileri evrelerinde, ketoasidoz veya nonketotik hiperosmolar sendrom gelişebilir (Roden, 2016).

Tüm diyabetik hastalarda gözlenen komplikasyonların temel nedeni yüksek kan glukoz konsantrasyonlarına eşlik eden mikro ve makrovasküler yan etkilere. Diyabetik hastalardaki ölüm olaylarının başlıca sorumlusu ise kalp ve böbreklerde gözlenen komplikasyonlardır.

1.2.2. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

Diabetin yol açtığı akut komplikasyonlar mortalite riskini artırır, yaşam kalitesini bozar. Yüksek kan şekeri, T1D ve T2D'de diabetik ketoasidozis ve T2D'de nonketotik hiperozmolar koma gibi yaşamı tehdit eden olguları tetikler.

Diabet zamanla kalp, damar, göz, böbrek ve sinirlerde doku harabiyetine neden olabilir, kalp hastalıkları ve inme riskini arttırabilir. Koroner arterlerde aterosklerotik plak oluşumunu hızlandırır.

Büyük arterlerdeki kan akışının azalması kapiller damarları da etkiler. Bu durumdan en çok etkilenen organların başında gözler ve böbrekler gelir. Diabet, ileri dönemde böbrek yetmezliğine ve diabetik retinopatiye sebep olabilir (WHO, 2016). Diabetik retinopati, retinadaki kılcal damarların harabiyeti sonucu ortaya çıkan, ileri dönemde körlüğe sebep olabilen önemli bir komplikasyondur. Uzun süreli diabet öyküsü olan hastalarda sinir harabiyeti (nöropati) sık rastlanan bir komplikasyondur. Diabetik nöropati ise periferik, somatik ya da otonomik sinir liflerinde oluşan hasar ile karakterize bir tablodur. Bu durum nöropati kaynaklı ayak ülserleri, enfeksiyon ve sonraki süreçte organ kayıplarına yol açmaktadır (Flyvbjerg, 2000).

1.2.2.1. Diabetik Kardiyak Disfonksiyon

Diabetik bireylerde, sıklıkla koroner arter hastalıkları ve hipertansiyondan bağımsız olarak ventriküler disfonksiyon ile karakterize kardiyomyopati gelişir (Dries ve ark., 2001). Bu tablo diabetin morbidite ve mortalitesini artırır (Boudina ve Abel, 2007; Picatoste ve ark., 2013). Avrupa Kardiyoloji Birliği verilerine göre

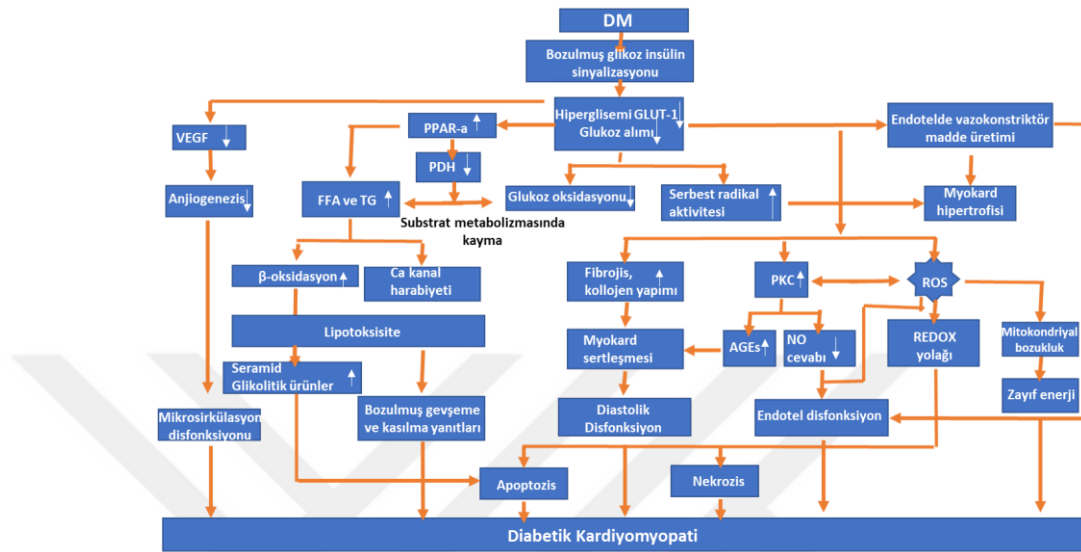
ekokardiyografide belirlenen sol ventrikül kütlesinin erkekler için 125 g/m², kadınlar için 110 g/m² üzerinde olması sol ventrikül hipertrofisi tanısı konulması için yeterlidir.

Diabetik kardiyak disfonksiyon riskini arttıran en temel olgu hiperglisemidir. Hiperglisemi, kalp yetmezliği gelişimini tetikleyen patojenik cevaplar ile sinerjik etki gösterir (Aneja ve ark., 2008; Maisch ve ark., 2011). Hiperglisemi sebebiyle fazla salgılanan insülin sonucunda insülin direnci gelişir. İnsülin direnci gelişen hastalarda dokuların insüline duyarlılığı azalır, dokularda istenilen cevabın oluşmaması sebebiyle kompanse mekanizmalar devreye girer ve pankreastan insülin salımı artar. Plazmadaki insülin konsantrasyonu yükselir ve hiperinsülinemi patolojisi tetiklenir (Fujimoto, 2000).

Hiperinsülinemi sonucu kardiyak dokuda serbest radikal oluşumu artar. Artan serbest radikaller miyokardial lipotoksisteye ve sitokin hasarına neden olur. Kalpte hipertrofi ve damarlarda endotel disfonksiyon gelişir. Bu tablo, diabetin ileri evrelerinde mikroanjyopati, fibrozis ve makroanjyopati oluşumu riskini arttırır. Tüm bu veriler, insülin direnci ve kronik kalp yetmezliğinin birbiriyle doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir.

Diabetik kardiyomiyopatinin erken döneminde; oksidatif stres, sol ventrikül doku yapısında ve kalsiyum transportunda bozukluklar ve kalp metabolizmasındaki değişikliklere bağlı asemptomatik diastolik fonksiyon bozukluğu görülmektedir. Sol ventrikül yapısındaki bozukluk sebebiyle sol ventrikül pasif gerimi hasarlanır, diastol sırasında kalp aktif gevşeyemez. Buna bağlı olarak sol ventrikül hipertrofisi ortaya çıkar. Diabetin ileri evrelerinde diastolik disfonksiyona ek olarak sistolik disfonksiyon gelişir. Sistolik disfonksiyon nedeniyle sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu deprese olur (Fang ve ark., 2004; Gelzini, 2014). Bu dönemde kardiyomyosit apoptozis ve nekrozisi, myokardiyal fibrozis ve otonomik nöropati ortaya çıkar. Miyokardiyal yapıda yeniden şekillenme kardiyak performansı bozan renin anjiyotensin sistemi ve sempatik sistem aktivasyonuna yol açar. Artan Ang II ve aldosteron kardiyak fibrozisi

tetikler, kollajen birikimi ve fibroblast artışı sonucu kardiyomyosit hipertrofisine neden olur. Son dönemde ise iskemi, hipertansiyon ve kalp kapak hastalıkları gelişebilmektedir (Bugger ve Abel, 2014; Maisch ve ark., 2011; Zile ve ark., 2004).

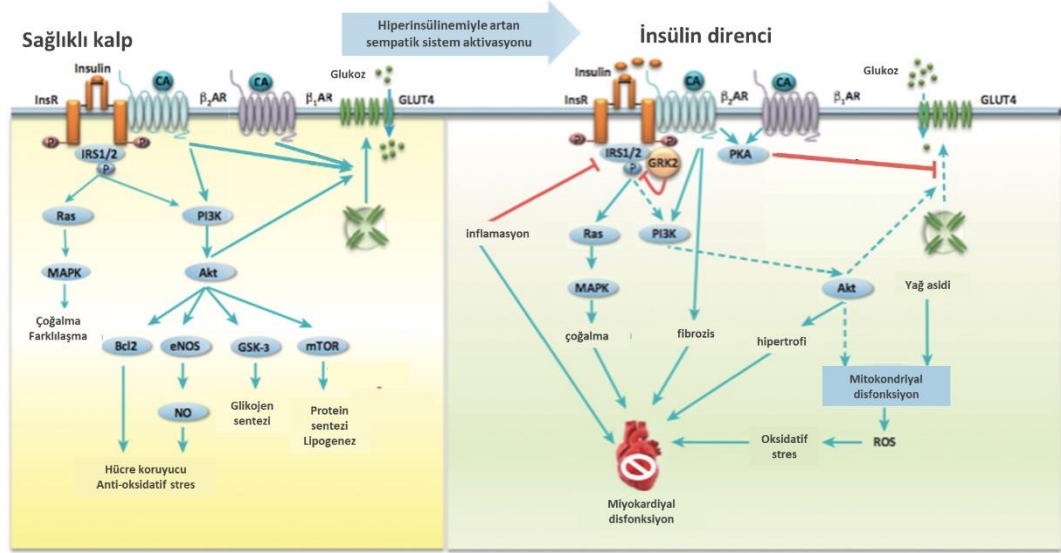


Şekil 1.4: Diabetik Kardiyomyopatinin patolojik mekanizmaları

AGEs, advanced glycation end-products; FFA, serbest yağ asidi; GLUT, glukoz taşıyıcı; NO, nitrik oksit; PDH, piruvat dehidrogenaz; PKC, protein kinaz C; PPAR-a, peroxisome proliferator-activated receptor-a; ROS, reaktif oksijen türleri; TG, trigliseridler; VEGF, damar endotel büyüme faktörü (Falcao-Pires ve Leite-Moreira, 2012)

1.2.2.1.1. Diabetik Kalpte β -Adrenerjik Yanıtverirlikte Gözlenen Değişimler ve Olası Mekanizmaları

İnsülin; glukoz metabolizmasının dışında kardiyovasküler sistem üzerinde de etki gösteren pleiotropik bir hormondur; kardiyak metabolizma, kardiyak büyüme dahil kalpteki bir dizi fonksiyonu düzenler. İnsülin reseptörleri kalpte oldukça bol miktarda bulunur (Riehle ve Abel, 2016). İnsülin ile aktive olan insülin reseptörleri PI3K-Akt yolunu uyarır ve Akt aracılığıyla glukoz taşıyıcı 4 (GLUT4) veziküllerini hücre yüzeyine harekete geçirerek dolaşımdaki glukozun kardiyomiyositlere girişini sağlar. Buna ek olarak, kısa süreli insülin stimülasyonu, prosurvival Akt'i aktive ederek apoptotik sinyali inhibe eder. (Contreras-Ferrat ve ark., 2010) [Şekil 1.5].



Şekil 1.5: Kalpteki insülin sinyali ve insülin direnci. İnsülin metabolik, mitojenik ve antiapoptotik yolları insülin reseptör (InsR)-insülin reseptör substratları 1 ve 2 (IRS1/2) kaskadlarının aktivasyonu aracılığıyla uyarır. Kalp yetmezliğinde insülin reseptörleri, Akt aktivasyonu ve GLUT4 transportunun bozulmasına neden olur. Mavi çizgiler, uyarı yolları; mavi kesik çizgiler, bozulmuş uyarı yolları; kırmızı çizgiler, aktivasyonu inhibe eden yollar; CA, katekolamin; SNA, sempatik sinir aktivitesi. (Q. Fu ve ark., 2017)

Diabetin en belirgin özelliği hiperinsülinemi ve beraberinde gelişen insülin direncidir. Kalpteki insülin direnci sonucu oluşan metabolik stres, Foxo-1 aracılı gen varlığının aktivasyonunu ve Akt sinyalini deprese ederek kardiyomyopati oluşumuna neden olur (Battiprolu ve ark., 2012). Kardiyomyopati gelişimine ek olarak inflamasyon, oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon da gelişir (Okonko ve Shah, 2015).

Ayrıca hiperinsülinemi sempatik sinir sistemi aktivitesinde artışa sebep olur. Bu yanıt, insülinin kardiyak kasılmayı tetikleyen β -AR sinyali üzerindeki inhibitör etkisine karşılık kompanse edici mekanizma olarak çalışır (Q. Fu ve ark., 2017; Straznický ve ark., 2016). Artan katekolamin miktarı ileri evrelerde insülin etkisini antagonize ederek kardiyak insülin direncini daha da kötüleştirir ve kalpteki enerji döngüsüne zarar verir (Mangmool ve ark., 2016).

Oksidatif stres, kalp yetmezliği sırasında görülen kardiyak yeniden yapılanmada rol oynayan başka bir faktördür. Adrenerjik sinyalin uyarılması, mitofüzyonda aktif görev yapan Drp1 enzimi aracılığıyla mitokondrinin parçalanmasına neden olur (Xu ve ark., 2016). Parçalanmış mitokondri genellikle daha az etkili bir enerji zincir reaksiyonu ile sonuçlanır. Özetle, β -AR'lerin akut uyarılması ROS üretimini arttırır (Bovo, Mazurek, de Tombe, ve Zima, 2015). Kalp yetmezliğinde santral sinir sisteminin aşırı uyarılması insülin direncini arttırır. Artan insülin direnci miyokardiumdaki glukoz kullanımını düşürür ve glukozun yağ asitlerine dönüşmesine neden olur (Nestel ve ark., 2017). Artan yağ asitlerinin yanması sonucu mitokondride ROS üretimi artar ve miyosit hasarı görülür (Q. Fu ve ark., 2017).

Sağlıklı bir kalpte, β -AR'lerin uyarılması ile artan enerji ihtiyacı sonucu, kardiyomyositlere insülin aracılı glukoz girişi artar (Mangmool ve ark., 2017). β -AR'lerin uyarılması glukoz alımında bifazik etkiye sahiptir. Akut β -AR uyarısı fizyolojik olarak kardiyak kasılmayı arttırırken, kronik uyarı kardiyak miyosit apoptozu, miyokardiyal hipertrofi ve kalp yetmezliği gibi birçok patolojiye sebep olan kardiyak yeniden yapılanmaya yol açar (Rockman ve ark., 2002). Aynı zamanda kardiyomyositlerin glukoz alımını zayıflatır ve kalpte GLUT4 sentezini inhibe ederek insülin direnci gelişmesine neden olur (Mangmool ve ark., 2016). Yapılan çalışmalar, özellikle kalpte, β -AR'lerin upregülasyonunun insülin rezistansı patogenezeine sebep olduğunu göstermiştir (Morisco ve ark., 2005; Morisco ve ark., 2007). Heather ve ark.'nın izole perfüze rat kalplerinde yaptığı çalışmada, izoproterenol infüzyonunun GLUT4 seviyelerini düşürerek insülin duyarlılığını azalttığı görülmüştür (Heather ve ark., 2009). Aynı şekilde miyokardiyal β -AR'lerin aşırı uyarılmasının kardiyomyositlerdeki (Morisco ve ark., 2005) ve kalp dokusundaki (Mangmool ve ark., 2016) insülin direncini arttırdığı bulunmuştur. β -AR'lerin kısa süreli uyarılması sonucunda aktive olan PKA/ Ca^{+2} bağımlı PI3K bağımsız sinyal yolağı, Akt'yi treonin 308 proteininden fosforile eder ve fosforile Akt hücre içine glukoz alımını sağlayan GLUT4'ün translokasyonunu aktive eder. Kronik uyarıda ise PKA/ Ca^{+2} ve PI3K bağımlı yollar aracılığıyla serin 473 proteininden fosforile olan Akt, insülin reseptörlerinin otofosforilasyonunu inhibe ederek glukozun hücre içine alınmasını

zorlaştırır (Morisco ve ark., 2005). Bu tabloda insülin bağımlı Akt sinyali bozulur ve miyokardın kalp yetmezliğinde alevlenen kardiyak strese karşı direnci düşer (Battiprolu ve ark., 2012). Bu sonuçlar, glukoz homeostazı ve insülin direncindeki değişikliklerin, sempatik sinir sisteminin aşırı aktivasyonu sonucu sürekli stimülasyona maruz kalan β -AR kaynaklı patolojik koşullarla ilişkili olduğunu göstermektedir.

Anormal insülin sinyali kardiyak hücrelerin sağ kalım oranını düşürür ve hipertrofi, fibroz gibi patolojilerin oluşumunu tetikler (Harmancey, Haight, Watts, ve Taegtmeyer, 2015). Yapılan çalışmalar, β -blokerlerle tedavinin izoproterenol ile indüklenen insülin direnci ve kardiyak disfonksiyonunu antagonize ettiği, tedavi sonrası gözlenen kardiyak çıkıştaki iyileşmenin glisemik kontrolü iyileştirdiği ve insülin gereksinimini azalttığını göstermiştir (Alves-Wagner ve ark., 2015; Ayers ve ark., 2012). Başka bir çalışmada ise β -bloker olan nevilolol ile yapılan çalışmada, insülin rezistansı gelişen transjenik ratlarda Akt aktivasyonu ve endotelial NO sentazın önemli ölçüde yükseldiği ve oksidatif stresin azaldığı belirlenmiştir (Ma ve ark., 2012). Streptozotosin (STZ) ile diabet yapılan hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda β -AR agonist stimülasyonu sonucu oluşan kardiyak inotropik ve kronotropik yanıtlarda belirgin bir azalma gözlenmektedir. Yaklaşık 30 yıl önce Savarase ve Berkowitz tarafından yapılan bir çalışmada, STZ-diabetik rat kalbindeki β -AR sayısının kontrole oranla %28 azaldığı ve bu azalma ile ilişkili olarak kalp atım hızının da %28 düştüğü gösterilmiştir (Dincer ve ark., 2001). Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada ise benzer şekilde STZ diabetik ratların sağ atriumunda β_1 -AR aracılı kronotropik yanıtların bozulduğu; β_2 -AR aracılı yanıtların ise korunduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada diabetik ratlarda kardiyak β_1 -AR'lerin yaklaşık %45 oranında azaldığı da belirlenmiştir (Altan ve ark., 2007).

Tüm β -AR'ler Gs proteinine kenetlenebilir, AC'yi uyarabilir, ikincil ulak cAMP'i üretebilir, ancak alt sinyal yollarını aktive etme kabiliyetlerinde önemli farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin kardiyak miyositlerde fetal genlerin ve apoptotik yolların

CaMKII'ye bağılı indüksiyonuna β_1 -AR'lar tarafından aracılık edilirken β_2 -AR'lerde bu etki gözlenmemiştir (Sucharov ve ark., 2006; W. Z. Zhu ve ark., 2003). Buna karşılık, β_2 -AR'lerin uyarılması hücre sağkalım sinyallerini aktive ederken, β_1 -AR'ler kardiyak miyositlerde apoptotik yolları tetikler (Communal ve ark., 1999). β -AR'lerin kronik uyarılması sonucu oluşan, insülin reseptörlerinin insülin aracılı otofosforilasyon yanıtı, insülin reseptörlerinin Thr fosforilasyonu ile ilişkilidir. Morisco ve ark., rat kardiyomyositlerinde β -AR'lerin Thr üzerinden insülin reseptörlerini fosforilasyonuna β_1 -AR'lerin eşlik ettiğini göstermiştir (Morisco ve ark., 2005). Bununla birlikte β_2 -AR'lerin uyarılması, kardiyomyositlerde insülin kaynaklı glukoz alımını ve GLUT4 translokasyonunu baskılamaktadır (Mangmool ve ark., 2017).

β_1 -AR aracılı inotropik sinyal yolağında, uyarılma sonucu AC aktive olmakta, buna bağılı olarak cAMP düzeyleri artmakta, cAMP PKA'yı aktive etmekte, PKA da L tipi Ca^{+2} kanalları, PLN, troponin I, RyR gibi hedef proteinleri fosforile ederek kardiyak yanıtı meydana getirmektedir. Diabetik ratlarda bu yolağın birçok noktasında farklılaşma olduğu bulunmuştur. Örneğin, STZ-diabetik rat kardiyomyositlerinde izoprenalin ile uyarılan AC aktivitesinin %56 oranında azaldığı bildirilmiştir (Nishio ve ark., 1988). Kalbin kasılma ve gevşeme yanıtı hücre içindeki serbest Ca^{+2} düzeyleri ile düzenlenmektedir. Hücre içi serbest Ca^{+2} düzeylerini belirleyen ise SR'den Ca^{+2} salımını ve geri alımını düzenleyen SERCA2a'dır. Öte yandan, fosfolamban SERCA2a aktivitesini düzenleyen eden bir fosfoproteindir (He ve ark., 1997). Fosfolambanın fosforilasyonu ile SERCA2a üzerindeki inhibitör etkinlik ortadan kalkmakta ve Ca^{+2} SR'ye geri alınabilmektedir. Bu da diastolik yanıtı katkıda bulunmaktadır. SERCA2a/PLN oranı özellikle diastolik fonksiyon yönünden önemli bir belirteçtir (Koss ve Kranias, 1996). Diabette SERCA2a ve fosforillenmiş fosfolamban protein oranının azaldığı bildirilmiştir (Connelly ve ark., 2007).

ER'nin katlanma kapasitesinin aşıldığı ve katlanmamış ya da yanlış katlanmış proteinlerin birikerek katlanmamış protein yanıtına yol açtığı ve bu proteinleri tespit eden transmembran alıcıların (sensör) tetiklediği bir durum olarak tanımlanan

Endoplazmik retikulum (ER) stres (Cummings ve ark., 2011), kardiyak fonksiyon açısından, özellikle de diastolik fonksiyonun sürdürülebilmesi için önemli bir parametredir. Tip 2 diabet modeli olan OLETF (Otsuka Long Evans Tokushima Fatty) ratlarda, ER stresin SERCA'nın ubikitinasyonunu arttırdığı, böylece pompanın ifadesinin azalmasına ve diastolik disfonksiyona neden olduğu bulunmuştur (Takada ve ark., 2012). Ayrıca, yüksek yağ diyeti ve düşük doz STZ injeksiyonu ile oluşturulan Tip 2 diabetik rat modelinde de ER stresin kardiyak disfonksiyona etkisi olduğu gösterilmiş ve bu bulgu diabetik kardiyomiyopati ile ilişkilendirilmiştir (Z. Liu ve ark., 2015).

1.2.3. Diabetes Mellitus'ta Tedavi Yaklaşımları

Günümüzde T1D gelişiminin önlenmesini sağlayabilecek etkin bir yöntem mevcut değildir. Buna karşın basit yaşam tarzı değişiklikleri ile T2D gelişme riski azaltılabilir. Amerika'da yapılan Diabet Önleme Programı (Diabetes Prevention Program, DPP) çalışmasında prediabetik insanların yaşam tarzında yapılan değişikliklerin diabet açısından göreceli riski %58 azalttığı bulunmuştur (Knowler ve ark., 2002).

T2D'li hastaların tedavisinde temel hedefler, kan glukozunun normal düzeylere indirilmesi, mikro ve makrovasküler komplikasyonların ve kardiyovasküler risk faktörlerinin en aza indirilmesidir. İkincil hedefler kilo kontrolünün sağlanması, kan basıncı ve lipid düzeyi gibi hastalık tablosunu kötüleştirecek risk faktörlerinin kontrol altına alınmasıdır. Bu nedenle hastaların, kan glukozu ve HbA1c seviyelerinin düzenli takip edilmesi ve hastalığın seyrine uygun bir tedavi şeması oluşturulması gerekmektedir (Shimizu ve ark., 2012).

Günümüzde, diabet tedavisinde kullanılan oral antidiabetik ilaç grupları; sülfonilüre türevleri, non-sülfonilüre sekretogları, biguanidler, thiazolidinedionlar (glitazonlar), α -glukozidaz inhibitörleri, SGLT-2 inhibitörleri, inkretinler (Glukagon benzeri peptid (GLP-1) reseptör agonistleri ve dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri), kannabinoid reseptör modölatörleri ve endojen amilin molekülü agonisti (pramlintide) olarak sıralanır.

Tedavide ilk sırada tercih edilen ilaç **biguanid** türevi metformindir. Metformin karaciğerin endojen glikoz üretimini azaltırken karaciğerde ve başta iskelet kası olmak üzere periferik dokularda insüline duyarlılığı artırır (Mizuno ve ark., 2008). Etkisini AMP-aktive protein kinaz (AMPK) aktivasyonu ile gösterir. Açlık sırasında AMPK aktive olur ve enerji harcayan mekanizmaları inhibe ederken enerji üreten mekanizmaları aktive eder (Zhang ve ark., 2016). Metformin, AMPK yolağını aktive ederek enerji üretimi için tüketilen kandaki glukoz konsantrasyonunu azaltır. İnsülin seviyelerine doğrudan etki göstermediğinden hipoglisemi riskini arttırmaz, kilo kontrolü sağlar. (Forcheron ve ark., 2009) Metformin, biguanid türevleri içerisindeki en güvenli ilaç olsa da hipoksi aracılı laktik asidoz yapabilir. (Grant, 2003; Krentz ve ark., 2008)

Sülfonilüreler diabet tedavisinde kullanılan en eski oral antidiabetik ilaç grubudur. Pankreas beta hücrelerinden insülin salımını arttıırırlar. Beta hücrelerindeki Sülfonilüre reseptörleri-1 (SUR 1) reseptörleri aracılığıyla K^+ kanallarını bloke ederler. K^+ akımının azalması sonucu membran depolarize olur ve voltaj duyarlı Ca^{+2} kanalları aracılığıyla hücre içine Ca^{+2} girişı artar, insülin salımı artar. Ancak anabolik etkili insülin düzeyinin artması nedeniyle hastalarda kilo artışı gözlenir. Ayrıca, hipoglisemi riski artar (Thule ve Umpierrez, 2014). Başlıca yan etkileri hipoglisemi, kilo artışı, hepatotoksisite, ender olarak agrünülositoz ve kemik iliği aplazisidir. T1D ve hipoglisemiye eğilimli olanlarda kontrendikedir (Mizuno ve ark., 2008).

Glinidler sulfonilüreler gibi pankreas beta hücrelerindeki SUR reseptörleri üzerinden insülin salınımını arttıırırlar. Sülfonilürelerden farklı olarak bu etkilerini ATP duyarlı K⁺ kanallarını kapatarak direkt gösterirler. Glinidler hızlı etkilidir ancak yarılanma ömürleri kısadır. Etki süreleri kısa olduğundan doz aralıkları da sıktır. Bu nedenle, daha çok postprandial hiperglisemi kontrol etmek için kullanılırlar. Sulfonilürelere oranla hipoglisemi riski azdır. Kilo artışına neden olurlar (Krentz ve ark., 2008; Mizuno ve ark., 2008).

İnce barsaktaki fırçamsı tüycüklerde bulunan α -glukozidaz enzimi, oligosakkaritleri ve disakkaridleri monosakkaridlere parçalayan enzimdir. **α -glukozidaz inhibitörleri**, bu enzimi geri dönüşümlü inhibe ederek sakkaritlerin barsaklardan emilimini azaltır. Karbonhidratların emiliminin yavaşlaması, atılımının hızlanması özellikle yemek sonrası kan şekerinin düşmesinde etkilidir (Krentz ve Bailey, 2005). Ancak bu grup barsakta gaz, şişkinlik, diyare gibi gastrointestinal yan etkilere sebep olur (Krentz ve ark., 2008; Mizuno ve ark., 2008; van de Laar ve ark., 2005).

Tiazolidindionlar, karbonhidrat ve lipid metabolizmasını düzenleyen insülin-sorumlu genleri (insulin response genes) aktive ederek insülin duyarlılığını arttıran peroksizam proliferatörü reseptör γ (PPAR γ)'nın seçici agonistidir. Bu ilaçlar etkilerini insülin varlığında gösterirler. GLUT taşıyıcılarının sentez ve hareketliliğini arttıarak kas ve yağ dokularına glukoz taşınmasına aracılık ederler (Bell, 2003). Nadiren de olsa hastalarda hepatotoksisiteye neden olabilirler. Ayrıca kandaki insülin artışına bağlı olarak anemi, kilo artışı ve ödem yapabilirler. Tedavinin devamında sıvı tutulumu ve kalp yetmezliği gelişebileceğinden kalp yetmezliği olan hastalarda kontrendikedir (Psaty ve Furberg, 2007). Ayrıca postmenapozal kadınlarda ve ileri yaştaki erkeklerde kemik kırığı riskini arttırdığı bildirilmiştir.

SGLT-2 inhibitörleri, sodyum glukoz kotransporterlarını (SGLT-1 ve SGLT-2) inhibe ederek etkisini gösterir. SGLT 1, ince barsakta glukoz emilimini arttırarak böbrekten filtre edilecek glukoz yükünü artırır. SGLT 2, proksimal tübülde bulunan glukozun %90'ının geri emilimini sağlar. SGLT inhibitörleri ince barsakta glukoz emilimini azaltır ve renal glukoz atılımını arttırır. Glukoz atılımının artışına bağlı kilo kaybı ve kan basıncında düşüş görülür. (Krentz ve ark., 2008; Tahrani ve ark., 2013). Böbrek yetmezliği hastalarında etkili değildir. Etki göstermeleri için hastaların glomeruler filtrasyon hızının yeterli olması gerekir. İdrar yolu enfeksiyonu ve genital yolların enfeksiyonuna neden olabilir (Krentz ve ark., 2008).

Amilin yemek sonrası pankreas β hücrelerinden insülin ile birlikte salgılanan bir peptid hormondur. Amilin varlığı pankreasın α hücrelerinden glukagon salınımını baskılar ve gastrik boşalmayı geciktirir. Amilinin sentetik analogu **Pramlinitid**, amilinin farmakodinamik özelliklerini taklit eder ve antidiabetik ilaçlarla kombine kullanımında kan şekerinin düzenlenmesine yardımcı olur (Singh-Franco ve ark., 2007). Subkutan olarak uygulanması gerektiğinden tedavide hasta uyuncu zordur. En sık görülen yan etkileri mide bulantısı, kusma, anoreksi ve hipolisemi olarak bildirilmiştir (Hollander ve ark., 2003).

Obezite tedavisinde kullanılan **selektif kannabinoid reseptör-1 (CB1) antagonistleri** endokannabinoid sistemi aktive ederek hipotalamustaki iştah kontrol merkezini baskılar. Obez hastalarla yapılan klinik çalışmalarda bir CB-a antagonisti olan rimonabantın metabolik sendrom riskini azalttığı gösterilmiştir. Ancak uzun süreli kullanımında ortaya çıkan psikiyatrik yan etkiler ve intihar eğilimine artış sebebiyle tedavide çok tercih edilmemektedir (Kennedy ve Khoo, 2005).

İnkretinler, glukagon süperfamilyasının barsaktan salgılanan üyeleridir (Waldrop ve ark., 2016). Glukoz-bağımlı insülinotropik polipeptid (GIP) ve glukagon benzeri peptid-1 isimli inkretinler, yemek sonrası dakikalar içinde salgılanarak

pankreas β -hücrelerinden insülin salgılanmasını arttıırırlar (Goud ve ark., 2016). İncretin etki üzerinde GLP-1, GIP'e oranla daha etkin rol oynadığından diabetes tedavisi için GLP-1 konsantrasyonunu arttııracak iki ilaç grubu geliştirilmiştir (Christensen, 2016). Bu gruplar, **GLP-1 agonistleri** ve **DPP-4 inhibitörleri** olarak adlandırılır. GLP-1 reseptör agonistleri, GLP-1 reseptörlerine reversibl bağlanarak insülin salgılanmasını doğrudan stimüle ederken; DPP-4 inhibitörleri, endojen GLP-1'in yıkılmasını engelleyerek etki süresini uzatır (Burgmaier ve ark., 2013). Her iki grup da T2D hastalarının kan şekerini ve HbA1c seviyelerini kabul edilebilir seviyelere düşürürler. Hipoglisemi riskleri çok düşüktür ve kilo aldırılmazlar (Scheen, 2012).

1.2.3.1. Diabetes Tedavisinde Kullanılan İlaçların Kardiyak Fonksiyonlar Üzerindeki Etkileri

Diabetes tanısı konulan bir hastada ilk tercih edilen ilaç, biguanid türevi metformindir. UKPDS isimli bir çalışmada İngiltere, İskoçya ve Kuzey İrlanda'daki 23 merkezde 5100 yeni tanı konmuş diabetes tanılı hastalar izlenmiş, uygulanan farklı tedavi yöntemlerinin etkinliği araştırılmıştır. Tek başına metformin kullanan T2D hastalarında diabetes profilindeki iyileşmeye paralel olarak diabete bağlı komplikasyonlarda belirgin azalma olduğu gösterilmiştir. Ayrıca miyokard infarktüsü ve kalp hastalığına bağlı mortaliteyi azaltmıştır (King ve ark., 1999). Bu azalma, çalışmanın bitirildiği tarihte istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamışken; çalışmanın tamamlanmasından 10 yıl sonra aynı hastalar yeniden değerlendirildiğinde, hastalığın erken döneminde iyi glisemik kontrol sağlanan gruptaki bireylerde makrovasküler komplikasyon gelişimi ve mortalitenin yüzdesinde istatistiksel anlamlı bir düşüş olduğu görülmüştür. Bu durum erken evrede metformin tedavisinin "metabolik hafıza" oluşturarak kardiyak komplikasyon gelişimine karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir (Jayawardene ve ark., 2014). Etki mekanizması tam anlaşılmasa da, deneysel veriler sonucunda metforminin enflamasyonu azaltıp vasküler geçirgenliği arttıırarak damar fonksiyonlarını iyileştirdiği düşünülmektedir. Ayrıca metformin,

plazminojen aktivatör inhibitörü-1 enziminin dolaşımdaki seviyelerini düşürür. Böylece aterotromboz gelişimi riskini azaltır (Grant, 2003; Krentz ve ark., 2008). Kalp dostu olmasına rağmen Üç yıl boyunca metformin tedavisi alan diabetik hastaların yaklaşık %50'sinde kabul edilebilir glukoz seviyelerine ulaşılırken; dokuz yıllık tedavide bu oranın %25'e gerilediği görülmüştür (Fisman ve Tenenbaum, 2015; Jayawardene ve ark., 2014; Turner, Cull, Frighi, ve Holman, 1999). Bu durum ömür boyu sürecek bir tedavide, kan şekerini düşürmek için metforminin tek başına yeterli olmayacağı anlamına gelmektedir. Metforminin uzun vadede kardiyovasküler yan etkisi olmayan başka bir antihiperglisemik ilaçla kombinasyonu yararlı olacaktır.

Rutin tedavide ilk akla gelen grup sülfonilürelerdir. Güvenli bir grup gibi görünseler de, kalp üzerindeki etkileri tartışmalıdır. Sülfonilüreler, ATP-bağımlı potasyum kanallarını kapatarak insülinotropik etki yaparken kalpte istenmeyen yan etkiler oluşturur; myokardial iskemi sırasında kanalların açılışını kısmen inhibe ederek Ca^{+2} akışını engeller ve hücreyi koruyan hiperpolarizasyonu önler (Kottenberg ve ark., 2014). Bir klinik çalışmada sekiz yıl boyunca birinci kuşak sülfonilüre olan tolbutamid kullanan hastaların plasebo veya insülin kullanan hastalardan iki kat daha fazla kardiyovasküler ölüm riski taşıdığı bulunurken; başka bir çalışmada 14 yıl boyunca birinci ve ikinci kuşak sülfonilüre kullanan hastalardaki kardiyovasküler risk oranında diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Fitchett, Udell, ve Inzucchi, 2016). Başka bir çalışmada ise yeni ve eski kuşaklar arasında kardiyovasküler etkinlik konusunda farklılık olabileceği en yeni sülfonilüre glimepridin gliburide oranla iskemiye karşı oluşan vazodilatasyon cevabını koruduğu, gliburidin ise bu cevabı azalttığı gösterilmiştir (Fitchett ve ark., 2016; Krentz ve ark., 2008). Metforminle kombine kullanımlarında mortalitede artışa sebep olduğu ve özellikle yaşlı ve karaciğer yetmezliği olan hastalarda laktik asidoz riskini arttırdığı görülmüştür (Rao, Kuhadiya, Reynolds, ve Fonseca, 2008).

ATP-bağımlı potasyum kanallarını kapatarak etki gösteren glinid bileşikleri de sülfonilürelere benzer kardiyovasküler riskler taşımaktadır. T2D hastalarda yapılan

linik çalışmalarda, metformin ile kombine kullanılan glinidlerin (özellikle glipizid) kardiyovasküler kaynaklı mortalite oranını arttırdığı gösterilmiştir (Mogensen ve ark., 2015).

Glitazonlar ise sıvı retansiyonu yaptığından ödem, inme, konjestif kalp yetmezliği ve tüm bu nedenlere bağlı mortalite riskini artırır. Sulfonilüre ve insülinle kombine kullanımda bu riskler daha da artar (Wagstaff ve Goa, 2002). Bu nedenle karaciğer hastalıklarında ve konjestif kalp yetmezliğinde (NYHA Class 1-4) kontrendikedir, ayrıca, 65 yaş ve üstü hastalarda dikkatli kullanılmalıdır (Graham ve ark., 2010; Lu ve ark., 2013).

Özetle, klinikte sıkça kullanılan antihiperglisemik ajanlar tedavi sırasında çeşitli kardiyovasküler yan etkilere yol açabilmektedir. Ayrıca son yapılan alışmalar, T2D tedavisinde etkin bir glisemik kontrolün mikrovasküler yan etkileri azaltsa da makrovasküler yan etkilerin azalmasında tek başına yeterli olmadığını göstermiştir (Waldrop ve ark., 2016). Bu noktalardan yola çıkarak tedavideki öncelikli konular; hipoglisemi ve kardiyovasküler komplikasyonları tetiklemeden iyi bir glisemik kontrol ve kardiyovasküler koruma sağlamaktır. Bu durumda kan şekerini düşürürken kardiyoprotektif etki de gösteren yeni antihipertansif ilaç gruplarına ihtiyaç vardır.

Diabette yeni tedavi yaklaşımı olarak değerlendirilen inkretinmimetikler, kardiyovasküler sistem üzerinde doğrudan ve dolaylı yollarla koruyucu etki gösterdiklerinden (Saraiva ve Sposito, 2014) istenilen kardiyak dostu profile sahiptir. Bu gruptaki ilaçlar, hipoglisemi riski olmadan insülin duyarlılığını artırır, kan şekerini düşürür, kilo alımına neden olmaz, tokluk hissi verir ve kardiyovasküler risk oluşturabilecek metabolik yollar üzerinde etki gösterir.

1.2.3.2. İnkretinmimetikler

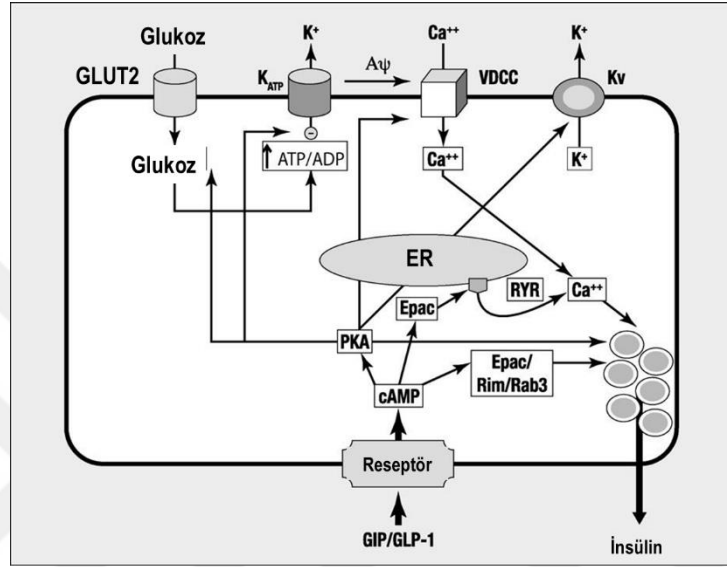
Oral yolla alınan glukozun intravenöz yolla verilen glukozu göre vücuttaki insülin salımını daha fazla arttırması inkretin etki ile açıklanmaktadır. İnkretinler, glukagon süperfamilyasının barsaktan salgılanan üyeleridir (Waldrop ve ark., 2016). Yemek sonrası dakikalar içerisinde salgılanarak inkretin etkiden sorumlu olan insülin salgılanması yanıtlarının %70'ini oluştururlar (Goud ve ark., 2016).

İlk izole edilen inkretin, GIP olmuştur. Duodenum ve proksimal jejunumdaki K-hücrelerinden sentezlenen GIP molekülü, insülinotropik etki ile kan şekerinin düzenlenmesinde aktif görev yapar. İntestinal bölgeden salgılanan en önemli inkretin ise GLP-1'dir. Bu peptid, jejunum ve distal ileumunda bulunan L-hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Kendisini sentezleyen gen ile pankreasın α -hücrelerindeki glukagon geni aynıdır. (Ranganath, 2008).

GIP, karbonhidrat, yağ ve protein alımı ile sentezlenmeye başlar. GLP-1 sentezi ise karbonhidrat, yağ ve daha az oranda da protein alımı ile artar. GIP ve GLP-1 sırasıyla %20 ve % 80 oranında inkretin etkiden sorumludur (Kluz ve Adamiec, 2006). Plazma yarı ömürleri 4-7 dakika arasındadır. Her iki inkretin de dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) enzimi ile 1-2 dakikada yıkılmaktadır (Hamdani ve ark., 2014).

GLP-1 sentezlendikten sonra pankreastaki G-protein çifti reseptörüne bağlanır. AC aracılığıyla cAMP üretimini stimüle ederek pankreas β -hücrelerinden insülin salgılanmasını arttırır. [Şekil 1.6] Pankreas α -hücrelerini duyarsızlaştırarak glukagon salgılanmasını ve hepatik glukoneogenezisi baskılar. Ayrıca iyon kanalları aracılığıyla membran geçirgenliğini arttırarak (Waldrop ve ark., 2016) pankreastaki β -hücrelerin gen ekspresyonlarını arttırır ve daha uzun ömürlü olmalarını sağlar. Böylece insülin aracılığıyla kandaki glukoz seviyesini düşürür (Burgmaier ve ark., 2013). Glukoz

bağımlı bir yanıt olduğundan hipoglisemi görülme riski düşüktür. Yemek sonrası gastrik motiliteyi yavaşlatarak ani kan şekeri yükselmelerini ve iştahı azaltır. Hipotalamik etki ile tokluk hissi uyandırır (Little ve ark., 2006). Bu etki, postprandiyal glukoz yükselmelerinin normalleştirilmesi ve homeostazi korumak için önemlidir (Dailey ve Moran, 2013).



Şekil 1.6: GLP-1 aracılı glukozla bağımlı insülin salımı mekanizması (Girard, 2008)

İnkretinlerin etkisi kısa sürelidir. Endotel hücrelerden salgılanan DPP-4 enzimleri, serbest GLP-1 ve GIP'ı 1-3 dk içerisinde inaktif formları GLP-1[9-36] ve GIP[3-42]'ye parçalar. Bu durum plazma yarı ömürlerinin kısa olmasına yol açmaktadır.

T2D'de GLP-1 ve GIP seviyeleri düşer ve inkretin etki azalır. Bu durum patolojiyi daha da kötüleştirir. İnkretin etki üzerinde GLP-1, GIP'e oranla daha etkin rol oynadığından diabetes tedavisi için gastrointestinal sistemdeki GLP-1 konsantrasyonunu arttıracak iki ilaç grubu geliştirilmiştir. Bu gruplar, GLP-1 agonistleri ve DPP-4 inhibitörleri olarak adlandırılır (Burgmaier ve ark., 2013). Her iki grup da T2D hastalarının kan şekerini ve HbA1c seviyelerini kabul edilebilir seviyelere düşürürler. En önemli özelliklerinden ikisi; sülfonilürelerden farklı olarak, hipoglisemi risklerinin çok düşük olması ve tiazolidindion ya da sülfonilürelerin aksine kilo aldurmamalarıdır (Scheen, 2012).

1.2.3.2.2. GLP-1 Analogları

GLP-1 reseptör agonistleri, doğal inkretinin fizyolojik etkilerini gösteren, DPP-4'e dirençli, sentetik, tam reseptör agonistleridir. GLP-1 reseptörlerine yüksek afiniteyle bağlanarak glukoz bağımlı insülin salımını artırıp glukagon salgılanmasını baskırlar; gastrik boşalmayı geciktirip iştahı azaltırlar (Goud ve ark., 2016). Pankreasta β -hücre sayısını artırıcı etkilerinin yanı sıra, bu hücrelerde apoptozisi de azaltırlar.

Klinikte en sık kullanılan analoglar; Eksenatid ve Liraglutid'dir. Agonistler, endojen GLP-1 ile karşılaştırıldığında, DPP-4'e daha dirençlidir. Bu nedenle etki süreleri endojen GLP-1'den uzun sürer.

Piyasaya verilen ilk GLP-1 agonisti Exenatid'dir. Exenatid HbA1c değeri %7'nin üzerinde olan T2D hastalarında bu değeri %0,5-1,0 oranında düşürür. Uzun etki süreli exenatid, glisemik kontrolde kısa etki süreli exenatide göre (HbA1c'de %1,5-1,9 arasında azalma) daha etkindir HbA1c'yi düşürmenin yanı sıra 3-5 kg'lık kilo kaybı, lipid profillerinde (Total kolesterol, LDL, TAG) ve hepatik aminotransferlerde iyileşme sağlar.

Tedaviye ilk başlandığında hastaların %30'unda görülen yan etkiler bulantı ve kusmadır. Yeni tedaviye başlayan hastalarda dozun kademeli olarak artırılması durumunda bu yan etkiler azalır. Gastrointestinal yan etkilerin dışında subkutan uygulama da hasta uyuncunu azaltan bir diğer faktördür. Haftada bir kez subkutan uygulamaya imkan tanıyan uzun etki süreli GLP-1 reseptör agonistleri geliştirilerek hasta uyuncunun artırılması amaçlanmıştır.

GLP-1 reseptör agonistleri, pankreatik duktal hücrelerinin proliferasyonunu tetiklediği için akut pankreatit riskini artırır. Bu nedenle pankreatik adenokarsinomlu hastalarda kontrendikedir. Ayrıca rodent ve insanlardaki tiroidlerde, C-hücre dizilerinde GLP-1 reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. Bu etkiye bağlı olarak, C-hücreli tiroid kanseri tanılarında da kontrendikedir. Doğrudan insülin salgılanmasını arttırmadığından hipoglisemi riski oldukça düşüktür, ancak diğer oral insülin salgılatıcılarla kombine kullanıldığında hipoglisemi riski artar.

GLP-1 reseptörleri pankreas dışında kardiyak ve vasküler dokularda da bulunmaktadır (Saraiva ve Sposito, 2014). Bu reseptörler klasik pankreas GLP-1 reseptörlerinden farklı olarak insülin ve glukagon üzerindeki etkilerinin dışında farklı mekanizmalara aracılık etmektedir (Ban ve ark., 2010; Ban ve ark., 2008).

1.2.3.2.3. DPP-4 İnhibitörleri

Tip2 DM hastalarında bozulmuş inkretin cevabı, DPP-4 enzim aktivitesi ile glukoz homeostazı birbiriyle ilişkilidir. Artan HbA1c seviyesi, DPP-4 aktivitesini arttırarak inkretin cevabın azalmasında rol oynamaktadır (Mannucci ve ark., 2005).

DPP-4 inhibitörleri, ekspresyonu T2D ile artmış dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) enzimini %80 oranında inhibe ederek, kandaki endojen GLP-1 ve GIP'in aktif konsantrasyonlarda kalış süresini 2-3 kat uzatır (Cuny ve ark., 2012). Etki süresi uzayan endojen GLP-1, pankreastan insülin salımını arttırır ve glukagon salımını baskılar. Pankreastaki β -hücrelerini arttırırken aynı zamanda apoptozise karşı korurlar. Yemek sonrası artan glukoz seviyelerini ve kandaki ani glukoz dalgalanmalarını düşürürler. Klinik çalışmalarda, HbA1c'yi %0,5-%1 arasında düşürdükleri gösterilmiştir (Jayawardene ve ark., 2014; Jose ve Inzucchi, 2012).

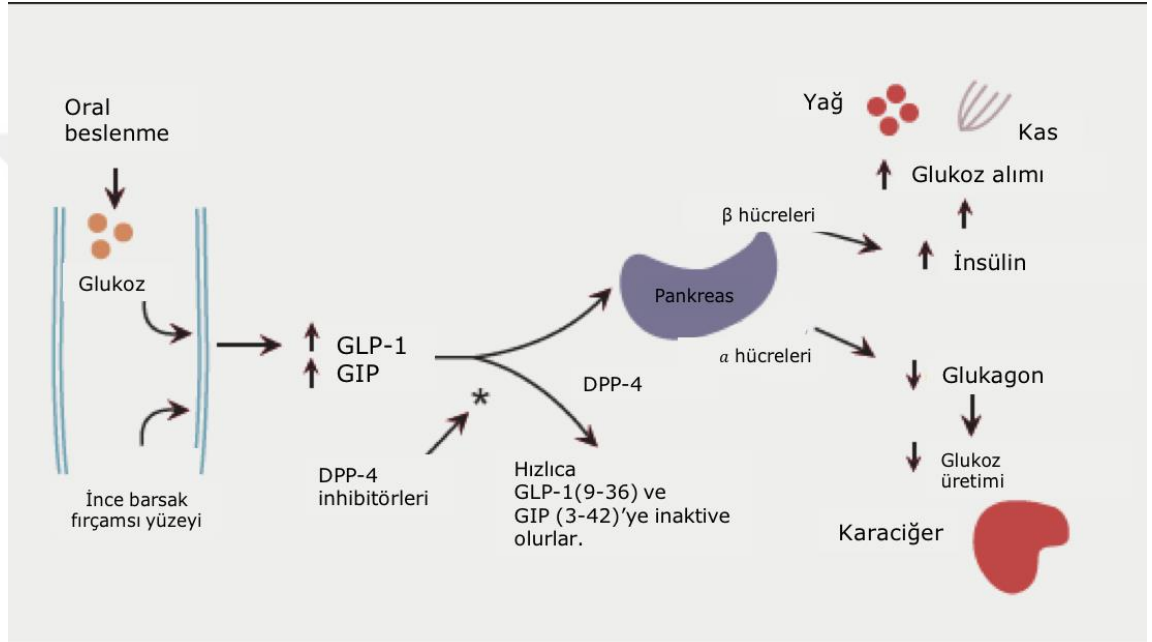
Kandaki GLP-1 seviyesini, GLP-1 reseptör agonistleri kadar yükseltmediklerinden (Waldrop ve ark., 2016), gastrik boşalmayı yavaşlatmazlar ve kilo üzerindeki etkileri nötrdür. İnsülin salımı üzerinde GLP-1 reseptör agonistleri kadar etkili değildir, ancak, gastrointestinal sistemdeki yan etkileri agonistlere göre daha ılımlıdır. Ayrıca ağız yoluyla kullanılmaları nedeniyle hasta uyuncu GLP-1 reseptör agonistlerine göre daha yüksektir. Ek olarak hipoglisemi riski daha düşüktür. Bu gruptaki ilaçlar da pankreatit ve pankreas kanserinde kontrendikedir. Ayrıca DPP-4 enziminin baskılanmasına bağlı baş ağrısı, nazofaranjit, üst solunum yolları enfeksiyonu, üriner sistem enfeksiyonu gelişebileceği bildirilmiş, ancak, klinikte bu yan etkilere çok fazla rastlanmamıştır (Jayawardene ve ark., 2014; Willemen ve ark., 2011).

Günümüzde klinikte kullanılmak üzere geliştirilen DPP-4 inhibitörleri Tablo 2’de gösterilmiştir. Bu grupta ilk onaylanan ilaç sitagliptindir. Sonrasında sırasıyla vildagliptin, saxagliptin, alogliptin ve linagliptin piyasaya çıkmıştır (Scheen, 2012). Vildagliptin dışında tüm DPP-4 inhibitörleri günde 1 kere kullanılır. Kilo aldurmamaları, iyi tolere edilebilmeleri, düşük hipoglisemi riski gibi avantajları sebebiyle obezite, yaşlılık, böbrek yetmezliği veya kardiyovasküler komplikasyon görülen T2D hastalarda, farklı bir gruptan antihiperglisemik ajanla kombinasyonları tercih edilir (Hinnen, 2015; Scott, 2017).

GLP-1 reseptör agonistlerinde olduğu gibi, DPP-4 inhibitörleri aracılığıyla artan endojen GLP-1’in kalp ve vasküler dokudaki GLP-1 reseptörlerini uyararak diabetli hastaların kardiyovasküler sisteminde direkt ya da indirekt yollarla koruyucu etkinlik gösterdiği düşünülmektedir.

1.2.3.2.3.1. Sitagliptin

T2D’de kullanılan sitagliptin (MK-0431); DPP-4 enziminin geri dönüşümlü kompetitif inhibitörüdür. 2006 yılında FDA onayı almıştır. Endojen GLP-1 ve GIP’in parçalanmasından sorumlu DPP-4 enzimini inhibe ederek inkretinlerin ömürlerini uzatır ve glukoz aracılı insülin cevabını artırır (Şekil 1.7).



Şekil 1.7: DPP-4 inhibitörlerinin etki mekanizması (McDougall ve ark., 2011)

Sitagliptin bu etkisini, artan aktif GLP-1 seviyeleri üzerinden gösterir. Pankreasın beta hücrelerindeki inkretin reseptörlerinin uyarılması sonucu hücre içi cAMP aracılı PKA artar ve artan PKA farklı hedefleri (GLUT 2, K⁺/ATP kanalı gibi) fosforile eder. Fosforilasyon sonucunda ER’den Ca⁺² salınımını uyarak insülin ekzositozunu artırır (Girard, 2008).

Şu ana kadar sağlık otoritelerince onaylanan sitagliptin müstahzarları Januvia, Glactiv, Tasavel ve Xelevia'dır (Dhillon, 2010; Plosker, 2014). Ağızdan günde bir kez 100 mg kullanılması yeterlidir. Biyoyararlanımı %87 oranındadır. 1-4 saat arasında plazma pik konsantrasyonuna ulaşır, plazma yarı ömrü 8-14 saattir. (Bergman ve ark., 2007).

Klinik veriler, tek başına sitagliptin kullanımının HbA1C düzeyinde %0,88'lik düşüş yaptığını göstermektedir. Kilo aldırılmaz; aksine sitagliptin kullanan hastalarda %1,0-1,5 oranında kilo kaybı gözlenmiştir (Montilla ve ark., 2014).

Sitagliptinin kardiyovasküler güvenilirliği ile ilgili en somut bilgiler kardiyovasküler hastalık gelişen T2D'li erişkinlerde (≥ 50 yaş) randomize, çift kör, plasebo kontrollü, çok uluslu (n>14,500) TECOS çalışmasından elde edilmiştir (Green ve ark., 2013).

Ortalama üç yıllık izlem sonucunda; tek başına sitagliptin kullanımının plaseboya kıyasla HbA1c düzeyinde hafif ancak anlamlı düşüş yaptığı; böbrek fonksiyonu üzerine plaseboyla karşılaştırıldığında klinik açıdan anlamlı bir yan etkisi bulunmadığı (Cornel ve ark., 2016); kalp yetmezliği kaynaklı hastaneye yatış oranında ve kardiyovasküler ölüm oranında önemli bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Green ve ark., 2013).

1.2.3.2.3. GLP-1'in Kardiyak Fonksiyonlar Üzerindeki Etkileri

Diabetin ileri evrelerinde görülen vasküler disfonksiyon erken ateroskleroza sebep olabilmektedir. GLP-1 reseptörleri, vasküler sistemde endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinde lokalize olmuştur (Goud ve ark., 2016). Klinik ve deneysel çalışmalar ile endotel hücrelerindeki GLP-1 ve GLP-1 reseptörlerinin doğrudan kardiprotektif etki göstererek T2D ve T1D'de endotelial fonksiyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (Cantini ve ark., 2016). Koska ve ark.'nın T2D hastalarında yaptığı çalışmada, exenatid kullanımının GLP-1 aracılı endotelial fonksiyonu doğrudan iyileştirdiği; kan şekeri ve lipid düşürücü etkisi ile disfonksiyonu dolaylı olarak engellediği; endotelial AMPK yolağı aktivasyonunu uyarıcı etkisi ile eNOS aracılı NO üretimini arttırdığı bildirilmiştir.

Endotelial disfonksiyon ise adezyon moleküllerinin ve kemokinlerin artışıyla karakterizedir. Damar duvarındaki monosit ve inflamatuvar hücrelerin artışı adezyona sebep olur (Simo ve Hernandez, 2016), NO mekanizması bozulur ve endotelial disfonksiyon ortaya çıkar (Goud ve ark., 2016). GLP-1, kardiyak fonksiyonları ve kardiyak glukoz metabolizmasını iyileştirerek oksidatif stres, apoptozis ve diabetin mikrovasküler bariyer disfonksiyonuna karşı kardiyak mikrodamarları korur (Saraiva ve Sposito, 2014). Kelly ve ark. GLP-1'in koruyucu mekanizmasının cAMP-PKA-aracılı yolak üzerinden rho inhibisyonu yaparak çalıştığını göstermiştir (Kelly ve ark., 2012).

GLP-1 reseptör agonistleri, sistemik ve pulmoner arterlerde, doz bağımlı ve geri dönüşlü endotel aracılı gevşeme yaparak kan basıncını düzenler (Katout ve ark., 2014). GLP-1'in kan basıncı üzerindeki etkisini; proksimal tübüldeki sodyum absorpsiyonunun inhibisyonu; atrial GLP-1 reseptör aracılı cAMP-EPAC-ANP yolakları aracılı ANP (atrial natriüretik peptid) salgılanması ve damar gevşemesi (M. Kim ve ark., 2013); düz kasların gevşemesi ve NO'dan bağımsız cGMP (cyclic

guanosine mono phosphate) aracılı damar gevşemesi (Jensen ve ark., 2015); NO aracılı gevşeme, gastrik boşalmanın gecikmesi ve iştahın baskılanması sonucu kilo verme (Chaudhuri ve ark., 2016) mekanizmaları üzerinden gösterdiği düşünülmektedir.

GLP-1 reseptörlerinin böbrek-kalp-renal sistem aracılı antihipertansif etkisi olduğu düşünülmektedir. Ancak bu mekanizma halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Kim ve ark. kalbin atriumundaki GLP-1 reseptörlerinin aktivasyonu ile Rap guanin nükleotid değişim faktörü (Rap guanine nucleotide exchange factor) 'un membrana translokasyonunun tetiklendiğini, bu mekanizmanın ANP salımını arttırdığını ve bunun sonucunda natriürezis ve cGMP aracılı düz kaslarda gevşeme ve kan basıncında düşme gözlemlendiğini bildirmiştir (M. Kim ve ark., 2013). Ancak bir sene sonra Skov ve ark. tarafından sağlıklı erkek bireylerde yapılan çalışmada, iki saatlik GLP infüzyonunun üriner sodyum atılımını belirgin bir şekilde arttırmasına karşın, proANP konsantrasyonlarında önemli bir değişikliğe yol açmadığı, GLP-1 infüzyonu durdurulduğunda ise sodyum atılımının azaldığı, ancak, proANP konsantrasyonunun değişmediği gösterilmiştir. Bu bulgulara dayanarak, GLP-1'in natriüretik etkisinin ANP ile ilişkili olmadığı öne sürülmüştür (Skov ve ark., 2014).

Diabetin ileri evrelerinde görülen kardiyovasküler yan etkilerden diğeri de iskemik kardiyomyopati ile kendini gösteren diabetik kardiyomyopatidir (Gelzinis, 2014). Kalbin atriumunda ve sinotrial düğümünde bulunan GLP-1 reseptörlerinin sol ventrikül yapısı ve fonksiyonu üzerindeki koruyucu etkisi birkaç mekanizma ile açıklanabilir.

(a) GLP-1 reseptör agonistleri, iskemi sonrası aktive olarak kalpte hasar oluşturan kinazları azaltır. Bu konuda yapılan iki ayrı çalışmada, rat kalbindeki GLP-1 aktivasyonunun cAMP inhibitörü, PI3kinase inhibitörü, p42/44 MAPK inhibitörü ve N-Ac-GLP-1(7-34)amide gibi kinazların seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Bose ve ark., 2005; Salling ve ark., 2012).

(b) GLP-1 reseptör agonistleri enerji üretimini arttırabilir. Moberly ve ark.'nın obez ve T2D hastalarda yaptığı araştırmada, açığa çıkan GLP-1'in myokardial glukoz alımını arttırdığı gösterilmiştir (Moberly ve ark., 2013).

(c) Kalpteki GLP-1 reseptörleri AC aracılı cAMP'yi aktive eder. Kuna ve ark. GLP-1 reseptörü/ligand kompleksi ile AC'yi endozomda gözlemlemişlerdir (Kuna ve ark., 2013). Vila Petroff ve ark. ise fare kardiyomyositlerinde, GLP-1 tedavisinin intraselüler Ca^{+2} miktarlarının yükselmese de cAMP seviyelerini arttırdığını göstermiştir (Vila ve ark.,2001). Sonraki yıllarda yapılan çalışmalar ile GLP-1 aracılı cAMP/PKA yolağının aktivasyonunun kardiyak myosit apoptozisini azaltarak kardiyomyosit oluşumunu arttırdığı ve eNOS aktivasyonu ile glukoz metabolizması regülasyonunu sağladığı doğrulanmıştır (Aravindhan ve ark., 2015; Esposito ve ark., 2016; Wang ve ark., 2013; Y. F. Xiao ve ark., 2011).

(d) GLP-1 reseptör aktivasyonu, etkin bir reaktif oksijen molekülü olan NADPH oksidaz aktivitesini baskılar ve glukotoksisiteyi önleyerek enerji kullanımı arttırır (Poudyal, 2016). Yüksek glukozlu ortamda inkübe edilen yetişkin kalpte GLP-1 aracılığıyla α_2 -AMPK aktivasyonunun indüklendiği ve NADPH oksidaz aktivitesinde rol oynayan ve yüksek glukoz ile artan p47phox translokasyonunun engellendiği ve NADPH'ın transmembran oksidaz komponenti NOX2 aktivasyonunu inhibe edildiği; bu sayede reaktif oksijen maddelerinin üretiminin baskılandığını bulunmuştur (Balteau ve ark., 2014; El-Benna ve ark., 2009).

Özetle GLP-1, kardiyoprotektif etkilerini, iskemi sonrası hasarın azaltılması, verimli enerji substrat kullanımının artması ve oksidatif stres/hasarın azaltılması üzerinden ortaya koymaktadır.

1.2.3.2.3.1. DPP-4 İnhibitörlerinin Kardiyak Fonksiyonlar Üzerindeki Etkileri

DPP-4 enzimi, yoğun olarak mikrovasküler dolaşımdaki endotelial hücrelerde lokalize olmuştur (Fadini ve ark., 2015). DPP-4-inhibitörleri, bu enzimleri inhibe ederek doğrudan ya da GLP-1 aracılı mekanizmalar ile vasküler sistem üzerinde koruyucu etki göstermektedir. Diabetin ileri evrelerinde görülen vasküler disfonksiyon erken ateroskleroza sebep olabilmektedir. Klinik ve deneysel çalışmalar ile endotel hücrelerindeki GLP-1 ve GLP-1 reseptörlerinin doğrudan kardiprotektif etki göstererek T2D ve T1D’de endotelial fonksiyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (Cantini ve ark., 2016).

Dahası, bu etki kardiyovasküler komplikasyon gelişmeyen hastalarda da gözlemlenmektedir. Widlansky ve ark., DPP-4 inhibitörlerinin, kalp yetmezliği ya da renal yetmezlik gelişmemiş T2D hastalarında, vasküler adezyonu düşürerek endotelial fonksiyonları iyileştirdiğini ve kardiyovasküler hastalık riskini azalttığını belirtmiştir (Widlansky ve ark., 2017).

Endotel hücrelerindeki DPP-4 enziminin inhibisyonunun damar gevşemesine doğrudan etkisi olduğu düşünülmektedir (Scheen, 2013; Widlansky ve ark., 2017). Saksagliptin (Mason ve ark., 2012) ve sitagliptin (L. Liu ve ark., 2012) ile yapılan çalışmalarda, artan GLP-1 ve GLP-1 reseptör ekspresyonlarının, cAMP aracılı PKA aktivasyonu sonucunda vasküler endoteldeki NO kullanımını arttırdığı gözlenmiştir. Shah ve ark.’nın vazokonstriktör maddelerle inkübe edilen aort ile yaptığı *in vitro* çalışmada, endoteldeki DPP-4’ün alogliptin ile inhibe edilmesi sonucunda, Src-Akt-eNOS aracılı NO salımı ve vasküler potasyum kanalları aktive olmuş ve hızlı vasküler gevşeme yanıtı ortaya çıkmıştır (Shah ve ark., 2011). Sitagliptinin endotelial fonksiyonlar üzerindeki etkisini araştıran çalışma sonuçları değişkenlik göstermektedir. Matsubara ve ark. kardiyak arter bozukluğu gelişen diabetik hastalarda sitagliptin tedavisinin hipoglisemik etki dışında endotelial fonksiyonu

iyileştirdiğini ve inflamasyonu azalttığını belirtirken (Matsubara ve ark., 2013), Hage ve ark. akut koroner sendromu olan diabet hastalarında sitagliptin kullanımı ile komplikasyonlarda anlamlı bir iyileşme olmadığını bildirmiştir (Hage ve ark., 2014).

Yapılan çalışmalar, DPP-4 inhibitörleri ile yapılan tedavinin inflamasyona yol açan biyobelirteçleri ve oksidatif stresi azalttığına işaret etmektedir. Ta ve ark., alogliptinin, diabetik apolipoprotein E (apoE) eksikliği olan farelerde, IL-6 ve IL-1 β ifade artışını inhibe ederek aterosklerotik plak oluşumunu önlediğini göstermiştir (Ta ve ark., 2011). Michishige ve ark., vildagliptinin, apoE eksikliği olan farelerdeki antiaterosklerotik etkisini makrofaj oluşumunu engelleyerek gösterdiğini ve bu etkinin GLP-1'den bağımsız geliştiğini bulmuştur (Terasaki ve ark., 2013). Akita ve ark., alogliptinin arteriyel enflamasyonu ve intima kalınlaşmasını azalttığını göstermiştir (Akita ve ark., 2015). Takai ve ark. diabetik ratlarda sitagliptin ve linagliptin tedavisinin Rac aktivasyonunu inhibe ederek oksidatif stres, kemokin üretimi ve monosit kümelenmesini baskıladığını ve vasküler gevşeme yanıtlarının arttığını belirtmiştir. Ayrıca linagliptinin vasküler koruma mekanizmasında daha etkin olduğunu göstermiştir. (Takai ve ark., 2014). Hu ve ark., sitagliptinin plazminojen aktivatör inhibitör tip 1 (PAI-1), hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1) 'in tümör nekroz faktör alfa (TNF α) indüksiyonunu inhibe ederek antiplatelet etki gösterdiğini (Hu ve ark., 2013), Khan ve ark. vildagliptinin fibrinolizis ve koagülan döngüsünü iyileştirdiğini göstermişlerdir (Khan ve ark., 2015).

DPP-4 inhibitörleri, kan basıncı üzerinde küçük ama anlamlı düşüşler sergilerler. Yamamoto ve ark, otonomik düzenleyici nöronların aktivasyonu nedeniyle, DPP-4 inhibisyonu tarafından güçlendirilen GLP-1 reseptör stimülasyonunun kan basıncını ve kalp atış hızını arttırdığını bildirmiştir (Yamamoto ve ark., 2002). Shah ve ark., DPP-4 inhibitörlerinin NO aracılı gelişen periferik vazodilatasyon ve periferik vasküler dirençte düşüş sonucu vasküler tonusta gevşeme yanıtı alındığını; bu yanıtın da kan basıncının kontrolüne yardım ettiğini göstermiştir (Shah ve ark., 2011). Ancak bu etki klinikte tam anlamıyla doğrulanamamıştır. T2D hastaları üzerinde yapılan

linik çalışmalarda metformin veya gliburid tedavisine eklenen saxagliptinin sistolik ve diastolik kan basıncı üzerinde istatistiksel açıdan anlamsız bir dūřuř yaptığı görülmüştür (Chacra ve ark., 2009; Goke ve ark., 2010). T2D hastaları ile yapılan klinik çalışmalarda sitagliptinin sistolik kan basıncı üzerinde bir miktar dūřuř yaptığı gösterilmiştir (Koren ve ark., 2012; Ogawa ve ark., 2011). Bosi ve ark., T2D hastalarda 24 haftalık 100 mg/gün vildagliptin tedavisinin diastolik kan basıncında anlamlı bir dūřuř yaptığını (0,3 mmHg) gösterse de; Dejager ve ark.'nın, farklı dozlarda (50 mg/gün, 100 mg/gün), 24 hafta boyunca, vildagliptin tedavisi alan T2D hastalar ile yaptığı çalışmada plasebo ile karşılaştırıldığında sistolik basınçta anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Bosi ve ark., 2007; Dejager ve ark., 2007).

DPP-4 enzimi renal sistem üzerindeki kapiller endotel hücrelerinde ve Na⁺/H⁺ exchanger-3 ile birlikte proksimal tübül hücrelerinin fırça membranında da bulunur. Obezite/aşırı beslenme ve enflamasyon durumunda DPP-4 artar (Aroor ve ark., 2014). DPP-4 inhibitörleri böbrek hasarını hafifleterek dolaylı yoldan kardiyovasküler komplikasyonlarda iyileşmeye sebep olur. Chavkovska ve ark. DPP-4 inhibitörlerinin üremik kardiyomyopati modelinde kardiyak matris proteinleri ve B-tip natriüretik peptitlerin (BNP) mRNA düzeylerini azaltarak kardiyak fibrozisi iyileştirdiğini göstermiştir (Chaykovska ve ark., 2011).

Bu grubun T2D hastalarında kullanımının kardiyovasküler güvenilirliğini araştırmak için (SAVOR-TIMI 53 (*Saxagliptin and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus*) (Scirica ve ark., 2013), EXAMINE (*Examination of Cardiovascular Outcomes with Allogliptin versus Standart of Care*) (White ve ark., 2013), ve TECOS (*Trial Evaluating Cardiovascular Outcomes with Sitagliptin*) (Green ve ark., 2015)) isimli   büyük randomize klinik çalışma yapılmıştır. EXAMINE ve TECOS çalışmalarında kardiyovasküler komplikasyonlarda (kardiyovasküler mortalite, myokard enfarktüsü, iskemik inme, kalp yetmezliği)  nemli bir artış ya da azalma gözlemlenmezken SAVOR-TIMI53 isimli çalışmada beklenmedik bir şekilde saxagliptin kullanımının kalp yetmezliği

sebebiyle hastaneye yatış insidansında artışa sebep olduğu belirtilmiştir (3,5% saxagliptin; 2,8% placebo) (Scirica ve ark., 2013). Yapılan ek araştırmalarda, saxagliptin kullanımı ile kalp yetmezliği arasındaki muhtemel ilişkinin kronik böbrek hastalığı, kalp yetmezliği geçmişi olan ve artmış natriüretik peptit düzeyleri olan hastalarda daha belirgin olduğu sonucuna varılmıştır (Scirica ve ark., 2015). Bu etki, alogliptin için yapılan EXAMINE çalışmasında gözlemlenmemiştir, ancak alt grup analizinde alogliptin kullanımının kalp yetmezliği öyküsü olmayan hastalar arasında kalp yetmezliği riski ile hastaneye yatış riskini arttırdığı gösterilmiştir (2,2% alogliptin; 1,3 placebo). Ancak bu risk önceden kalp yetmezliği olan hastalarda görülmemiştir (White ve ark., 2013).

Klinik çalışmalara benzer şekilde, T2D hastaları ile yapılan farklı meta analizlerde de mortalite ve akut koroner sendrom veya inme insidansında placebo grup ile DPP-4 inhibitörleri arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (J. Y. Kim ve ark., 2016; Wu ve ark., 2014). Diğer araştırma sonuçlarından farklı olarak, Savarese ve ark., DPP-4 inhibitörlerinin diabetik hastalarda kardiyovasküler mortalite ve inme üzerine bir etkisi olmadığını; kısa dönemde myokard infarktüsü riskini azalttığını ancak uzun dönemde bu etkinin kalktığını, uzun dönem DPP-4 inhibitörü kullanımının kalp yetmezliği riski ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (Savarese ve ark., 2015). DPP-4 inhibitörlerinin tek başına değerlendirildiği meta analizlerde vildagliptin (McInnes ve ark., 2015) ve linagliptinin (Rosenstock ve ark., 2015) majör akut kardiyovasküler yan etkileri ve kalp yetmezliği riskini arttırmadığı gösterilmiştir. Sonuç olarak saksagliptin haricindeki DPP-4 inhibitörlerinin kalp yetmezliği riski ile majör advers kardiyovasküler yan etkilerin insidansını arttırdığını gösteren veri bulunmamaktadır.

Mevcut veriler, DPP-4 inhibitörlerinin anti aterosklerotik etki gösterdiğini desteklemektedir. Mita ve ark. tarafından kardiyovasküler hastalık öyküsü olmayan T2D hastalarında yapılan iki çalışmada, sitagliptin (Mita, Katakami, Shiraiwa, ve ark., 2016) ve alogliptin (Mita, Katakami, Yoshii, ve ark., 2016) tedavisinin karotid arterde

ateroskleroza önlemede diğer geleneksel tedavilere göre daha etkin rol oynadığı gösterilmiştir.

Son olarak, DPP-4 inhibitörleri ile diabetten bağımsız hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda DPP-4 inhibitörlerinin pleotropik etki göstererek iskemi/reperfüzyon hasar kaynaklı bozulan sol ventrikül işlevlerinin iyileşmesinde olumlu etki gösterdiği ve infarkt büyüklüğünü azalttığı kanıtlanmıştır (Huisamen, ve ark., 2011; Sauve ve ark., 2010).

1.3. Amaç

Diabetin yol açtığı kardiyak değişiklikler, diabetik morbidite ve mortalitenin en önde gelen nedenleri arasındadır. Bu nedenle, hayat boyu tedavi gerektiren diabet hastalığında temel amaç hipoglisemi ve kardiyovasküler komplikasyonları tetiklemeden iyi bir glisemik kontrol ve kardiyovasküler koruma sağlamaktır. Ancak, geleneksel antihiperglisemik ajanlar ile kardiyovasküler yan etki oluşturmada kan şekeri homeostazını sağlamak pek mümkün olmamaktadır. Glisemiye düşürücü etkilerine ek olarak, kardiyovasküler komplikasyonları da azaltan DPP-4 inhibitörleri, bu noktada yeni nesil antihiperglisemik ajan olarak önem kazanmaktadır. Bu ilaçlar vasküler endotelyum, ateroskleroz, kalp yetmezliği, kan basıncı, lipid metabolizması ve kilo üzerinde doğrudan veya dolaylı yollarla etki gösterirler. Kan şekeri üzerindeki etkileri klasik antidiabetik ajanlar kadar fazla olmasa da, kombine kullanım ile hem bu eksiklikleri giderilip hem de diğer ajanların neden olabileceği kardiyovasküler komplikasyonlar azaltılabilir.

Diabetik kalpte ilk ortaya çıkan bozukluklar ise β -AR aracılı yanıtların azalmasıdır. Katekolaminlerle stimüle edilen β -AR aracılı yanıtların azalması

çoğunlukla reseptör duyarlılığı ve reseptör ifadesinin azalması ile ilişkilendirilmektedir. Ne var ki, DPP-4 inhibitörlerinin diabetik kalpteki β -AR'ler üzerindeki direkt etkileri tam olarak bilinmemektedir. Bu noktadan yola çıkarak projemizde, bir DPP-4 inhibitörü olan sitagliptinin, diabetik ratlarda kardiyak β -AR aracılı yanıtlar üzerine olası etkilerinin kan şekeri üzerindeki etkisinden bağımsız olarak araştırılması amaçlanmıştır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Gereçler

2.1.1. Malzemeler

- Steiert tipi yatay süperfüzyon sistemi (Hugo Sachs, Harvard, ABD)
- Langendorff kardiyomiyosit izolasyon sistemi
- Contour Plus Şeker Ölçüm Cihazı (Bayer)
- %95 Oksijen, %5 karbondioksit içeren gaz karışım tüpü
- -80°C Derin dondurucu (JOUAN VXS 380)
- Işık mikroskobu
- BioRad Wet/Tank blotting Systems (Mini Trans-Blot Cell®)
- Elektroforez aleti (SCIE-PLAS, İNGİLTERE)
- 4.0 ipek cerrahi iplik
- Güç kaynağı (SCIE-PLAS, İNGİLTERE)
- Jel görüntüleme sistemi (Kodak)
- Manyetik karıştırıcı/torrey pine scientific
- Su banyosu (MAY, Commat Ltd. Ankara, TÜRKİYE)
- Ultrasantrifuj (Beckman Coulter® - Type 50.2 Ti Rotor)
- Santrifüj (Hettich, EBA 12, Tuttlingen, ALMANYA)
- Santrifüj (Hettich Rotina 35R , Tuttlingen; ALMANYA)
- Otoklav (ALP , Japonya)
- Hassas terazi (Scaltec, SBA 31 Heiligenstadt, ALMANYA)
- Kaba terazi (Scaltec, SBA 61 Heiligenstadt, ALMANYA)
- Çeşitli hacimlerde otomatik pipetler (Eppendorf, Hamburg, ALMANYA)

- Su banyosu (MAY, Commat Ltd. Ankara, Türkiye)
- Vortex (Velp Scientifica, İTALYA)
- Pipet uçları (Standart ve *RNase-free* özellikte)
- pH metre (Mettler Toledo MP220; İSVİÇRE)
- Quick Santrifüj (Qualitron Inc, KORE)
- Likit Nitrojen Tankı
- Buz Makinası (Hosizaki Ice Maker, JAPONYA)
- Çeşitli cam ve plastik malzemeler (Standart ve *DNase Free* özellikte)
- Cerrahi makas ve pensler

2.1.2. Kimyasal Maddeler

- Sitagliptin (Januvia, Merck Sharp & Dohme, Spain)
- Streptozotosin (Sigma)
- Heparin (Oksopar, Koçak Farma)
- Krebs çözeltisi (Standart)
- Anti-beta 1 Adrenergic receptor antikor (ab77189, Abcam®)
- Anti-alpha Tubulin antikor (ab4074, Abcam®)
- Anti-beta 3 Adrenergic Receptor antikor (ab59685, Abcam®)
- ATP2A2/SERCA2 antikor (CST4388S, Sacem®)
- eNOS antikor (CST9572S, Sacem®)
- Anti-rabbit IgG, HRP linked antikor (CST7074S, Sacem®)
- EDTA (Sigma, St. Louis, ABD)
- Dietileter (Riedel, ABD)
- RIPA buffer (Sigma-Aldrich, ABD)
- Protease Inhibitor Cocktail (Sigma-Aldrich, ABD)
- TEMED (Sigma-Aldrich, ABD)
- PVDF membran (Bio-Rad, ABD)

- Nitrosellüloz membran (Bio-Rad, ABD)
- 10X Tris/Glisin/SDS Buffer (Bio-Rad, ABD)
- Akrilamid:Bisakrilamid (%30:%0.8) (Bio-Rad, ABD)
- Metanol (Sigma-Aldrich, ABD)
- Tris (Applichem, A2264, 1000, Darmstadt, ALMANYA)
- Borik asit (Sigma, E-6768, St. Louis, ABD)
- Röntgen filmi (blue, kodak, ABD)
- Film banyo developer solüsyonları (Konax, Türkiye)
- Film banyo fikser solüsyonları (Konax, Türkiye)
- Bromfenol blue (Sigma-Aldrich, ABD)
- Coomassie blue, staining solüsyon (Bio-rad, ABD)
- Destaining solüsyon (Bio-rad, ABD)
- PBS tablet (Sigma-Aldrich, ABD)
- GLP-1 Total Elisa Kiti (Milipore, ALMANYA)

2.2. Kullanılan Yöntemler

2.2.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda 250-300 g ağırlığındaki erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Araştırma süresince sıçanlar sıcaklığı ($22\pm1^{\circ}\text{C}$) ve ışıklandırılması (07.00-19.00 saatleri arası aydınlık 19.00-07.00 saatleri arası karanlık) kontrol altında tutulan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde barındırılmışlardır. Sıçanlar standart yem ve su ile kısıtlama yapılmaksızın (*ad libitum*) beslenmiştir. Bu çalışma için Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulundan 30.12.2014 tarih ve 2014-24-161 nolu karar ile onay alınmıştır. Ratlar üç gruba ayrılmıştır:

(i) Kontrol grubu: Sham grubu olarak belirlenen ratlara tedavi süresince oral gavaj yöntemiyle distile su uygulanmıştır (n=18).

(ii) Diabetik grup: STZ ile diyabet modeli oluşturulan ratlara tedavi süresince gavaj yöntemiyle distile su uygulanmıştır (n=22).

(iii) Sitagliptin tedavili diabetik grup: STZ ile diyabet modeli oluşturulan ratlara tedavi süresince gavaj yöntemiyle dört hafta süreyle 10 mg/kg/gün dozda sitagliptin uygulanmıştır (n=25).

2.2.2. STZ Diabet Modelinin Oluşturulması

Diabet, tek doz *intraperitoneal* (i.p) streptozotosin (STZ, 45 mg/kg) uygulaması ile oluşturulmuştur. STZ uygulamasını takiben 72 saat sonra kuyruktan kan alınarak glukoz ölçüm stripleri yardımıyla kan şekeri ölçülmüş ve kan şekeri 300 mg/dl'nin altında olan ratlar deney dışında bırakılmıştır.

2.2.3. Ön Çalışma: Sitagliptin Etkin Dozunun Belirlenmesi

Projenin amacı diabetik kardiyak bozukluklara sitagliptin tedavisinin, antihiperglisemik etkisinden bağımsız olası etkisini incelemek olduğu için, ön çalışma ile etkin sitagliptin tedavi dozunun saptanması hedeflenmiştir. Başlangıçta literatür verileri doğrultusunda sitagliptin tedavisinin 10 mg/kg/gün ve 30 mg/kg/gün (oral, günde bir kez) olarak dört hafta süre ile uygulanması planlanmıştır. Bu amaçla, 300-

350 g ağırlıkta 12 haftalık 20 adet erkek Sprague Dawley rat dört gruba ayrılmıştır: Kontrol (n=6); Diabetik (n=4); 10 mg/kg Sitagliptin tedavili diabetik (n=5); 30 mg/kg Sitagliptin tedavili diabetik (n=5).

Ön çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, seçilen her iki dozla da kan şekerinde anlamlı bir düşüş olmamıştır. Ayrıca, papiller kastaki izoprenalin kasılma yanıtları da her iki tedavi dozunda benzer bulunmuştur. Önceki literatür verileri sitagliptinin kalp üzerinde kan şekerinden bağımsız etkisini belirlemek için 5-10 mg/kg sitagliptin dozunun yeterli olduğunu ortaya koymaktadır (Lee ve ark., 2016; Reimer ve ark., 2012). Projenin amacı da, sitagliptin tedavisinin diabetik kalpteki olası etkilerini metabolik etkilerinden bağımsız olarak değerlendirmek olduğu için, sonraki deneylerde ratlara uygulanacak sitagliptin dozunun 10 mg/kg olmasına karar verilmiştir.

2.2.4. Sitagliptin Tedavisi

Diabet modeli oluştuktan sonra kardiyak komplikasyonların gelişmesi için sekiz hafta beklenmiştir. Bu süre sonunda sitagliptin tedavisine başlanmıştır. Literatür verileri ışığında ve ön çalışmada belirlenen 10 mg/kg/gün dozunda sitagliptin, bidistile suda çözülerek, her gün aynı saatte (12:00) oral gavaj yöntemiyle uygulanmıştır. Ratlara yapılan gavaj uygulamaları dört hafta boyunca her gün tekrarlanmıştır. Deney periyodu boyunca haftada bir kez kan şekeri ve beden ağırlığı ölçümü yapılmıştır.

2.2.5. Papiller Kas Deneyi

12 haftalık deney süresi dolduğunda ratlara eter anestezisi altında ötenazi uygulanmış ve kalpleri çıkarılmıştır. Sol ventrikülün içinden papiller kas izole edilerek yatay perfüzyon banyosuna asılmış ve uygun sıcaklık ve pH koşullarında Krebs çözeltisi (116 mM NaCl; 5 mM KCl; 2.7 mM CaCl₂; 1.1 mM MgCl₂; 0.33 mM NaHPO₄; 24 mM NaHCO₃ and 5 mM glukoz) ile bir saat boyunca inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda kasın maksimum gerim (L_{max}) değeri bulunmuş ve L_{max} 'ın %90'nı alınarak papiller kasın gerimi bu değere sabitlenmiştir. Papiller kasın perfüzyon hızı dakikada 5ml'ye, elektriksel stimülasyon değeri ise eşik voltajın iki katına ayarlanmıştır. Beta adrenerjik yanıtverirliği değerlendirmek için izoprenalin (nonselektif beta adrenerjik reseptör agonisti) (0.1nM-10µM) uygulanmıştır. Elde edilen değerlerin istatistiksel analizi yapılmış ve $p<0.05$ istatistiksel anlamlılık olarak kabul edilmiştir. Ratlardan alınan plazma örnekleri ve sol ventrikül parçaları da sonraki moleküler deneyler için likit nitrojende dondurularak -80°C'de saklanmıştır.

2.2.6. Langendorff Sistemi Deneyi

β_3 -AR yanıtverirliğini değerlendirmek için Langendorff sistemi kullanılmıştır. Eter anestezisi altındaki ratların kalpleri izole edilerek uygun sıcaklık ve pH koşullarında içinde buz olan Krebs çözeltisine konulmuştur. Daha sonra kalp aortadan Langendorff kanülüne takılarak çevresindeki dokular temizlenmiş ve 4.0 ipek iplikle aorta üzerinden bağlanmıştır. Bu şekilde sisteme takılan kalpler Krebs çözeltisi ile dakikada 10 ml hızla perfüze edilmiştir. Deney süresince perfüzyon sıvısının sıcaklığı sirkülatörlü su banyosu ile 37°C'de, pH'sı ise %95 O₂ + %5 CO₂ gaz karışımı ile 7.4'de sabit tutulmuştur. LVDP, LVEDP, +dp/dt, -dp/dt parametrelerini ölçmek için bir ucu basınç transducer'ına bağlı olan lateks balon boş

şekilde sol ventrikül içine yerleştirilmiş ve balonun içindeki hacim LVEDP 10 mmHg olacak şekilde ayarlanmıştır. Ardından apekse elektrot yerleştirilerek kalpler dakikada 300 atım olacak şekilde stimüle edilmiştir. Sonrasında kontrol, diabetik ve sitagliptin tedavili kalplerin CL 316,243'e (β_3 -AR reseptör selektif agonisti) (0.1pM-1µM) verdiği fonksiyonel yanıtlar ölçülmüştür. Elde edilen değerlerin istatistiksel analizi yapılmış ve $p<0.05$ istatistiksel anlamlılık olarak kabul edilmiştir. Ratlardan alınan plazma örnekleri ve sol ventrikül parçaları da sonraki moleküler deneyler için likit nitrojende dondurularak -80°C'de saklanmıştır.

2.2.7. Kalp Dokusundan Protein İzolasyonu

Dondurulmuş sol ventriküller likit nitrojen ile toz edilip içinde RIPA (*radioimmunoprecipitation assay buffer*) (1ml), Na_2VO_3 (sodyum ortovanadat, 200mM) ve PIC (protein inhibitör kokteyl, 100X) olan dibi konik tüpe alınmıştır. Ultrasonik homojenizatör ile homojenize edildikten sonra +4°C'de iki saat boyunca çalkalanarak ajitasyon (agitation) sağlanmıştır. Sonrasında +4°C'de 1300g'de beş dakika santrifüj edilerek selüler debris atılmıştır. Alınan supernatant kısmı +4°C'de 16.000g'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatant kısmı alınarak küçük parçalara bölünerek -80°C'de saklanmıştır.

Bu numunelerin protein miktarları da yukarıda bahsedildiği gibi BCA yöntemi ile tayin edilmiştir. Protein konsantrasyonu hesabı yapılarak belli miktarda steril su ve laemmli eklenen numuneler 37°C'de 30 dk bekletilerek denatüre edildikten sonra -20°C'de saklanmıştır.

2.2.8. Western Blot Deneyleri

2.2.8.1. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi

Mini protean (BioRad) elektroforez sisteminde kullanılacak olan SDS-Page jeller aşağıdaki tabloya göre hazırlanmıştır.

Ayırma jeli (*Running* jel):

% 8 konsatrasyonda akrilamid içeren jel hazırlanışı (2 jel için):	
ddH ₂ O	10,20 ml
%30 akrilamid, %0.8 bis-akrilamid	6 ml
4X1.5M Tris-HCl pH:8.8/ %0.4 SDS	5,63 ml
Gliserol	560 µl
%10 luk amonyum persülfat	110 µl
TEMED	10 µl

Yukarıdaki şekilde hazırlanan %8'lik ayırma jeli hava kabarcığı kalmayacak şekilde iki cam arasına, üstten 0.5cm boşluk kalacak şekilde doldurulduktan sonra jelin üstü isopropil alkol ile kapatılmış, böylece jelin hava ile teması kesilmiştir. Jelin polimerizasyonu için 45 dakika beklenmiştir. Jel polimerize olduktan sonra etil alkol uzaklaştırılmış ve jelin üst kısmı distile su ile yıkanmıştır.

Yükleme jeli (*Stacking* jel):

%4 lük konsantrasyonda akrilamid içeren jel hazırlanışı (2 jel için):	
ddH ₂ O	5,895 ml
4X1.5M Tris-HCl pH:6.8/ %0.4 SDS	2,3475 ml
%30 akrilamid, %0.8 bis-akrilamid	1,03125 ml
%10 luk amonyum persülfat	93,75 µl
TEMED	9,38 µl

Yukardaki şekilde hazırlanan %4'lük yükleme jeli (*stacking* jel) de cam levhaların üzerinde kalan boşluğa doldurulduktan sonra kuyuların oluşumunu sağlamak üzere tarak yerleştirilmiştir. Bir saat süre ile jelin polimerizasyonunu tamamlaması beklenmiştir. Jel polimerize olduktan sonra tarak çıkartılarak, jelleri taşıyan parça elektroforez tamponu ile (1XTGS) doldurulduktan sonra numuneler kuyulara yüklenmiştir. Başlangıçta 50 dakika 30 volt, sonrasında 70 dakika 120 voltta elektroforez yapılmıştır.

2.2.8.2. Proteinlerin Membrana Transferi

Elektroforez sonunda transblotting aleti (BioRad) ile 100V'da proteinler jelden PVDF membrana dört saatte transfer edilmiştir (transfer tamponu ile ıslatılmış sünger-filtre kağıdı-jel-membran-filtre kağıdı-sünger). Transfer proteinlerin denatüre olmasını engellemek amacıyla transfer buz içinde gerçekleştirilmiştir.

Transfer Tamponu:

Tris	2,9 g
Glisin	14,5 g
ddH ₂ O	800 ml
Metanol	200 ml

Transfer işlemi bittikten sonra membran bloklama tamponu içinde bir saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bloklama tampon çözeltisi, %3 BSA PBS'de çözülüp steril olarak süzölmüş ve üzerine %0.05 Tween 20 eklenerek hazırlanmıştır. Sonrasında membranlar bloklama tamponu içerisinde dilüe edilen *primer* antikor ile +4°C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. Ertesi gün membranlar oda ısısında üç defa 10'er dakika %0.1 tween 20 içeren TBST ile yıkanmıştır. Daha sonra membranlar bloklama tamponun içerisinde dilüe edilen *sekonder* antikor ile +4°C 'de iki saat inkübe edilmiştir. Tekrar oda ısısında üç defa 10'er dakika %0.1 tween 20 içeren TBST ile

yıkanan membranlara üç dakika kemilüminesans (ECL) çözeltisi uygulanarak karanlık odada X-Ray filmler üzerinde sinyaller belirlenmiştir. Sinyaller, Image J pogramı ile analiz edilmiştir.

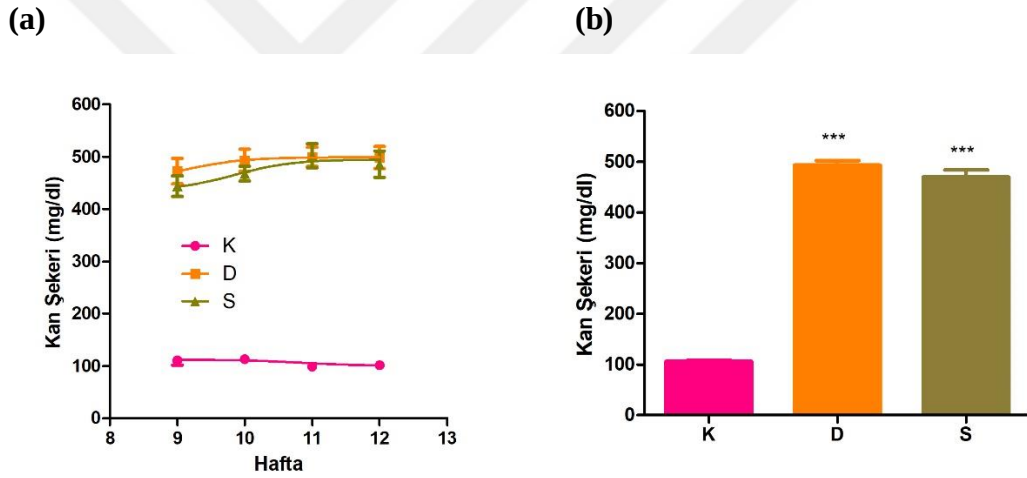
2.2.9. İstatiksel Analiz

Sonuçlar, belli sayıda (n) deney sonucundan elde edilen ortalama±standart hata olarak gösterilmiştir. İstatiksel analiz için One-way ANOVA, post-hoc olarak da Bonferroni testi uygulanmıştır. İstatiksel anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

3. BULGULAR

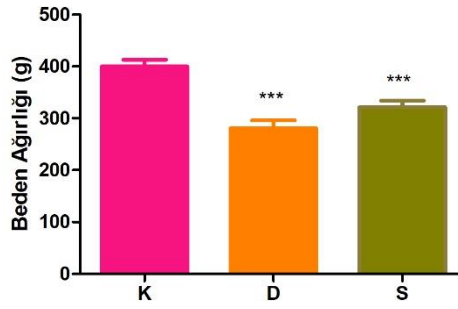
3.1. Morfolojik Özellikler

12 hafta sonunda diabet (D) ve tedavili (S) hayvanların kan şekerinde kontrol (K) grubuna göre anlamlı olarak artış gözlenirken (K: $107,6 \pm 2,64$; D: $507,8 \pm 10,17$; S: $479,7 \pm 13,35$; mg/dl, $P < 0,0001$); diabet ve tedavili grup arasında istatistiksel olarak farklılık bulunamamıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. (a) Deney gruplarının haftalık kan şekeri değişimleri. **(b)** 12 hafta sonunda deney gruplarının ölçülen kan şekeri değerlerinin değerlendirilmesi. K, Kontrol grubu (n=13); D, Diabet grubu (n=12); S, Sitagliptin tedavili diabet grubu (n=11); ***, $P < 0,0001$, kontrol grubuna göre farklılık.

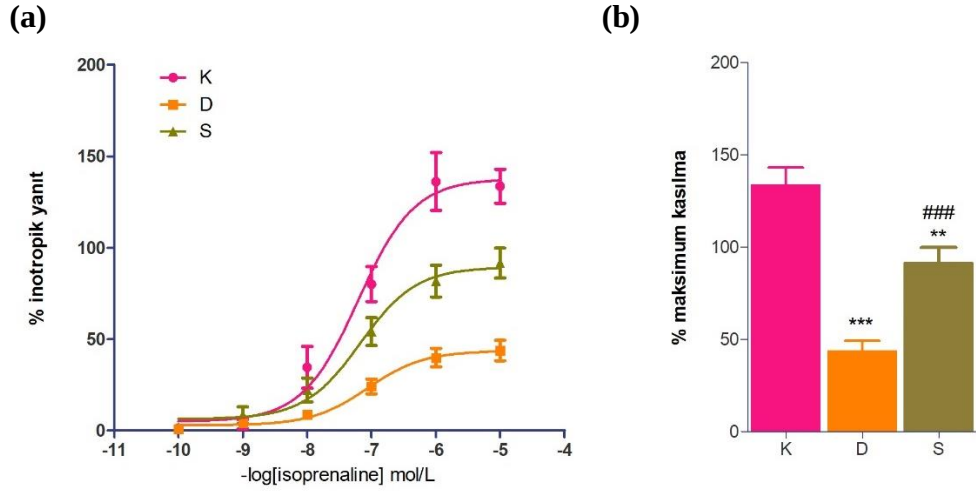
Diabet modeli oluşturulan hayvanlarda kan şekerindeki artış ile birlikte kilo kaybı gözlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diabet ve tedavili hayvanların beden ağırlıklarında anlamlı bir düşüş gözlenirken (K: $394,7 \pm 11,95$; D: $291,5 \pm 12,81$; S: $318,8 \pm 9,37$; g, $P < 0,0001$); diabet ve tedavili grup arasında istatistiksel olarak farklılık bulunamamıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. 12 hafta sonunda deney gruplarının beden ağırlıklarının değerlendirilmesi. K, Kontrol grup (n=13); D, Diabet grubu (n=12); S, Sitagliptin tedavili diabet grubu (n=11); ***, $P<0,0001$, kontrol grubuna göre farklılık

3.2. İzole Papiller Kas Preparatında İzoprenalin ile Elde Edilen Farmakodinamik Bulgular

12 haftalık diabet sonucunda, papiller kas preparatındaki izoprenalin (selektif olmayan β -AR agonisti) kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinin ($0,1nM-10\mu M$) E_{max} değeri ve pozitif inotropik yanıtlarında belirgin bir azalma görülmüştür. Dört hafta boyunca sitagliptin uygulanan 12 haftalık diabet grubunda ise diabet grubuna göre E_{max} değeri ve pozitif inotropik yanıtta anlamlı bir artış sağlanmıştır; ancak, kontrol grubunun düzeyine ulaşamamıştır (K: $233,6\pm9,30$; D: $143,8\pm5,55$; S: $191,6\pm8,19$; %, $P<0,001$) (Şekil 3.3 (a),(b)).

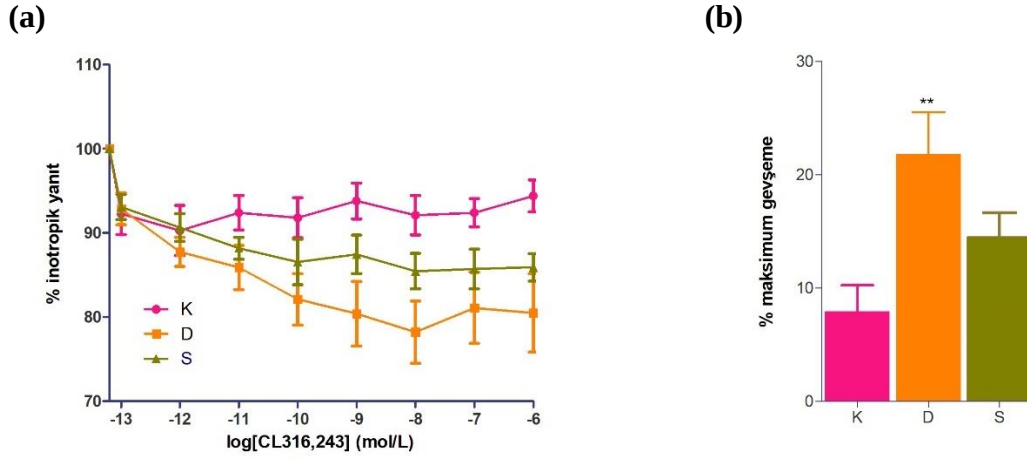


Şekil 3.3. (a) 12 hafta sonunda deney gruplarından izole edilen papiller kas preparatlarına ait izoprenalin konsantrasyon-yanıt eğrileri. **(b)** 10 μ M iso konsantrasyonuna ait Emax değerleri. K, Kontrol grup (n=5); D, Diabet grubu (n=9); S, Sitagliptin tedavili diabet grubu (n=7); ***, P<0,0001, kontrol grubuna göre farklılık; **, P<0,001, kontrol grubuna göre farklılık; ###, P<0,0001, diabet grubuna göre farklılık

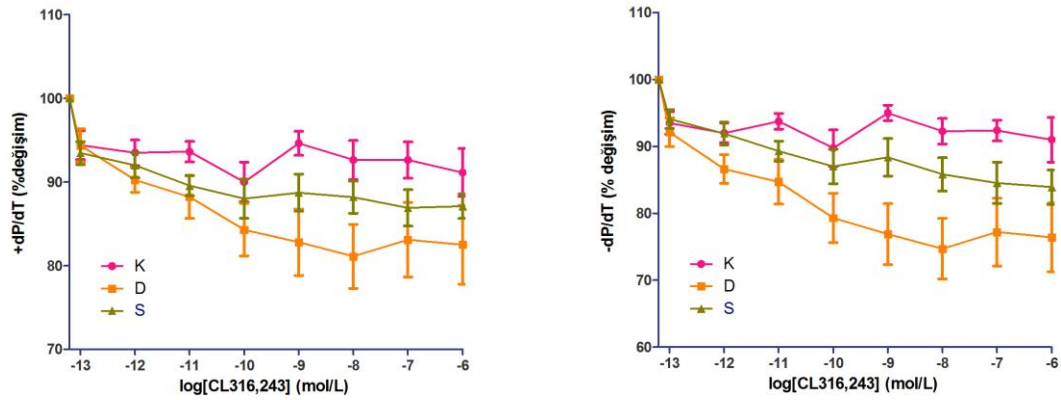
3.3. İzole Langendorff Kalp Preparatında β_3 -AR Agonisti CL 316,243 ile Elde Edilen Bulgular

12 hafta sonunda Langendorff sistemine asılan kalpte β_3 -AR agonisti CL 316,243 kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrisinde (0,1pM-1 μ M) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında diabet grubunun negatif inotropik yanıtı anlamlı olarak artmıştır (K: 92,10 $\pm$ 2,32; D: 78,20 $\pm$ 3,70; S: 85,45 $\pm$ 2,10; %, P<0,001). Dört hafta boyunca uygulanan sitagliptin tedavisi sonucunda ise diabetik gruba göre anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 3.4 (a), (b)).

Beklenildiği gibi diabet sonrası azalan +dP/dt ve -dP/dt değerleri, tedavi sonrasında bir miktar düzelse de bu düzelme kontrol seviyesine ulaşamamıştır (Şekil 3.5 (a), (b)).



Şekil 3.4. (a) 12 hafta sonunda deney gruplarından izole edilen kalbe ait CL 316,243 konsantrasyon-yanıt eğrileri. **(b)** 0,01 μ M CL 316,243 konsantrasyonuna ait Emax değerleri. K, Kontrol grup (n=10); D, Diabet grubu (n=10); S, Sitagliptin tedavili diabet grubu (n=11); **, P<0,001, kontrol grubuna göre farklılık

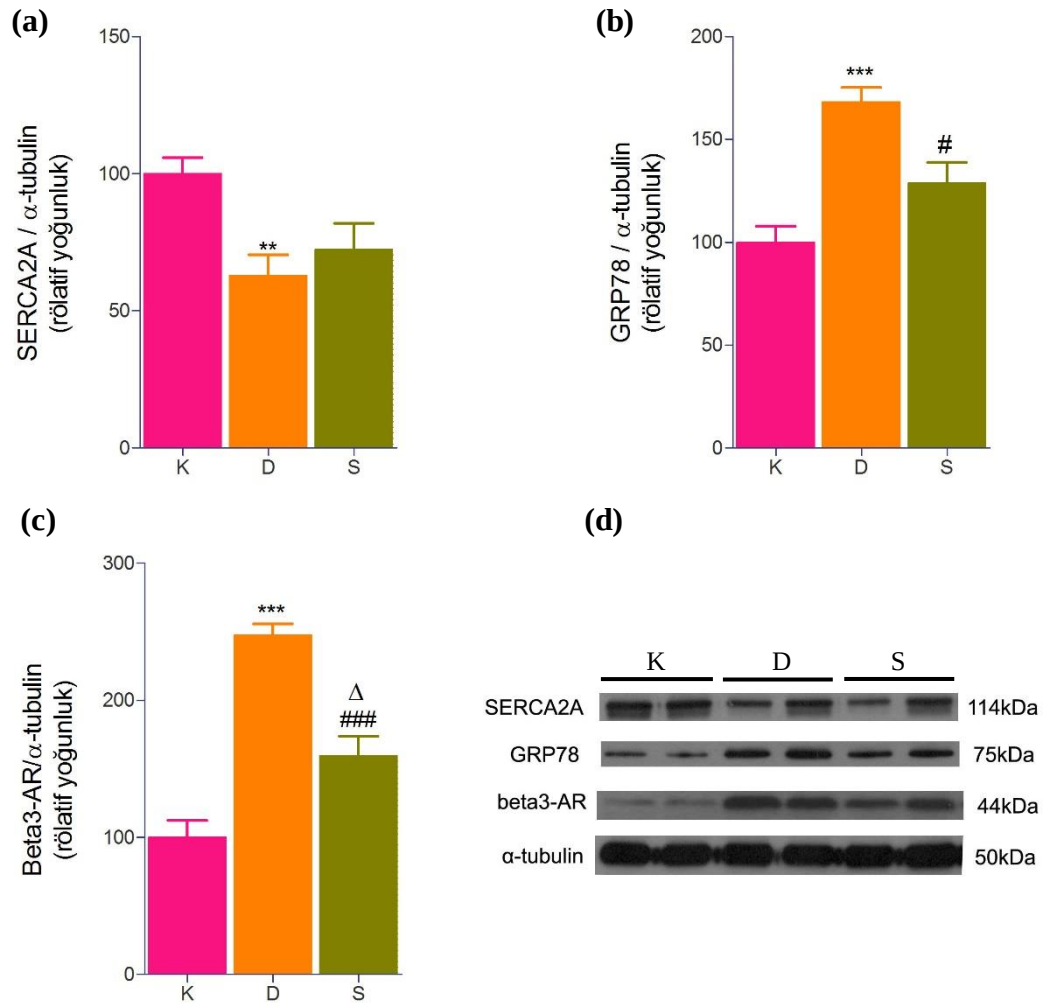


Şekil 3.5. (a) +dP/dt değerleri **(b)** -dP/dt değerleri

3.4. eNOS, fosforile eNOS, β_3 -AR, GRP78 ve SERCA2a Protein İfadeleri

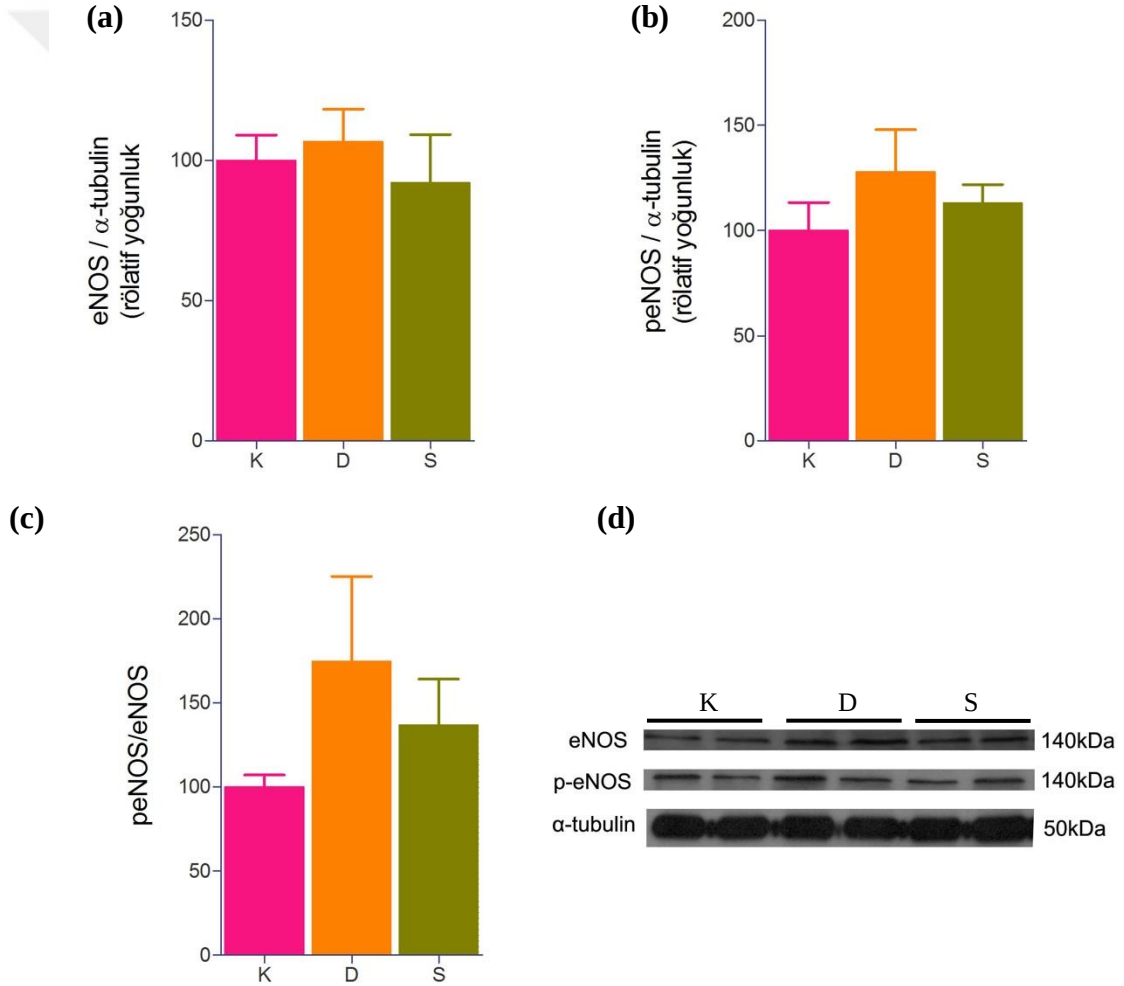
İlk olarak kontrol, diabetik ve sitagliptin tedavili diabetik gruplarda SERCA2a, β_3 -AR ve GRP78 proteinlerine spesifik primer antikorlar kullanılarak sözü edilen proteinlerin düzeyleri değerlendirilmiştir. Özellikle diyastolik disfonksiyonun belirteçlerinden biri olarak kabul edilen SERCA2a ifadesi diabetik grupta azalmış gözlenmiştir (K: $108,65 \pm 14,54$, D: $62,9 \pm 7,59$; %, P<0,01) ve sitagliptin tedavisi ile bir miktar iyileşme gözlenmiştir (K: $108,65 \pm 14,54$, D: $62,9 \pm 7,59$; S: $72,41 \pm 9,47$; %,

$P>0,05$) (Şekil 3.6. (a)). ER stresi belirteci olan GRP78 protein ifadesi diabetik grupta artmış (K: $101,81\pm28,39$; D: $168,14\pm7,13$, %, $P<0,001$) sitagliptin tedavisi ile ise bu artış düzelmiştir (D: $168,14\pm7,13$; S: $128,88\pm10,06$; %, $P<0,05$) (Şekil 3.6. (b)). Diabet grubuna ait β_3 -AR ifadesi belirgin olarak artmış (K: $87,46\pm24,97$; D: $247,65\pm8,07$; %, $P<0,001$), tedaviye bağlı olarak ise azalmıştır (K: $87,46\pm24,97$; D: $247,65\pm8,07$; S: $159,60\pm14,24$; %, $P<0,05$) (Şekil 3.6. (c)).



Şekil 3.6. (a) SERCA2a mRNA protein ekspresyonlarına ait band yoğunluklarının analizi; **, $P<0,01$, diabet grubuna göre farklılık **(b)** GRP78 mRNA protein ekspresyonlarına ait band yoğunluklarının analizi; ***, $P<0,001$, kontrol grubuna göre farklılık; #, $P<0,05$, diabet grubuna göre farklılık **(c)** β_3 -AR mRNA protein ekspresyonlarına ait band yoğunluklarının analizi ***, $P<0,001$, kontrol grubuna göre farklılık; ###, $P<0,001$, kontrol grubuna göre farklılık; Δ , $P<0,05$, diabet grubuna göre farklılık **(d)** Proteinlere ait reprezentatif band görselleri. K, Kontrol grup (n=6); D, Diabet grubu (n=6); S, Sitagliptin tedavili diabet grubu (n=5)

Sonrasında eNOS ve p-eNOS proteinlerine spesifik primer antikorlar kullanılarak sözü edilen proteinlerin düzeyleri değerlendirilmiştir. eNOS ve p-eNOS band yoğunlukları α -tubulin'e oranlanarak normalize edilmiştir. eNOS/ α -tubulin (K: $89,72 \pm 22,19$; D: $106,80 \pm 11,45$; S: $113,06 \pm 8,82$; %, $P > 0,05$) ve p-eNOS/ α -tubulin (K: $73,56 \pm 26,72$; D: $127,88 \pm 20,11$; S: $91,99 \pm 17,18$; %, $P > 0,05$) oranlarında gruplar arasında istatistiksel bir farklılık belirlenmemiştir (Şekil 3.7.(a), (b)). Benzer şekilde eNOS enziminin aktivasyonunu gösteren peNOS/eNOS oranında da gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (K: $81,04 \pm 10,32$; D: $174,65 \pm 50,43$; S: $133,52 \pm 38,31$; %, $P > 0,05$) (Şekil 3.7.(c)).



Şekil 3.7. (a) eNOS mRNA protein ekspresyonuna ait band yoğunluklarının analizi **(b)** p-eNOS mRNA protein ekspresyonuna ait band yoğunluklarının analizi **(c)** peNOS/eNOS band ekspresyonlarının oranının analizi **(d)** Proteinlere ait reprezentif band görselleri. K, Kontrol grup (n=6); D, Diabet grubu (n=4); S, Sitagliptin tedavili diabet grubu (n= 4)

4. TARTIŞMA

DPP-4 inhibitörlerinin kardiyovasküler sistemde önemli etkilerinin olduğu birçok preklinik ya da in vitro çalışma ile ortaya konmuş olsa da (Rohrborn ve ark., 2015), söz konusu grubun kalp üzerindeki etkilerine ilişkin veriler çelişkili görünmektedir. Bu ilaç grubunun miyokardiyal infarkt alanı azalttığı ve infarktüs sonrası sol ventrikül yeniden yapılanmasını engellediği gösterilmiştir (Ye ve ark., 2010). Widlansky ve ark., DPP-4 inhibitörlerinin, kalp yetmezliği ya da renal yetmezlik gelişmemiş T2D hastalarında, vasküler adezyonu düşürerek endotel fonksiyonunu iyileştirdiğini ve kardiyovasküler hastalık riskini azalttığını belirtmiştir (Widlansky ve ark., 2017). Bir DPP-4 inhibitörü olan sitagliptinin diabetik hastalarda endotel fonksiyonu iyileştirdiği ve inflamasyonu azalttığı bulunmuştur (Matsubara ve ark., 2013). Öte yandan, insanlarda yapılan SAVOR-TIMI 53, EXAMINE ya da VIVID gibi birçok çalışma kalp hastalığı olan hastalarda DPP 4 inhibitörlerinin kardiyoprotektif etkili olmadıklarını bildirmiştir (Williams ve ark., 2017; Scirica ve ark., 2013; White ve ark., 2013). Buna ek olarak, SAVOR-TIMI 53 klinik çalışması Saksagliptin tedavisi alan grupta kalp yetmezliği nedeniyle hastaneye yatış oranının arttığı göstermektedir (Scirica ve ark., 2013). Öte yandan, TECOS klinik çalışması, sitagliptin kullanan ve eşlik eden kalp hastalığı bulunan T2DM hastalarda, advers kardiyovasküler olay görülme riskinin artmadığını ortaya koymaktadır (Green ve ark., 2014).

Sitagliptinin kardiyak β -adrenerjik yanıtverirliği ne şekilde etkilediği ilk kez çalışmamızda incelenmiştir. Sitagliptin, diabetik sıçanlarda azalan β_1 ve β_2 -AR'ler aracılı kardiyak yanıtı anlamlı olarak düzeltmiştir. Sol ventrikülden izole edilen papiller kasta selektif olmayan β -AR agonisti izoprenalin ile elde edilen kasılma boyutu diabetik sıçanlarda belirgin olarak azalırken, dört haftalık sitagliptin tedavisi sonrası anlamlı olarak artmıştır. Sitagliptin tedavili grupta kan şekerinin diabetik gruba göre anlamlı olarak azalmadığı göz önüne alınırsa, kalpte gözlenen bu etkinin sitagliptinin glukoz homeostazı üzerindeki etkisinden bağımsız olduğu düşünülebilir.

Gerçekten de, Connely ve ark., STZ diabetik Fischer 344 sıçanlarda, kullandığımız dozdan çok daha yüksek, günlük 300 mg/kg sitagliptin tedavisi sonucu kan şekerinin düşmediğini, buna karşın, miyokard infarktüsü geçirmiş diabetik sıçan kalbinde kapiller dansitenin arttığını, kardiyomiyosit hipertrofisinin ve kolajen depozisyonunun azaldığını, ayrıca diastoldeki pasif uyuncun iyileştiğini bildirmiştir (Connely ve ark., 2013). Araştırmacılar, tüm bu olumlu etkilerin sitagliptinin metabolik etkisinden bağımsız olduğunu vurgulamıştır. Benzer şekilde, Hamdani ve ark. T2DM fare modelinde sekiz haftalık sitagliptin tedavisi ile, glisemide anlamlı bir değişiklik gözlenmeksizin sol ventrikül katılaşmasının azaldığını bildirmiştir (Hamdani ve ark., 2014). Bu etkinin, DPP-4 inhibisyonunun miyokardiyal cGMP ve PKG'yi uyarması ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür.

Sitagliptin ve diğer DPP-4 inhibitörlerinin yıkımını engellediği GLP-1 ve reseptörünün, kalpte bulunduğu gösterilmiştir (Bullock ve ark., 1996; Wei ve Mojssov, 1996). GLP-1, reseptörü üzerinden cAMP düzeyini artırmaktadır (Kuna ve ark., 2013). Ayrıca, GLP-1 tedavisinin fare kardiyomyositlerinde intraselüler Ca^{+2} miktarları yükselmeden cAMP seviyelerini yükselttiği gösterilmiştir (Vila ve ark., 2001). Ek olarak GLP-1 in kardiyak kontraktiliteyi arttırdığı bildirilmiştir (Nikolaidis ve ark., 2004; Sokos ve ark., 2006). Öte yandan, DPP-4 inhibisyonunun kardiyovasküler hastalıktaki etkinliğinin inkretin bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki farklı mekanizması olduğu vurgulanmaktadır.

Kalbin kasılması sistol, gevşemesi ise diastol olarak ifade edilmektedir. Buradan hareketle, kalbin sistolik ve diastolik fonksiyonundan söz etmek mümkündür. Bugüne kadarki literatür bilgisi, diabetik kalpte yalnızca sistolik ya da diastolik disfonksiyon görülebileceği gibi, bazı durumlarda iki bozukluğun da paralel olarak gözlemlendiğini ortaya koymaktadır. Öte yandan, sistolik fonksiyona ilişkin diğer parametreler bozulsa bile, ejeksiyon fraksiyonunun değişmediği durumlarda, genellikle diastolik disfonksiyondan bahsedilmektedir. Diabetik sıçan kalbinde ejeksiyon fraksiyonu değişmeksizin diastolik disfonksiyon gözlemlendiği bildirilmiştir (Connely ve ark.,

2007). Kalbin iyi gevşeyebilmesi, yani diastolik fonksiyonunun sağlıklı olabilmesi, gevşeme sırasında sitozoldeki Ca^{+2} 'nin SR'ye SERCA ile geri alınması ile yakından ilişkilidir (Dhalla ve ark., 1998). Bu nedenle, SERCA ifadesindeki değişimler kalbin diastolik fonksiyonunu etkilemektedir.

Çalışmamızda diabetik kalpte SERCA ifadesinin kontrole oranla anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur. Bulgumuz, önceki literatür verileri ile uyumludur, nitekim, STZ diabetik sıçan kalbinde SERCA ifadesinin azaldığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Teshima ve ark., 2000; Zhang ve ark., 2008). Sitagliptin tedavisi ise bu azalmayı az miktarda artırmış, ne var ki, anlamlı bir değişikliğe yol açmamıştır. Buna karşın, hipertansif sıçanlarda 10 mg/kg/gün dozda dört haftalık sitagliptin tedavisinin SERCA ifadesindeki azaltmayı anlamlı olarak düzelttiği gösterilmiştir (T. I. Lee ve ark., 2013). Öte yandan, SERCA aktivitesi fosfolamban adı verilen bir başka protein ile regüle edilmektedir. Sistol sırasında fosfolamban SERCA üzerinde inhibitör etkinlik göstermekte, diastolde ise fosfolambanın fosforilasyonu sonucu SERCA üzerindeki inhibitör etkinliği ortadan kalkmaktadır. Böylece SERCA aktive olmakta ve sitozoldeki Ca^{+2} 'yi tekrar sitozole alarak kalbin gevşemesine aracılık etmektedir. Bu nedenle, SERCA ve fosfolamban ifadelerinin düzeyi, ayrıca, SERCA/fosfolamban oranı kalbin gevşeme gücünü gösteren önemli bir parametredir (Koss ve Kranias, 1996). STZ diabetik sıçan kalbinde SERCA ifadesinin azaldığı, fosfolamban ifadesinin ise arttığı, bu nedenle bu oranın da azaldığı gösterilmiştir (Arioglu-Inan ve ark., 2013; Zhong ve ark., 2001).

Genellikle diabetik kalpte ilk olarak diastolik fonksiyonun bozulduğu, sistolik disfonksiyonun ise daha geç ortaya çıktığı bildirilmiştir (Fang ve ark., 2004; Gelzinis, 2014). Eşlik eden birçok etken nedeniyle diastolik fonksiyonu bozulan kalp iyi gevşeyemediğinden sonraki aşamalarda kasılma fonksiyonu da zayıflamaktadır. SERCA ya da fosfolamban fonksiyonundaki/ifadesindeki değişimler, kalbin β adrenerjik yanıtverirliği ile yakından ilişkilidir. β_1 -AR'lerin uyarılması sonucu aktive olan PKA, fosfolambanı fosforile ederek SERCA üzerindeki inhibitör etkinin

kalkmasına, böylece Ca^{+2} 'nin SR'ye alınması sonucu kalbin gevşemesine aracılık etmektedir (Tsang ve ark., 2009).

Diabetik kalbin bir başka özelliği ise artan ER stres bulgusudur. ER stres, ER'nin katlanma kapasitesinin aşıldığı, katlanmamış/yanlış katlanmış proteinlerin birikerek yol açtığı ve bu proteinleri tespit eden transmembran sensörlerin uyarıldığı bir durum olarak ifade edilmektedir (Cummings ve ark., 2011). OLETF T2D sıçanlarda gözlenen SERCA ifadesi azalmasının ve diastolik disfonksiyonun ER stres ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Takada ve ark., 2012). Benzer şekilde, yüksek yağ diyeti ve düşük doz STZ ile oluşturulan T2D modelinde ER stresin diabetik kardiyomiyopati gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Liu ve ark., 2015). Bu bulgulara paralel olarak çalışmamızda, ER stres belirteci GRP78 ifadesinin diabetik sıçan kalbinde anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Öte yandan, sitagliptin tedavili grupta bu artış anlamlı olarak azalmıştır. Bu noktadan hareketle, çalışmamızda diabette azalan SERCA ifadesi ER stres artışı ile ilişkili olabilir. Sitagliptin tedavili grupta ER stres düzeldiği halde SERCA ifadesinin anlamlı olarak artmaması ise SERCA ifadesini etkileyen tek parametrenin ER stres olmaması ile ilişkilendirilebilir. Bir DPP-4 inhibitörü olan Sitagliptin ile kardiyak ER stres arasındaki ilişki ilk kez çalışmamızda gösterilmiştir ve bu ilişkinin mekanizmaları yeni çalışmalarla daha ayrıntılı incelenmesi gerekmektedir.

Bilindiği gibi kardiyak β_1 ve β_2 -AR aracılı kasılma AC-cAMP-PKA yolağı üzerinden gerçekleşmektedir (George ve Pitt, 2006). G_s proteini ile kenetli kardiyak β_1 ve β_2 -AR'lerin uyarılması sonucu AC aktive olmakta, cAMP düzeyleri artmakta, bu artış da PKA aktivasyonuna yol açmaktadır. PKA, L tipi Ca^{+2} kanalları başta olmak üzere birçok komponentin fosforile olmasına ve böylece hücre içine Ca^{+2} girişine neden olmaktadır. Ca^{+2} girişi, ryanodin kanalları aracılığıyla SR'den sitozole Ca^{+2} çıkmasını sağlamaktadır ki, bu şekilde kontraktıl filamentlerin aktive olmasına ve kalbin kasılmasına aracılık etmektedir. Bu nedenle, kalbin β adrenerjik yanıtverirliğini olumsuz etkileyen diabet gibi patolojilerde kontraktıl fonksiyonun bozulduğu

gözlenmektedir (Arioglu Inan ve ark., 2013). Bu noktadan hareketle, yukarıda sayılan yolak üzerindeki herhangi bir bileşenin değişimi, doğal olarak kalbin kontraktıl yanıtını etkileyecektir.

Çalışmamızda, diabetik kalplerde izoprenalin yanıtının azalıp sitagliptin tedavisinden sonra anlamlı olarak düzelmesi de, büyük olasılıkla, aynı mantıkla β_1 ve β_2 -AR sinyal yolağındaki değişimlerden kaynaklanmaktadır. Kalpteki, özellikle sol ventriküldeki β_1 -AR dansitesinin β_2 -AR'ye göre çok daha yüksek olduğu düşünülürse (β_1 : β_2 , %70-80:%30-20, Dincer ve ark., 2001), sitagliptinin gözlenen yararlı etkisi diabetik kalpte azalan β_1 -AR dansitesini düzeltmesiyle ilişkili olabilir. Kaldı ki, diabette β_1 -AR dansitesinin azaldığı bilinmektedir (Dincer ve ark., 2001). Bu azalmanın, diabetik kalpte gözlenen aşırı katekolamin düzeylerinden kaynaklandığı öne sürülmüştür (Altan ve ark., 2007). Ne var ki, western blot deneylerimizde β_1 -AR protein bandlarını tespit etmek mümkün olmamıştır. Bu nedenle, sitagliptin tedavisinin kontraktıl yanıtı kardiyak β_1 -AR dansitesini artırarak mı iyileştirdiğini elimizdeki bulgularla açıklamak mümkün görünmemektedir. Ayrıca, gözlenen yararlı etki ilacın AC-cAMP-PKA sinyal yolağındaki herhangi bir bileşen üzerine olumlu etkisinden de kaynaklanabilir. Sitagliptinin cAMP düzeylerini artırdığı, miyokard infarktüsölü sıçan modelinde gösterilmiştir (T. M. Lee ve ark., 2015). Söz konusu çalışmada, sitagliptin cAMP/PKA yolağı üzerinden sinir büyüme faktörü ile indüklenen sempatik innervasyonu azaltmış ve bu şekilde miyokard infarktüsü sonrası gözlenen ölümcül aritmilere karşı koruyucu etki göstermiştir. Sitagliptinin cAMP/PKA aktivitesini artırıcı etkisi ve bu etkinin miyokardial infarkt alanı azalttığı Ye ve ark. tarafından da doğrulanmıştır (Ye ve ark., 2010).

Diğer yandan, yukarıda bahsedildiğı gibi SERCA ve fosfolamban fonksiyonundaki ya da ifadesindeki değişimler ile SERCA/fosfolamban oranı da izoprenalin aracılı kardiyak kontraktıl yanıtı etkileyebilmektedir. Bu nedenle, sitagliptin tedavisi sonucu diabetik grupta anlamlı olarak artan kasılma yanıtına SERCA/fosfolamban oranındaki azalmanın iyileştirmesi de katkıda bulunmuş olabilir.

SERCA ifadesindeki artış bu anlamda yeterli görünmese de, fosfolamban ifadesindeki artışın sitagliptin tedavisi ile azaldığı öne sürülebilir. Ne var ki, çalışmamızda fosfolamban ifadesi ölçülmediği için bu hipotezimizi doğrulamak mümkün görünmemektedir.

β_1 ve β_2 -AR'lerden başka kalpte üçüncü bir alttip daha bulunmaktadır. İlk kez Gauthier ve ark. tarafından varlığı gösterilen β_3 -AR'ler, β_1 -AR'lerin aksine kalpte negatif inotropik etkiye aracılık etmektedir (Gauthier ve ark., 1996). β_3 -AR'ler G_i proteini ile kenetlidir ve söz konusu etkilerini NO-GS-cGMP-PKG aracılı olarak ortaya koyduğu gösterilmiştir (Cannavo ve Koch, 2017). Kardiyak β_3 -AR'ler uyarıldığında eNOS ve nNOS üzerinden NO yapımı artar, bu da GC'nin aktivasyonuna, cGMP düzeyinin artmasına ve PKG'nin aktive olmasına yol açar. Bu şekilde PKG'nin aktivasyonu, L tipi Ca^{+2} kanallarının inhibisyonuna ve hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonlarının azalmasına neden olur. PDE'lerin aktivasyonu ise cAMP'nin hidrolizine ve adrenerjik uyarımın sonlanmasına aracılık eder. Çalışmamızda, β_3 -AR aracılı gevşeme yanıtının langendorff yöntemi ile çalışılan diabetik sıçan kalbinde arttığı bulunmuştur. Bu bulgu laboratuvarımızda daha önce yapılan çalışmalar ile uyumludur. Kaykı-Mutlu ve ark., sekiz haftalık diabetik sıçan kalbinde β_3 -AR yanıtlarının kontrole oranla anlamlı olarak arttığı göstermiştir (Kaykı-Mutlu ve ark., 2014). β_3 -AR'lerin, sağlıklı kalpteki ifadelerinin oldukça düşük olduğu ve kardiyak fonksiyona anlamlı bir katkılarının olmadığı öne sürülmüştür. Öte yandan, diabet ya da kalp yetmezliği gibi aşırı sempatik aktivite gözlenen durumlarda ifadelerinin ve aracılık ettikleri etkinin belirgin olarak arttığı düşünülmektedir (Moniotte ve ark., 2001). Bu bulgudan yola çıkarak, β_3 -AR'lerin aktivasyonunun diabetik ya da yetmezlikli kalpte bir tür koruyucu mekanizma olduğu ifade edilmektedir (Rozec ve ark., 2003).

Çalışmamızda artan β_3 -AR aracılı yanıtı destekler şekilde β_3 -AR ifadesi de diabetik kalpte kontrole oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. β_3 -AR'lerin sinyal yolağında etkin olduğu düşünülen eNOS ifadesi, ayrıca, eNOS aktivasyonunun

göstergesi olan fosforile eNOS ifadesi ve fosforile eNOS/eNOS oranı, diabetik grupta belli oranda artmış görünmekle beraber, istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Bu bulgular, diabetik kalpte artan β_3 -AR aracılı gevşeme yanıtında gerek β_3 -AR ifadesindeki gerekse eNOS aktivasyonundaki artışın rolü olabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, β_3 -AR aracılı negatif inotropik sinyal yolağında yer alan cGMP ya da PKG gibi bileşenlerin diabette değişimi incelenmediği için, elimizdeki veriler diabette artan yanıtın mekanizmalarını açıklamakta yetersiz kalmaktadır.

Sitagliptin tedavisi diabetik kalpte artan β_3 -AR aracılı negatif inotropik yanıtı bir miktar azaltsa da anlamlı olarak değiştirmemiştir. Buna karşın, β_3 -AR ifadesi, tedavili grupta diabete göre anlamlı olarak azalmıştır. eNOS, fosforile eNOS ve fosforile eNOS/eNOS oranı ise sitagliptin tedavili grupta diabetik gruba göre azalmış görünmekle birlikte, istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Bu noktadan hareketle, eğer diabetik kalpte artan negatif inotropi yalnızca β_3 -AR ifadesindeki artıştan kaynaklansaydı, sitagliptin tedavili grupta da yanıtın diabetik gruba oranla anlamlı olarak azalması beklenirdi. Ne var ki, gevşeme yanıtı tedavili grupta diabetik gruba benzer bulunmuştur. Öte yandan, anlamlı olmamakla birlikte, eNOS aktivasyonunun tedavili grupta kontrole göre hala yüksek olması, β_3 -AR aracılı gevşeme yanıtının kontrol düzeyine inmemesine katkıda bulunmuş olabilir. Bu sonuçlar, hem diabetik kalpte β_3 -AR aracılı gevşeme yanıtının hem de sitagliptin tedavisinin bu yanıtı etkisinin mekanizmalarının daha karmaşık olduğunu düşündürmektedir.

Daha önce de bahsedildiği gibi, sitagliptin Tip 2 diabetik fare modelinde sol ventrikül uyuncunu artırmıştır (Hamdani ve ark., 2014). Bu etkinin ilacın sol ventrikülde cGMP düzeylerini ve PKG aktivitesini artırması ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Öte yandan, aynı çalışmada bu ilacın sol ventrikülde fosforile eNOS düzeyini artırmadığı belirtilmiştir. Fosforile eNOS/eNOS oranı da tedavi sonucu anlamlı farklı bulunmamıştır. Çalışmamızda cGMP ya da PKG değişimi incelenmemiş olmakla birlikte, fosforile eNOS/eNOS oranının sitagliptin tedavisi ile istatistiksel

anlamli bulunmaması söz konusu araştırma ile uyumlu görünmektedir. Bu noktalardan hareketle, sitagliptinin PKG ya da cGMP üzerindeki olası etkisi, benzer şekilde aynı bileşenleri uyaran β_3 -AR aracılı gevşemeye olan etkisi ile bağlantılı olabilir.

Sonuç olarak, çalışmamız bir DPP-4 inhibitörü olan Sitagliptinin STZ diabetik sıçan kalbinde β_1 ve β_2 -AR aracılı kasılma yanıtını anlamli olarak iyileştirdiğini ve söz konusu etkinin ilacın metabolik etkisinden bağımsız olduğunu ortaya koymaktadır. Günümüzde diabet tedavisinde temel yaklaşım, kullanılacak ilacın metabolik faydasının yanı sıra, kardiyovasküler koruyucu etkisinin de olmasına odaklanmaktadır. Diabetin neden olduğu morbidite ve mortalitenin en önemli nedeninin kardiyovasküler komplikasyonlar olduğu düşünülürse, bu yaklaşım şüphesiz çok anlamlidir. Bu noktadan bakıldığında, çalışmamızda bir DPP-4 inhibitörü olan sitagliptinin kardiyak β_1 ve β_2 -AR aracılı yanıtları iyileştirmiş olması bu grubun diğer oral antidiabetik ilaç gruplarına göre bir üstünlüğü olarak görülebilir. Öte yandan, β_3 -AR aracılı yanıtların diabetik kalpte artmış bulunmasının, ya da sitagliptin tedavisinin bu durumu anlamli olarak değiştirmemesinin olumlu ya da olumsuz bir özellik olduğunun anlaşılabilmesi ve söz konusu etkinin mekanizmalarının aydınlatılabilmesi için daha kapsamlı çalışmaların yapılması faydalı olacaktır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın bulguları 12 haftalık diabetik sıçan sol ventrikülünde izoprenalin aracılı kasılma boyutunun belirgin derecede azaldığını göstermektedir. Öte yandan, tüm kalpte β_3 -AR selektif agonisti CL 316,243 ile değerlendirilen negatif inotropik yanıtın ise anlamlı olarak arttığı görülmüştür. Buna ek olarak, diabetik kalpte SERCA ifadesi kontrole oranla anlamlı olarak azalmış ve ER stres belirteci olan GRP78 ifadesi ise anlamlı olarak artmıştır. β_3 -AR ifadesi de diabetik grupta anlamlı olarak artmış, β_3 -AR aracılı sinyal yolağında yer alan eNOS ifadesi diabetik grupta anlamlı olarak değişmemiş, fosforile eNOS ve eNOS/fosforile eNOS oranı ise belli oranda artmıştır.

Sitagliptin tedavisi sonrası, beden ağırlıkları ve kan şekeri değerlerinde diabet grubu ile arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Buna karşın, diabette azalan izoprenalin aracılı kardiyak kasılma yanıtları tedavi sonrası anlamlı olarak düzelmiştir. Bu bulgular, sitagliptin tedavisi sonucu kontraktıl yanıtın sitagliptinin glukoz homeostazı üzerindeki etkisinden bağımsız olarak iyileştiğini ortaya koymaktadır.

Diabet sonrası artan β_3 -AR aracılı negatif inotropik yanıt, sitagliptin tedavisi sonucunda bir miktar azalsa da anlamlı olarak değişmemiştir. Buna karşın, diabette artan β_3 -AR ifadesi sitagliptin tedavili grupta anlamlı olarak azalmıştır. Ne var ki, sitagliptin tedavisi sonrası ise eNOS ifadesi diabetik gruba göre farklılık göstermemiş, fosforile eNOS ve eNOS/fosforile eNOS oranı ise anlamlı olmamakla birlikte, diabetik gruba göre bir miktar azalmıştır. Bu durum sitagliptinin β_3 -AR aracılı yolları β_1 -AR aracılı olanlardan farklı etkilediğini düşündürmektedir. Sitagliptinin β_3 -AR aracılı yollara etkisinin ne şeklide ve hangi bileşenler üzerinden olduğunun anlaşılabilmesi için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

Diabet sonrası kalpte anlamlı olarak azalan SERCA ifadesi, sitagliptin tedavisi sonrasında az miktarda artmış ancak anlamlı bir değişikliğe yol açmamıştır. Diğer taraftan diabet sonrası kalpte anlamlı bir artış gösteren ER stres belirteci olan GRP78 ifadesi, sitagliptin tedavisi sonrasında anlamlı olarak azalmıştır. ER stres belirteci düzeldiği halde SERCA ifadesinin anlamlı olarak artmaması, SERCA ifadesini etkileyen fosfolamban gibi diğer parametrelerin de incelenmesi gerektiğini göstermektedir.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, sitagliptin tedavisinin diabetik kalpte bozulan β -AR aracılı kontraktıl yanıtları anlamlı olarak iyileştirdiği, ER stresi azalttığı ve söz konusu etkilerin ilacın metabolik etkisinden bağımsız olduğu görülmektedir. Diğer taraftan tedavi sonrası görülen GRP78 ifadesindeki düşüşe rağmen, SERCA ifadesinde anlamlı bir farklılık olmaması farklı mekanizmaların devreye girdiğini düşündürmektedir. Benzer şekilde tedavi sonrası β_3 -AR ifadesindeki anlamlı azalmaya karşın, β_3 -AR yanıtveririliğin kontrol gruba göre hala yüksek olması, β_3 -AR aracılı gevşeme yanıtını etkileyen olası mekanizmalar üzerine odaklanılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamız sonucunda sitagliptinin diabetik kalpte β_1 - ve β_2 -AR aracılı yanıtveriliği belli oranda iyileştirdiğinin gözlenmesi bu ilacın kardiyak fonksiyon yönünden diğer oral antidiabetik ilaçlara göre üstünlüğünün olabileceğini düşündürmektedir. Ne var ki, bu üstünlüğün yeni prelinik çalışmalarla farklı mekanizmalar üzerinden de değerlendirilmesi yararlı olacaktır. Öte yandan, hayvanlarda elde edilecek olumlu etkilerin insana uyumlu olup olmadığının anlaşılması ancak klinik çalışmalar ile mümkün olacaktır.

ÖZET

Sitagliptinin Streptozotosin-Diabetik Ratlarda β -AR Aracılı Kardiyak Yanıtlar Üzerindeki Etkileri

DPP-4 inhibitörleri vasküler endotelyum, ateroskleroz, kalp yetmezliği, kan basıncı, lipid metabolizması ve kilo üzerinde doğrudan veya dolaylı yollarla etki göstermektedir. Kan şekeri üzerindeki etkinlikleri klasik antidiabetik ajanlardan az olsa da, bu grup ilaçlar kombine kullanımda diğer ajanların neden olabileceği kardiyovasküler komplikasyonları azaltabilmektedir.

Diabetik kalpte β -AR aracılı yanıtların azalması çoğunlukla reseptör duyarlılığının kaybolması ve/veya reseptör gen ifadesinin azalması ile ilişkilendirilmektedir. Ne var ki, DPP-4 inhibitörlerinin diabetik kalpte β -AR'ler üzerindeki direkt etkileri tam olarak bilinmemektedir. Bu noktadan hareketle, projemizde, bir DPP-4 inhibitörü olan sitagliptinin, diabetik ratlardaki kardiyak β -AR aracılı yanıtlar üzerine kan şekereinden bağımsız etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaca yönelik olarak, sekiz haftalık Sprague-Dawley ratlar üç gruba ayrılmıştır; Kontrol (K), Diabetik (D), Sitagliptin tedavili Diabetik (S). Diabet tek doz i.p. STZ injeksiyonu ile gerçekleştirilmiştir (45 mg/kg). Sekiz haftalık diabet sürecinin ardından, diabetik ratların bir kısmına dört hafta süre ve 10mg/kg/gün doz ile sitagliptin tedavisi uygulanmıştır. Kardiyak beta adrenerjik yanıtverirlik papiller kas ve langendorff kalp preparatı kullanılarak değerlendirilmiştir. Beta adrenerjik yanıtverirlik ve kalp fonksiyonu açısından önemli olan bileşenlerin protein ifadeleri western blot yöntemi ile ölçülmüştür. 12 haftalık diabet süreci sonunda ratların kan şekerinde ya da beden ağırlığında sitagliptin tedavisine bağlı bir iyileşme gözlenmemiştir. Papiller kastaki izoprenalin aracılı kasılma yanıtları diabetik grupta beklendiği gibi azalırken, tedaviye bağlı olarak anlamlı olarak iyileşmiştir. Langendorff preparatında ölçülen CL 316,243 aracılı gevşeme yanıtları ise diabetik grupta anlamlı olarak artmış, sitagliptin tedavisi ile ise değişmemiştir. Diastolik disfonksiyonda rolü olan SERCA2a protein ifadesi diabette azalmış, ER belirteci olan GRP78 ifadesi ise diabette artmıştır. Sitagliptin tedavisi sonrası GRP78 düzelmiş; ancak SERCA2a'da anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Diabette artan β_3 -AR protein ifadesi ise tedavi sonrasında azalmıştır. β_3 -AR sinyal iletim yolağının önemli bileşenleri olan eNOS gruplar arasında anlamlı değişim göstermemiştir. Fosforile eNOS ve eNOS/fosforile eNOS oranı ise diabetik grupta belli oranda artmış, sitagliptin tedavisinden sonra ise bir miktar azalmıştır. Ne var ki, bu değişimler istatistiksel anlamlı bulunmamıştır.

Bütün bu sonuçlar, sitagliptin tedavisinin diabetik kalbin bozulmuş kasılma fonksiyonuna olumlu etkisine işaret etmektedir ve bu etkinin ilacın metabolik etkisinden bağımsız olduğunu ortaya koymaktadır. β_3 -AR aracılı yanıtın diabette artıp, tedavi sonrası değişmemesi ise ilacın bu yolağa etkisinin β_1 -AR sinyal yolağına olan etkisinden farklı ve daha karmaşık olabileceğini düşündürmektedir. Gözlenen bu etkinin açıklanabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar sözcükler: Diyabet, Kardiyovasküler, Antidiyabetik, İncretin, GLP-1, DPP-4

SUMMARY

The Effects of Sitagliptin on β -adrenoceptor Mediated Cardiac Responses in Streptozotocine Diabetic Rats

DPP-4 inhibitors, directly or indirectly affect vascular endothelium, atherosclerosis, heart failure, blood pressure, lipid metabolism and body weight. Although their antihyperglycemic effect is lower compared to other groups, combination therapy with DPP-4 inhibitors could help to attenuate cardiovascular complications caused by other antidiabetic groups.

In the diabetic heart, beta adrenergic responsiveness has been often related to decreased receptor sensitivity or downregulation. However, the effects of DPP-4 inhibitors on diabetic heart has not been clearly explained. Thus, we aimed to investigate the effects of sitagliptin, a DPP-4 inhibitor, on diabetic heart in terms of beta adrenergic responsiveness independent of its blood glucose lowering effect.

For this purpose, 8-week old Sprague Dawley rats have been divided into 3 groups; Control (C), Diabetic (D), sitagliptin treated diabetic group (S). Diabetes was induced by single dose streptozotocin injection (i.p., 45mg/kg). After 8-week diabetes period, some of the diabetic rats were treated with sitagliptin (10mg/kg/day) for 4 weeks. Cardiac beta adrenergic responsiveness was evaluated through papillary muscle and Langendorff heart preparation. The components that are important for beta adrenergic responsiveness and heart function were evaluated by western blot analysis.

In the end of 12-week diabetes period, sitagliptin did not exert any beneficial effect on plasma blood glucose levels or body weights. Isoprenalin induced contractile responses were decreased in papillary muscle of diabetic group and it was improved after sitagliptin treatment. CL 316,243 mediated cardiac relaxation response was increased significantly in diabetic group and did not changed after treatment. Protein expression level of SERCA2a, a pump which has role in diastolic dysfunction, was reduced in diabetic group. On the other hand, protein level of GRP78, a marker of ER stress, was increased in diabetic group. After sitagliptin treatment, protein expression level of GRP78 was improved, but protein level of SERCA2a was not decreased significantly. Protein expression level of β_3 -AR was increased in diabetic group and did not decrease after treatment. Protein levels of eNOS did not significantly differ between the groups. Phosphorylated eNOS and eNOS/phosphorylated eNOS ratio were increased in diabetic group and slightly decreased after treatment. However, these changes were not statistically significant.

All these results indicate that sitagliptin treatment has beneficial effects on impaired cardiac function in diabetic rats and it is independent of its blood glucose lowering effect. The finding that β_3 -AR mediated response is not affected by sitagliptin treatment may result from the fact that the drug affects β_3 -AR mediated signaling pathway different than β_1 -AR mediated one. More studies are needed to clarify this discrepancy.

Key words: Diabetes, Cardiovascular, Antidiabetic, Incretin, GLP-1, DPP-4

KAYNAKLAR

- AKITA, K., ISODA, K., SHIMADA, K., & DAIDA, H. (2015). Dipeptidyl-peptidase-4 inhibitor, alogliptin, attenuates arterial inflammation and neointimal formation after injury in low-density lipoprotein (LDL) receptor-deficient mice. *J Am Heart Assoc*, **4**(3), e001469. doi:10.1161/JAHA.114.001469
- ALTAN, V. M., ARIOGLU, E., GUNER, S., & OZCELIKAY, A. T. (2007). The influence of diabetes on cardiac beta-adrenoceptor subtypes. *Heart Fail Rev*, **12**(1), 58-65. doi:10.1007/s10741-007-9005-6
- ALVES-WAGNER, A. B., MORI, R. C., SABINO-SILVA, R., FATIMA, L. A., ALVES ADA, S., BRITTO, L. R., . . . MACHADO, U. F. (2015). Beta-adrenergic blockade increases GLUT4 and improves glycemic control in insulin-treated diabetic Wistar rats. *Auton Neurosci*, **193**, 108-116. doi:10.1016/j.autneu.2015.10.003
- AMERICAN DIABETES, A. (2014). Executive summary: Standards of medical care in diabetes--2014. *Diabetes Care*, **37** Suppl 1, S5-13. doi:10.2337/dc14-S005
- ANEJA, A., TANG, W. H., BANSILAL, S., GARCIA, M. J., & FARKOUH, M. E. (2008). Diabetic cardiomyopathy: insights into pathogenesis, diagnostic challenges, and therapeutic options. *Am J Med*, **121**(9), 748-757. doi:10.1016/j.amjmed.2008.03.046
- ARAVINDHAN, K., BAO, W., HARPEL, M. R., WILLETTE, R. N., LEPORE, J. J., & JUCKER, B. M. (2015). Cardioprotection Resulting from Glucagon-Like Peptide-1 Administration Involves Shifting Metabolic Substrate Utilization to Increase Energy Efficiency in the Rat Heart. *PLoS One*, **10**(6), e0130894. doi:10.1371/journal.pone.0130894
- ARIOGLU-INAN, E., OZAKCA, I., KAYKI-MUTLU, G., SEPICI-DINCEL, A., & ALTAN, V. M. (2013). The role of insulin-thyroid hormone interaction on beta-adrenoceptor-mediated cardiac responses. *Eur J Pharmacol*, **718**(1-3), 533-543. doi:10.1016/j.ejphar.2013.06.021
- AROOR, A. R., SOWERS, J. R., JIA, G., & DEMARCO, V. G. (2014). Pleiotropic effects of the dipeptidylpeptidase-4 inhibitors on the cardiovascular system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **307**(4), H477-492. doi:10.1152/ajpheart.00209.2014
- ASRIH, M., MACH, F., NENCIONI, A., DALLEGRI, F., QUERCIOLI, A., & MONTECUCCO, F. (2013). Role of mitogen-activated protein kinase pathways in multifactorial adverse cardiac remodeling associated with metabolic syndrome. *Mediators Inflamm*, **2013**, 367245. doi:10.1155/2013/367245
- AYERS, K., BYRNE, L. M., DEMATTEO, A., & BROWN, N. J. (2012). Differential effects of nebivolol and metoprolol on insulin sensitivity and plasminogen activator inhibitor in the metabolic syndrome. *Hypertension*, **59**(4), 893-898. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.189589
- BALTEAU, M., VAN STEENBERGEN, A., TIMMERMAN, A. D., DESSY, C., BEHETS-WYDEMANS, G., TAJEDDINE, N., . . . BEAULOYE, C. (2014). AMPK activation by glucagon-like peptide-1 prevents NADPH oxidase activation induced by hyperglycemia in adult cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **307**(8), H1120-1133. doi:10.1152/ajpheart.00210.2014

- BALTZIS, D., ELEFThERiADOU, I., & VEVES, A. (2014). Pathogenesis and treatment of impaired wound healing in diabetes mellitus: new insights. *Adv Ther*, **31**(8), 817-836. doi:10.1007/s12325-014-0140-x
- BAN, K., KIM, K. H., CHO, C. K., SAUVE, M., DIAMANDIS, E. P., BACKX, P. H., . . . HUSAIN, M. (2010). Glucagon-like peptide (GLP)-1(9-36)amide-mediated cytoprotection is blocked by exendin(9-39) yet does not require the known GLP-1 receptor. *Endocrinology*, **151**(4), 1520-1531. doi:10.1210/en.2009-1197
- BAN, K., NOYAN-ASHRAF, M. H., HOEFER, J., BOLZ, S. S., DRUCKER, D. J., & HUSAIN, M. (2008). Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathways. *Circulation*, **117**(18), 2340-2350. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.739938
- BATTIPROLU, P. K., HOJAYEV, B., JIANG, N., WANG, Z. V., LUO, X., IGLEWSKI, M., . . . HILL, J. A. (2012). Metabolic stress-induced activation of FoxO1 triggers diabetic cardiomyopathy in mice. *J Clin Invest*, **122**(3), 1109-1118. doi:10.1172/JCI60329
- BELGE, C., HAMMOND, J., DUBOIS-DERUY, E., MANOURY, B., HAMELET, J., BEAULOYE, C., . . . BALLIGAND, J. L. (2014). Enhanced expression of beta3-adrenoceptors in cardiac myocytes attenuates neurohormone-induced hypertrophic remodeling through nitric oxide synthase. *Circulation*, **129**(4), 451-462. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.004940
- BELL, D. S. (2003). Beta-cell rejuvenation with thiazolidinediones. *Am J Med*, **115 Suppl 8A**, 20S-23S.
- BERGMAN, A., MISTRY, G. C., LUO, W. L., LIU, Q., STONE, J., WANG, A., . . . KRISHNA, R. (2007). Dose-proportionality of a final market image sitagliptin formulation, an oral dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, in healthy volunteers. *Biopharm Drug Dispos*, **28**(6), 307-313. doi:10.1002/bdd.559
- BISOGNANO, J. D., WEINBERGER, H. D., BOHLMAYER, T. J., PENDE, A., RAYNOLDS, M. V., SASTRAVAHA, A., . . . PORT, D. J. (2000). Myocardial-directed overexpression of the human beta(1)-adrenergic receptor in transgenic mice. *J Mol Cell Cardiol*, **32**(5), 817-830. doi:10.1006/jmcc.2000.1123
- BOSE, A. K., MOCANU, M. M., CARR, R. D., BRAND, C. L., & YELLON, D. M. (2005). Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury. *Diabetes*, **54**(1), 146-151.
- BOSI, E., CAMISASCA, R. P., COLLOBER, C., ROCHOTTE, E., & GARBER, A. J. (2007). Effects of vildagliptin on glucose control over 24 weeks in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin. *Diabetes Care*, **30**(4), 890-895. doi:10.2337/dc06-1732
- BOUDINA, S., & ABEL, E. D. (2007). Diabetic cardiomyopathy revisited. *Circulation*, **115**(25), 3213-3223. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.679597
- BOVO, E., MAZUREK, S. R., DE TOMBE, P. P., & ZIMA, A. V. (2015). Increased Energy Demand during Adrenergic Receptor Stimulation Contributes to Ca(2+) Wave Generation. *Biophys J*, **109**(8), 1583-1591. doi:10.1016/j.bpj.2015.09.002
- BRODDE, O. E., & MICHEL, M. C. (1999). Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. *Pharmacol Rev*, **51**(4), 651-690.
- BRUNET, A., DATTA, S. R., & GREENBERG, M. E. (2001). Transcription-dependent and -independent control of neuronal survival by the PI3K-Akt signaling pathway. *Curr Opin Neurobiol*, **11**(3), 297-305.

- BUGGER, H., & ABEL, E. D. (2014). Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy. *Diabetologia*, **57**(4), 660-671. doi:10.1007/s00125-014-3171-6
- BULLOCK, B. P., HELLER, R. S., & HABENER, J. F. (1996). Tissue distribution of messenger ribonucleic acid encoding the rat glucagon-like peptide-1 receptor. *Endocrinology*, **137**(7), 2968-2978. doi:10.1210/endo.137.7.8770921
- BURGMAIER, M., HEINRICH, C., & MARX, N. (2013). Cardiovascular effects of GLP-1 and GLP-1-based therapies: implications for the cardiovascular continuum in diabetes? *Diabet Med*, **30**(3), 289-299. doi:10.1111/j.1464-5491.2012.03746.x
- CANNAVO, A., & KOCH, W. J. (2017). Targeting beta3-Adrenergic Receptors in the Heart: Selective Agonism and beta-Blockade. *J Cardiovasc Pharmacol*, **69**(2), 71-78. doi:10.1097/FJC.0000000000000444
- CANTINI, G., MANNUCCI, E., & LUCONI, M. (2016). Perspectives in GLP-1 Research: New Targets, New Receptors. *Trends Endocrinol Metab*, **27**(6), 427-438. doi:10.1016/j.tem.2016.03.017
- CANTLEY, L. C. (2002). The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*, **296**(5573), 1655-1657. doi:10.1126/science.296.5573.1655
- CHACRA, A. R., TAN, G. H., APANOVITCH, A., RAVICHANDRAN, S., LIST, J., CHEN, R., & INVESTIGATORS, C. V. (2009). Saxagliptin added to a submaximal dose of sulphonylurea improves glycaemic control compared with uptitration of sulphonylurea in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Int J Clin Pract*, **63**(9), 1395-1406. doi:10.1111/j.1742-1241.2009.02143.x
- CHAUDHURI, A., GHANIM, H., MAKDISSI, A., GREEN, K., ABUAYSHEH, S., BATRA, M., . . . DANDONA, P. (2016). Exenatide Induces an Increase in Vasodilatory and a Decrease in Vasoconstrictive Mediators. *Diabetes Obes Metab*. doi:10.1111/dom.12835
- CHAYKOVSKA, L., VON WEBSKY, K., RAHNENFUHRER, J., ALTER, M., HEIDEN, S., FUCHS, H., . . . HOCHER, B. (2011). Effects of DPP-4 inhibitors on the heart in a rat model of uremic cardiomyopathy. *PLoS One*, **6**(11), e27861. doi:10.1371/journal.pone.0027861
- CHRISTENSEN, M. B. (2016). Glucose-dependent insulinotropic polypeptide: effects on insulin and glucagon secretion in humans. *Dan Med J*, **63**(4).
- COMMUNAL, C., SINGH, K., SAWYER, D. B., & COLUCCI, W. S. (1999). Opposing effects of beta(1)- and beta(2)-adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis : role of a pertussis toxin-sensitive G protein. *Circulation*, **100**(22), 2210-2212.
- CONNELLY, K. A., KELLY, D. J., ZHANG, Y., PRIOR, D. L., MARTIN, J., COX, A. J., . . . GILBERT, R. E. (2007). Functional, structural and molecular aspects of diastolic heart failure in the diabetic (mRen-2)²⁷ rat. *Cardiovasc Res*, **76**(2), 280-291. doi:10.1016/j.cardiores.2007.06.022
- CONNELLY, K. A., ZHANG, Y., ADVANI, A., ADVANI, S. L., THAI, K., YUEN, D. A., & GILBERT, R. E. (2013). DPP-4 inhibition attenuates cardiac dysfunction and adverse remodeling following myocardial infarction in rats with experimental diabetes. *Cardiovasc Ther*, **31**(5), 259-267. doi:10.1111/1755-5922.12005
- CONTRERAS-FERRAT, A. E., TORO, B., BRAVO, R., PARRA, V., VASQUEZ, C., IBARRA, C., . . . LAVANDERO, S. (2010). An inositol 1,4,5-triphosphate (IP3)-IP3 receptor pathway is required for insulin-stimulated glucose transporter 4 translocation and glucose uptake in cardiomyocytes. *Endocrinology*, **151**(10), 4665-4677. doi:10.1210/en.2010-0116

- CORNEL, J. H., BAKRIS, G. L., STEVENS, S. R., ALVARSSON, M., BAX, W. A., CHUANG, L. M., . . . GROUP, T. S. (2016). Effect of Sitagliptin on Kidney Function and Respective Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes: Outcomes From TECOS. *Diabetes Care*, **39**(12), 2304-2310. doi:10.2337/dc16-1415
- CUMMINGS, B. P., BETTAIEB, A., GRAHAM, J. L., STANHOPE, K. L., DILL, R., MORTON, G. J., . . . HAVEL, P. J. (2011). Subcutaneous administration of leptin normalizes fasting plasma glucose in obese type 2 diabetic UCD-T2DM rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **108**(35), 14670-14675. doi:10.1073/pnas.1107163108
- CUNY, T., GUERCI, B., & CARIOU, B. (2012). New avenues for the pharmacological management of type 2 diabetes: an update. *Ann Endocrinol (Paris)*, **73**(5), 459-468. doi:10.1016/j.ando.2012.09.002
- DAAKA, Y., LUTTRELL, L. M., & LEFKOWITZ, R. J. (1997). Switching of the coupling of the beta2-adrenergic receptor to different G proteins by protein kinase A. *Nature*, **390**(6655), 88-91. doi:10.1038/36362
- DAILEY, M. J., & MORAN, T. H. (2013). Glucagon-like peptide 1 and appetite. *Trends Endocrinol Metab*, **24**(2), 85-91. doi:10.1016/j.tem.2012.11.008
- DEJAGER, S., RAZAC, S., FOLEY, J. E., & SCHWEIZER, A. (2007). Vildagliptin in drug-naïve patients with type 2 diabetes: a 24-week, double-blind, randomized, placebo-controlled, multiple-dose study. *Horm Metab Res*, **39**(3), 218-223. doi:10.1055/s-2007-970422
- DEVENDRA, D., LIU, E., & EISENBARTH, G. S. (2004). Type 1 diabetes: recent developments. *BMJ*, **328**(7442), 750-754. doi:10.1136/bmj.328.7442.750
- DHALLA, N. S., LIU, X., PANAGIA, V., & TAKEDA, N. (1998). Subcellular remodeling and heart dysfunction in chronic diabetes. *Cardiovasc Res*, **40**(2), 239-247.
- DHILLON, S. (2010). Sitagliptin: a review of its use in the management of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, **70**(4), 489-512. doi:10.2165/11203790-000000000-00000
- DINCER, U. D., BIDASEE, K. R., GUNER, S., TAY, A., OZCELIKAY, A. T., & ALTAN, V. M. (2001). The effect of diabetes on expression of beta1-, beta2-, and beta3-adrenoreceptors in rat hearts. *Diabetes*, **50**(2), 455-461.
- DRIES, D. L., SWEITZER, N. K., DRAZNER, M. H., STEVENSON, L. W., & GERSH, B. J. (2001). Prognostic impact of diabetes mellitus in patients with heart failure according to the etiology of left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol*, **38**(2), 421-428.
- EL-ARMOUCHE, A., BEDNORZ, A., PAMMINGER, T., DITZ, D., DIDIE, M., DOBREV, D., & ESCHENHAGEN, T. (2006). Role of calcineurin and protein phosphatase-2A in the regulation of phosphatase inhibitor-1 in cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, **346**(3), 700-706. doi:10.1016/j.bbrc.2006.05.182
- EL-BENNA, J., DANG, P. M., GOUGEROT-POCIDALO, M. A., MARIE, J. C., & BRAUT-BOUCHER, F. (2009). p47phox, the phagocyte NADPH oxidase/NOX2 organizer: structure, phosphorylation and implication in diseases. *Exp Mol Med*, **41**(4), 217-225. doi:10.3858/em.2009.41.4.058
- EMORINE, L. J., MARULLO, S., BRIEND-SUTREN, M. M., PATEY, G., TATE, K., DELAVIER-KLUTCHKO, C., & STROSBURG, A. D. (1989). Molecular characterization of the human beta 3-adrenergic receptor. *Science*, **245**(4922), 1118-1121.

- ESPOSITO, G., CAPPETTA, D., RUSSO, R., RIVELLINO, A., CIUFFREDA, L. P., ROVIEZZO, F., . . . URBANEK, K. (2016). Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor sitagliptin reduces inflammation, fibrosis and preserves diastolic function in a rat model of heart failure with preserved ejection fraction. *Br J Pharmacol*. doi:10.1111/bph.13686
- FADINI, G. P., ALBIERO, M., & AVOGARO, A. (2015). Direct effects of DPP-4 inhibition on the vasculature. Reconciling basic evidence with lack of clinical evidence. *Vascul Pharmacol*, **73**, 1-3. doi:10.1016/j.vph.2015.08.004
- FALCAO-PIRES, I., & LEITE-MOREIRA, A. F. (2012). Diabetic cardiomyopathy: understanding the molecular and cellular basis to progress in diagnosis and treatment. *Heart Fail Rev*, **17**(3), 325-344. doi:10.1007/s10741-011-9257-z
- FANG, Z. Y., PRINS, J. B., & MARWICK, T. H. (2004). Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications. *Endocr Rev*, **25**(4), 543-567. doi:10.1210/er.2003-0012
- FISMAN, E. Z., & TENENBAUM, A. (2015). Antidiabetic treatment with gliptins: focus on cardiovascular effects and outcomes. *Cardiovasc Diabetol*, **14**, 129. doi:10.1186/s12933-015-0294-0
- FITCHETT, D. H., UDELL, J. A., & INZUCCHI, S. E. (2016). Heart failure outcomes in clinical trials of glucose-lowering agents in patients with diabetes. *Eur J Heart Fail*. doi:10.1002/ehf.633
- FLYVBJERG, A. (2000). Putative pathophysiological role of growth factors and cytokines in experimental diabetic kidney disease. *Diabetologia*, **43**(10), 1205-1223. doi:10.1007/s001250051515
- FORCHERON, F., BASSET, A., ABDALLAH, P., DEL CARMINE, P., GADOT, N., & BEYLOT, M. (2009). Diabetic cardiomyopathy: effects of fenofibrate and metformin in an experimental model--the Zucker diabetic rat. *Cardiovasc Diabetol*, **8**, 16. doi:10.1186/1475-2840-8-16
- FU, Q., WANG, Q., & XIANG, Y. K. (2017). Insulin and beta Adrenergic Receptor Signaling: Crosstalk in Heart. *Trends Endocrinol Metab*. doi:10.1016/j.tem.2017.02.002
- FU, Q., & XIANG, Y. K. (2015). Trafficking of beta-Adrenergic Receptors: Implications in Intracellular Receptor Signaling. *Prog Mol Biol Transl Sci*, **132**, 151-188. doi:10.1016/bs.pmbts.2015.03.008
- FU, Y., XIAO, H., & ZHANG, Y. (2012). Beta-adrenoceptor signaling pathways mediate cardiac pathological remodeling. *Front Biosci (Elite Ed)*, **4**, 1625-1637.
- FUJIMOTO, W. Y. (2000). The importance of insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Am J Med*, **108 Suppl 6a**, 9S-14S.
- GAUTHIER, C., TAVERNIER, G., CHARPENTIER, F., LANGIN, D., & LE MAREC, H. (1996). Functional beta3-adrenoceptor in the human heart. *J Clin Invest*, **98**(2), 556-562. doi:10.1172/JCI118823
- GELZINIS, T. A. (2014). New Insights Into Diastolic Dysfunction and Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*, **18**(2), 208-217. doi:10.1177/1089253213510748
- GEORGE, M. S., & PITT, G. S. (2006). The real estate of cardiac signaling: location, location, location. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**(20), 7535-7536. doi:10.1073/pnas.0602389103

- GIRARD, J. (2008). The incretins: from the concept to their use in the treatment of type 2 diabetes. Part A: incretins: concept and physiological functions. *Diabetes Metab*, **34(6 Pt 1)**, 550-559. doi:10.1016/j.diabet.2008.09.001
- GOKE, B., GALLWITZ, B., ERIKSSON, J., HELLQVIST, A., GAUSE-NILSSON, I., & INVESTIGATORS, D. C. (2010). Saxagliptin is non-inferior to glipizide in patients with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled on metformin alone: a 52-week randomised controlled trial. *Int J Clin Pract*, **64(12)**, 1619-1631. doi:10.1111/j.1742-1241.2010.02510.x
- GOUD, A., ZHONG, J., PETERS, M., BROOK, R. D., & RAJAGOPALAN, S. (2016). GLP-1 Agonists and Blood Pressure: A Review of the Evidence. *Curr Hypertens Rep*, **18(2)**, 16. doi:10.1007/s11906-015-0621-6
- GRAHAM, D. J., OUELLET-HELLSTROM, R., MACURDY, T. E., ALI, F., SHOLLEY, C., WORRALL, C., & KELMAN, J. A. (2010). Risk of acute myocardial infarction, stroke, heart failure, and death in elderly Medicare patients treated with rosiglitazone or pioglitazone. *JAMA*, **304(4)**, 411-418. doi:10.1001/jama.2010.920
- GRANT, P. J. (2003). Beneficial effects of metformin on haemostasis and vascular function in man. *Diabetes Metab*, **29(4 Pt 2)**, 6S44-52.
- GREEN, J. B., BETHEL, M. A., ARMSTRONG, P. W., BUSE, J. B., ENGEL, S. S., GARG, J., . . . GROUP, T. S. (2015). Effect of Sitagliptin on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*, **373(3)**, 232-242. doi:10.1056/NEJMoa1501352
- GREEN, J. B., BETHEL, M. A., PAUL, S. K., RING, A., KAUFMAN, K. D., SHAPIRO, D. R., . . . HOLMAN, R. R. (2013). Rationale, design, and organization of a randomized, controlled Trial Evaluating Cardiovascular Outcomes with Sitagliptin (TECOS) in patients with type 2 diabetes and established cardiovascular disease. *Am Heart J*, **166(6)**, 983-989 e987. doi:10.1016/j.ahj.2013.09.003
- GUIMARAES, S., & MOURA, D. (2001). Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacol Rev*, **53(2)**, 319-356.
- HAGE, C., BRISMAR, K., LUNDMAN, P., NORHAMMAR, A., RYDEN, L., & MELLBIN, L. (2014). The DPP-4 inhibitor sitagliptin and endothelial function in patients with acute coronary syndromes and newly detected glucose perturbations: A report from the BEGAMI study. *Diab Vasc Dis Res*, **11(4)**, 290-293. doi:10.1177/1479164114533355
- HAMDANI, N., HERVENT, A. S., VANDEKERCKHOVE, L., MATHEEUSSEN, V., DEMOLDER, M., BAERTS, L., . . . DE KEULENAER, G. W. (2014). Left ventricular diastolic dysfunction and myocardial stiffness in diabetic mice is attenuated by inhibition of dipeptidyl peptidase 4. *Cardiovasc Res*, **104(3)**, 423-431. doi:10.1093/cvr/cvu223
- HARMANCEY, R., HAIGHT, D. L., WATTS, K. A., & TAEGTMEYER, H. (2015). Chronic Hyperinsulinemia Causes Selective Insulin Resistance and Down-regulates Uncoupling Protein 3 (UCP3) through the Activation of Sterol Regulatory Element-binding Protein (SREBP)-1 Transcription Factor in the Mouse Heart. *J Biol Chem*, **290(52)**, 30947-30961. doi:10.1074/jbc.M115.673988
- HE, H., GIORDANO, F. J., HILAL-DANDAN, R., CHOI, D. J., ROCKMAN, H. A., MCDONOUGH, P. M., . . . DILLMANN, W. H. (1997). Overexpression of the rat sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase gene in the heart of transgenic mice accelerates calcium transients and cardiac relaxation. *J Clin Invest*, **100(2)**, 380-389. doi:10.1172/JCI119544
- HEATHER, L. C., CATCHPOLE, A. F., STUCKEY, D. J., COLE, M. A., CARR, C. A., & CLARKE, K. (2009). Isoproterenol induces in vivo functional and metabolic abnormalities: similar to those found in the infarcted rat heart. *J Physiol Pharmacol*, **60(3)**, 31-39.

- HINNEN, D. (2015). Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors in Diverse Patient Populations With Type 2 Diabetes. *Diabetes Educ*, **41(1 Suppl)**, 19S-31S. doi:10.1177/0145721715609420
- HOLLANDER, P. A., LEVY, P., FINEMAN, M. S., MAGGS, D. G., SHEN, L. Z., STROBEL, S. A., . . . KOLTERMAN, O. G. (2003). Pramlintide as an adjunct to insulin therapy improves long-term glycemic and weight control in patients with type 2 diabetes: a 1-year randomized controlled trial. *Diabetes Care*, **26(3)**, 784-790.
- HU, Y., LIU, H., SIMPSON, R. W., & DEAR, A. E. (2013). GLP-1-dependent and independent effects and molecular mechanisms of a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor in vascular endothelial cells. *Mol Biol Rep*, **40(3)**, 2273-2279. doi:10.1007/s11033-012-2290-8
- HUISAMEN, B., GENIS, A., MARAIS, E., & LOCHNER, A. (2011). Pre-treatment with a DPP-4 inhibitor is infarct sparing in hearts from obese, pre-diabetic rats. *Cardiovasc Drugs Ther*, **25(1)**, 13-20. doi:10.1007/s10557-010-6271-7
- IRANNEJAD, R., TOMSHINE, J. C., TOMSHINE, J. R., CHEVALIER, M., MAHONEY, J. P., STEYAERT, J., . . . VON ZASTROW, M. (2013). Conformational biosensors reveal GPCR signalling from endosomes. *Nature*, **495(7442)**, 534-538. doi:10.1038/nature12000
- JAYAWARDENE, D., WARD, G. M., O'NEAL, D. N., THEVERKALAM, G., MACISAAC, A. I., & MACISAAC, R. J. (2014). New treatments for type 2 diabetes: cardiovascular protection beyond glucose lowering? *Heart Lung Circ*, **23(11)**, 997-1008. doi:10.1016/j.hlc.2014.05.007
- JENSEN, E. P., POULSEN, S. S., KISSOW, H., HOLSTEIN-RATHLOU, N. H., DEACON, C. F., JENSEN, B. L., . . . SORENSEN, C. M. (2015). Activation of GLP-1 receptors on vascular smooth muscle cells reduces the autoregulatory response in afferent arterioles and increases renal blood flow. *Am J Physiol Renal Physiol*, **308(8)**, F867-877. doi:10.1152/ajprenal.00527.2014
- JOSE, T., & INZUCCHI, S. E. (2012). Cardiovascular effects of the DPP-4 inhibitors. *Diab Vasc Dis Res*, **9(2)**, 109-116. doi:10.1177/1479164111436236
- KAYKI-MUTLU, G., ARIOGLU-INAN, E., OZAKCA, I., OZCELIKAY, A. T., & ALTAN, V. M. (2014). beta3-Adrenoceptor-mediated responses in diabetic rat heart. *Gen Physiol Biophys*, **33(1)**, 99-109. doi:10.4149/gpb_2013065
- KATOUT, M., ZHU, H., RUTSKY, J., SHAH, P., BROOK, R. D., ZHONG, J., & RAJAGOPALAN, S. (2014). Effect of GLP-1 mimetics on blood pressure and relationship to weight loss and glycemia lowering: results of a systematic meta-analysis and meta-regression. *Am J Hypertens*, **27(1)**, 130-139. doi:10.1093/ajh/hpt196
- KELLY, A. S., BERGENSTAL, R. M., GONZALEZ-CAMPOY, J. M., KATZ, H., & BANK, A. J. (2012). Effects of exenatide vs. metformin on endothelial function in obese patients with pre-diabetes: a randomized trial. *Cardiovasc Diabetol*, **11**, 64. doi:10.1186/1475-2840-11-64
- KENNEDY, R. L., & KHOO, E. Y. (2005). New options for drug treatment of obesity in patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med*, **22 Suppl 4**, 23-26. doi:10.1111/j.1464-5491.2005.1761h.x
- KHAN, S., KHAN, S., PANDA, B. P., AKHTAR, M., & NAJMI, A. K. (2015). Potential effects of vildagliptin on biomarkers associated with prothrombosis in diabetes mellitus. *Expert Opin Ther Targets*, **19(12)**, 1607-1616. doi:10.1517/14728222.2016.1086338
- KIM, J. Y., YANG, S., LEE, J. I., & CHANG, M. J. (2016). Cardiovascular Effect of Incretin-Based Therapy in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*, **11(4)**, e0153502. doi:10.1371/journal.pone.0153502

- KIM, M., PLATT, M. J., SHIBASAKI, T., QUAGGIN, S. E., BACKX, P. H., SEINO, S., . . . DRUCKER, D. J. (2013). GLP-1 receptor activation and Epac2 link atrial natriuretic peptide secretion to control of blood pressure. *Nat Med*, **19**(5), 567-575. doi:10.1038/nm.3128
- KING, P., PEACOCK, I., & DONNELLY, R. (1999). The UK prospective diabetes study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. *Br J Clin Pharmacol*, **48**(5), 643-648.
- KLUZ, J., & ADAMIEC, R. (2006). [New therapeutic approach in patients with type 2 diabetes based on glucagon-like peptide 1 (GLP-1) and gastric inhibitory peptide (GIP)]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, **60**, 15-23.
- KNOWLER, W. C., BARRETT-CONNOR, E., FOWLER, S. E., HAMMAN, R. F., LACHIN, J. M., WALKER, E. A., . . . DIABETES PREVENTION PROGRAM RESEARCH, G. (2002). Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*, **346**(6), 393-403. doi:10.1056/NEJMoa012512
- KOREN, S., SHEMESH-BAR, L., TIROSH, A., PELEG, R. K., BERMAN, S., HAMAD, R. A., . . . EFRATI, S. (2012). The effect of sitagliptin versus glibenclamide on arterial stiffness, blood pressure, lipids, and inflammation in type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Technol Ther*, **14**(7), 561-567. doi:10.1089/dia.2011.0296
- KOSS, K. L., & KRANIAS, E. G. (1996). Phospholamban: a prominent regulator of myocardial contractility. *Circ Res*, **79**(6), 1059-1063.
- KOTTENBERG, E., THIELMANN, M., KLEINBONGARD, P., FREY, U. H., HEINE, T., JAKOB, H., . . . PETERS, J. (2014). Myocardial protection by remote ischaemic pre-conditioning is abolished in sulphonylurea-treated diabetics undergoing coronary revascularisation. *Acta Anaesthesiol Scand*, **58**(4), 453-462. doi:10.1111/aas.12278
- KRENTZ, A. J., & BAILEY, C. J. (2005). Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, **65**(3), 385-411.
- KRENTZ, A. J., PATEL, M. B., & BAILEY, C. J. (2008). New drugs for type 2 diabetes mellitus: what is their place in therapy? *Drugs*, **68**(15), 2131-2162.
- KUNA, R. S., GIRADA, S. B., ASALLA, S., VALLENTYNE, J., MADDIKA, S., PATTERSON, J. T., . . . MITRA, P. (2013). Glucagon-like peptide-1 receptor-mediated endosomal cAMP generation promotes glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic beta-cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **305**(2), E161-170. doi:10.1152/ajpendo.00551.2012
- LEE, T. I., KAO, Y. H., CHEN, Y. C., HUANG, J. H., HSU, M. I., & CHEN, Y. J. (2013). The dipeptidyl peptidase-4 inhibitor-sitagliptin modulates calcium dysregulation, inflammation, and PPARs in hypertensive cardiomyocytes. *Int J Cardiol*, **168**(6), 5390-5395. doi:10.1016/j.ijcard.2013.08.051
- LEE, T. M., CHEN, W. T., & CHANG, N. C. (2015). Dipeptidyl peptidase-4 inhibition attenuates arrhythmias via a protein kinase A-dependent pathway in infarcted hearts. *Circ J*, **79**(11), 2461-2470. doi:10.1253/circj.CJ-15-0515
- LEE, T. M., CHEN, W. T., & CHANG, N. C. (2016). Sitagliptin decreases ventricular arrhythmias by attenuated glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)-dependent resistin signalling in infarcted rats. *Biosci Rep*, **36**(2). doi:10.1042/BSR20150139
- LITTLE, T. J., PILICHIEWICZ, A. N., RUSSO, A., PHILLIPS, L., JONES, K. L., NAUCK, M. A., . . . FEINLE-BISSET, C. (2006). Effects of intravenous glucagon-like peptide-1 on gastric emptying and intragastric distribution in healthy subjects: relationships with postprandial glycemic and insulinemic responses. *J Clin Endocrinol Metab*, **91**(5), 1916-1923. doi:10.1210/jc.2005-2220

- LIU, L., LIU, J., WONG, W. T., TIAN, X. Y., LAU, C. W., WANG, Y. X., . . . HUANG, Y. (2012). Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor sitagliptin protects endothelial function in hypertension through a glucagon-like peptide 1-dependent mechanism. *Hypertension*, **60**(3), 833-841. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.195115
- LIU, X., XU, Q., WANG, X., ZHAO, Z., ZHANG, L., ZHONG, L., . . . GE, Z. (2015). Irbesartan ameliorates diabetic cardiomyopathy by regulating protein kinase D and ER stress activation in a type 2 diabetes rat model. *Pharmacol Res*, **93**, 43-51. doi:10.1016/j.phrs.2015.01.001
- LIU, Z., ZHAO, N., ZHU, H., ZHU, S., PAN, S., XU, J., . . . WANG, J. (2015). Circulating interleukin-1 β promotes endoplasmic reticulum stress-induced myocytes apoptosis in diabetic cardiomyopathy via interleukin-1 receptor-associated kinase-2. *Cardiovasc Diabetol*, **14**, 125. doi:10.1186/s12933-015-0288-y
- LU, C. J., SUN, Y., MUO, C. H., CHEN, R. C., CHEN, P. C., & HSU, C. Y. (2013). Risk of stroke with thiazolidinediones: a ten-year nationwide population-based cohort study. *Cerebrovasc Dis*, **36**(2), 145-151. doi:10.1159/000353679
- LYMPEROPOULOS, A., RENGO, G., & KOCH, W. J. (2013). Adrenergic nervous system in heart failure: pathophysiology and therapy. *Circ Res*, **113**(6), 739-753. doi:10.1161/CIRCRESAHA.113.300308
- MA, L., GUL, R., HABIBI, J., YANG, M., PULAKAT, L., WHALEY-CONNELL, A., . . . SOWERS, J. R. (2012). Nebivolol improves diastolic dysfunction and myocardial remodeling through reductions in oxidative stress in the transgenic (mRen2) rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **302**(11), H2341-2351. doi:10.1152/ajpheart.01126.2011
- MAISCH, B., ALTER, P., & PANKUWEIT, S. (2011). Diabetic cardiomyopathy--fact or fiction? *Herz*, **36**(2), 102-115. doi:10.1007/s00059-011-3429-4
- MANGMOOL, S., DENKAEW, T., PARICHATIKANOND, W., & KUROSE, H. (2017). beta-Adrenergic Receptor and Insulin Resistance in the Heart. *Biomol Ther (Seoul)*, **25**(1), 44-56. doi:10.4062/biomolther.2016.128
- MANGMOOL, S., DENKAEW, T., PHOSRI, S., PINTHONG, D., PARICHATIKANOND, W., SHIMAUCHI, T., & NISHIDA, M. (2016). Sustained betaAR Stimulation Mediates Cardiac Insulin Resistance in a PKA-Dependent Manner. *Mol Endocrinol*, **30**(1), 118-132. doi:10.1210/me.2015-1201
- MANNUCCI, E., PALA, L., CIANI, S., BARDINI, G., PEZZATINI, A., SPOSATO, I., . . . ROTELLA, C. M. (2005). Hyperglycaemia increases dipeptidyl peptidase IV activity in diabetes mellitus. *Diabetologia*, **48**(6), 1168-1172. doi:10.1007/s00125-005-1749-8
- MASON, R. P., JACOB, R. F., KUBANT, R., CISZEWSKI, A., CORBALAN, J. J., & MALINSKI, T. (2012). Dipeptidyl peptidase-4 inhibition with saxagliptin enhanced nitric oxide release and reduced blood pressure and sICAM-1 levels in hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, **60**(5), 467-473. doi:10.1097/FJC.0b013e31826be204
- MASSION, P. B., FERON, O., DESSY, C., & BALLIGAND, J. L. (2003). Nitric oxide and cardiac function: ten years after, and continuing. *Circ Res*, **93**(5), 388-398. doi:10.1161/01.RES.0000088351.58510.21
- MATSUBARA, J., SUGIYAMA, S., AKIYAMA, E., IWASHITA, S., KUROKAWA, H., OHBA, K., . . . OGAWA, H. (2013). Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, sitagliptin, improves endothelial dysfunction in association with its anti-inflammatory effects in patients with coronary artery disease and uncontrolled diabetes. *Circ J*, **77**(5), 1337-1344.

- MCINNES, G., EVANS, M., DEL PRATO, S., STUMVOLL, M., SCHWEIZER, A., LUKASHEVICH, V., . . . KOTHNY, W. (2015). Cardiovascular and heart failure safety profile of vildagliptin: a meta-analysis of 17 000 patients. *Diabetes Obes Metab*, **17**(11), 1085-1092. doi:10.1111/dom.12548
- MITA, T., KATAKAMI, N., SHIRAIWA, T., YOSHII, H., ONUMA, T., KURIBAYASHI, N., . . . COLLABORATORS ON THE SITAGLIPTIN PREVENTIVE STUDY OF INTIMA-MEDIA THICKNESS EVALUATION, T. (2016). Sitagliptin Attenuates the Progression of Carotid Intima-Media Thickening in Insulin-Treated Patients With Type 2 Diabetes: The Sitagliptin Preventive Study of Intima-Media Thickness Evaluation (SPIKE): A Randomized Controlled Trial. *Diabetes Care*, **39**(3), 455-464. doi:10.2337/dc15-2145
- MITA, T., KATAKAMI, N., YOSHII, H., ONUMA, T., KANETO, H., OSONOI, T., . . . COLLABORATORS ON THE STUDY OF PREVENTIVE EFFECTS OF ALOGLIPTIN ON DIABETIC ATHEROSCLEROSIS, T. (2016). Alogliptin, a Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitor, Prevents the Progression of Carotid Atherosclerosis in Patients With Type 2 Diabetes: The Study of Preventive Effects of Alogliptin on Diabetic Atherosclerosis (SPEAD-A). *Diabetes Care*, **39**(1), 139-148. doi:10.2337/dc15-0781
- MIZUNO, C. S., CHITTIBOYINA, A. G., KURTZ, T. W., PERSHADSINGH, H. A., & AVERY, M. A. (2008). Type 2 diabetes and oral antihyperglycemic drugs. *Curr Med Chem*, **15**(1), 61-74.
- MOBERLY, S. P., MATHER, K. J., BERWICK, Z. C., OWEN, M. K., GOODWILL, A. G., CASALINI, E. D., . . . TUNE, J. D. (2013). Impaired cardiometabolic responses to glucagon-like peptide 1 in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Basic Res Cardiol*, **108**(4), 365. doi:10.1007/s00395-013-0365-x
- MOENS, A. L., LEYTON-MANGE, J. S., NIU, X., YANG, R., CINGOLANI, O., ARKENBOUT, E. K., . . . BAROUCH, L. A. (2009). Adverse ventricular remodeling and exacerbated NOS uncoupling from pressure-overload in mice lacking the beta3-adrenoreceptor. *J Mol Cell Cardiol*, **47**(5), 576-585. doi:10.1016/j.yjmcc.2009.06.005
- MOENS, A. L., YANG, R., WATTS, V. L., & BAROUCH, L. A. (2010). Beta 3-adrenoreceptor regulation of nitric oxide in the cardiovascular system. *J Mol Cell Cardiol*, **48**(6), 1088-1095. doi:10.1016/j.yjmcc.2010.02.011
- MOGENSEN, U. M., ANDERSSON, C., FOSBOL, E. L., SCHRAMM, T. K., VAAG, A., SCHELLER, N. M., . . . KOBER, L. (2015). Metformin in combination with various insulin secretagogues in type 2 diabetes and associated risk of cardiovascular morbidity and mortality-a retrospective nationwide study. *Diabetes Res Clin Pract*, **107**(1), 104-112. doi:10.1016/j.diabres.2014.09.047
- MONGILLO, M., TOCCHETTI, C. G., TERRIN, A., LISSANDRON, V., CHEUNG, Y. F., DOSTMANN, W. R., . . . ZACCOLO, M. (2006). Compartmentalized phosphodiesterase-2 activity blunts beta-adrenergic cardiac inotropy via an NO/cGMP-dependent pathway. *Circ Res*, **98**(2), 226-234. doi:10.1161/01.RES.0000200178.34179.93
- MONIOTTE, S., KOBZIK, 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**(12), 1649-1655.
- MONTILLA, S., MARCHESINI, G., SAMMARCO, A., TROTTA, M. P., SIVIERO, P. D., TOMINO, C., . . . GROUP, A. A.-D. M. (2014). Drug utilization, safety, and effectiveness of exenatide, sitagliptin, and vildagliptin for type 2 diabetes in the real world: data from the Italian AIFA Anti-diabetics Monitoring Registry. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, **24**(12), 1346-1353. doi:10.1016/j.numecd.2014.07.014

- MORISCO, C., CONDORELLI, G., TRIMARCO, V., BELLIS, A., MARRONE, C., CONDORELLI, G., . . . TRIMARCO, B. (2005). Akt mediates the cross-talk between beta-adrenergic and insulin receptors in neonatal cardiomyocytes. *Circ Res*, **96**(2), 180-188. doi:10.1161/01.RES.0000152968.71868.c3
- MORISCO, C., MARRONE, C., TRIMARCO, V., CRISPO, S., MONTI, M. G., SADOSHIMA, J., & TRIMARCO, B. (2007). Insulin resistance affects the cytoprotective effect of insulin in cardiomyocytes through an impairment of MAPK phosphatase-1 expression. *Cardiovasc Res*, **76**(3), 453-464. doi:10.1016/j.cardiores.2007.07.012
- NANTEL, F., BONIN, H., EMORINE, L. J., ZILBERFARB, V., STROSBERG, A. D., BOUVIER, M., & MARULLO, S. (1993). The human beta 3-adrenergic receptor is resistant to short term agonist-promoted desensitization. *Mol Pharmacol*, **43**(4), 548-555.
- NAPP, A., BRIXIUS, K., POTT, C., ZISKOVEN, C., BOELCK, B., MEHLHORN, U., . . . BLOCH, W. (2009). Effects of the beta3-adrenergic agonist BRL 37344 on endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and force of contraction in human failing myocardium. *J Card Fail*, **15**(1), 57-67. doi:10.1016/j.cardfail.2008.08.006
- NESTEL, P. J., KHAN, A. A., STRAZNICKY, N. E., MELLETT, N. A., JAYAWARDANA, K., MUNDRA, P. A., . . . MEIKLE, P. J. (2017). Markers of sympathetic nervous system activity associate with complex plasma lipids in metabolic syndrome subjects. *Atherosclerosis*, **256**, 21-28. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.11.032
- NIKOLAIDIS, L. A., MANKAD, S., SOKOS, G. G., MISKE, G., SHAH, A., ELAHI, D., & SHANNON, R. P. (2004). Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation*, **109**(8), 962-965. doi:10.1161/01.CIR.0000120505.91348.58
- NISHIO, Y., KASHIWAGI, A., KIDA, Y., KODAMA, M., ABE, N., SAEKI, Y., & SHIGETA, Y. (1988). Deficiency of cardiac beta-adrenergic receptor in streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, **37**(9), 1181-1187.
- NIU, X., WATTS, V. L., CINGOLANI, O. H., SIVAKUMARAN, V., LEYTON-MANGE, J. S., ELLIS, C. L., . . . BAROUCH, L. A. (2012). Cardioprotective effect of beta-3 adrenergic receptor agonism: role of neuronal nitric oxide synthase. *J Am Coll Cardiol*, **59**(22), 1979-1987. doi:10.1016/j.jacc.2011.12.046
- OGAWA, S., ISHIKI, M., NAKO, K., OKAMURA, M., SENDA, M., MORI, T., & ITO, S. (2011). Sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, decreases systolic blood pressure in Japanese hypertensive patients with type 2 diabetes. *Tohoku J Exp Med*, **223**(2), 133-135.
- OKONKO, D. O., & SHAH, A. M. (2015). Heart failure: mitochondrial dysfunction and oxidative stress in CHF. *Nat Rev Cardiol*, **12**(1), 6-8. doi:10.1038/nrcardio.2014.189
- PICATOSTE, B., RAMIREZ, E., CARO-VADILLO, A., IBORRA, C., ARES-CARRASCO, S., EGIDO, J., . . . LORENZO, O. (2013). Sitagliptin reduces cardiac apoptosis, hypertrophy and fibrosis primarily by insulin-dependent mechanisms in experimental type-II diabetes. Potential roles of GLP-1 isoforms. *PLoS One*, **8**(10), e78330. doi:10.1371/journal.pone.0078330
- PLOSKER, G. L. (2014). Sitagliptin: a review of its use in patients with type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, **74**(2), 223-242. doi:10.1007/s40265-013-0169-1
- POTT, C., BRIXIUS, K., BLOCH, W., ZISKOVEN, C., NAPP, A., & SCHWINGER, R. H. (2006). Beta3-adrenergic stimulation in the human heart: signal transduction, functional implications and therapeutic perspectives. *Pharmazie*, **61**(4), 255-260.

- POUDYAL, H. (2016). Mechanisms for the cardiovascular effects of glucagon-like peptide-1. *Acta Physiol (Oxf)*, **216**(3), 277-313. doi:10.1111/apha.12604
- PSATY, B. M., & FURBERG, C. D. (2007). The record on rosiglitazone and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*, **357**(1), 67-69. doi:10.1056/NEJMe078116
- RANGANATH, L. R. (2008). Incretins: pathophysiological and therapeutic implications of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1. *J Clin Pathol*, **61**(4), 401-409. doi:10.1136/jcp.2006.043232
- RAO, A. D., KUHADIYA, N., REYNOLDS, K., & FONSECA, V. A. (2008). Is the combination of sulfonylureas and metformin associated with an increased risk of cardiovascular disease or all-cause mortality?: a meta-analysis of observational studies. *Diabetes Care*, **31**(8), 1672-1678. doi:10.2337/dc08-0167
- REIMER, R. A., GROVER, G. J., KOETZNER, L., GAHLER, R. J., JUNEJA, P., LYON, M. R., & WOOD, S. (2012). Sitagliptin reduces hyperglycemia and increases satiety hormone secretion more effectively when used with a novel polysaccharide in obese Zucker rats. *J Nutr*, **142**(10), 1812-1820. doi:10.3945/jn.112.163204
- RIEHLE, C., & ABEL, E. D. (2016). Insulin Signaling and Heart Failure. *Circ Res*, **118**(7), 1151-1169. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.306206
- ROCKMAN, H. A., KOCH, W. J., & LEFKOWITZ, R. J. (2002). Seven-transmembrane-spanning receptors and heart function. *Nature*, **415**(6868), 206-212. doi:10.1038/415206a
- RODEN, M. (2016). [Diabetes mellitus: definition, classification and diagnosis]. *Wien Klin Wochenschr*, **128 Suppl 2**, S37-40. doi:10.1007/s00508-015-0931-3
- ROHRBORN, D., WRONKOWITZ, N., & ECKEL, J. (2015). DPP4 in Diabetes. *Front Immunol*, **6**, 386. doi:10.3389/fimmu.2015.00386
- ROSE, B. A., FORCE, T., & WANG, Y. (2010). Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: angels versus demons in a heart-breaking tale. *Physiol Rev*, **90**(4), 1507-1546. doi:10.1152/physrev.00054.2009
- ROSENSTOCK, J., MARX, N., NEUBACHER, D., SECK, T., PATEL, S., WOERLE, H. J., & JOHANSEN, O. E. (2015). Cardiovascular safety of linagliptin in type 2 diabetes: a comprehensive patient-level pooled analysis of prospectively adjudicated cardiovascular events. *Cardiovasc Diabetol*, **14**, 57. doi:10.1186/s12933-015-0215-2
- ROZEC, B., NOIREAUD, J., TROCHU, J. N., & GAUTHIER, C. (2003). Place of beta 3-adrenoceptors among other beta-adrenoceptor subtypes in the regulation of the cardiovascular system. *Arch Mal Coeur Vaiss*, **96**(9), 905-913.
- SALLING, H. K., DOHLER, K. D., ENGSTROM, T., & TREIMAN, M. (2012). Postconditioning with curaglutide, a novel GLP-1 analog, protects against heart ischemia-reperfusion injury in an isolated rat heart. *Regul Pept*, **178**(1-3), 51-55. doi:10.1016/j.regpep.2012.06.007
- SANTULLI, G., & IACCARINO, G. (2013). Pinpointing beta adrenergic receptor in ageing pathophysiology: victim or executioner? Evidence from crime scenes. *Immun Ageing*, **10**(1), 10. doi:10.1186/1742-4933-10-10
- SANTULLI, G., & IACCARINO, G. (2016). Adrenergic signaling in heart failure and cardiovascular aging. *Maturitas*, **93**, 65-72. doi:10.1016/j.maturitas.2016.03.022

- SARAIVA, F. K., & SPOSITO, A. C. (2014). Cardiovascular effects of glucagon-like peptide 1 (GLP-1) receptor agonists. *Cardiovasc Diabetol*, **13**, 142. doi:10.1186/s12933-014-0142-7
- SAUVE, M., BAN, K., MOMEN, M. A., ZHOU, Y. Q., HENKELMAN, R. M., HUSAIN, M., & DRUCKER, D. J. (2010). Genetic deletion or pharmacological inhibition of dipeptidyl peptidase-4 improves cardiovascular outcomes after myocardial infarction in mice. *Diabetes*, **59**(4), 1063-1073. doi:10.2337/db09-0955
- SAVARESE, G., PERRONE-FILARDI, P., D'AMORE, C., VITALE, C., TRIMARCO, B., PANI, L., & ROSANO, G. M. (2015). Cardiovascular effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in diabetic patients: A meta-analysis. *Int J Cardiol*, **181**, 239-244. doi:10.1016/j.ijcard.2014.12.017
- SCHEEN, A. J. (2012). A review of gliptins in 2011. *Expert Opin Pharmacother*, **13**(1), 81-99. doi:10.1517/14656566.2012.642866
- SCHEEN, A. J. (2013). Cardiovascular effects of gliptins. *Nat Rev Cardiol*, **10**(2), 73-84. doi:10.1038/nrcardio.2012.183
- SCIRICA, B. M., BHATT, D. L., BRAUNWALD, E., STEG, P. G., DAVIDSON, J., HIRSHBERG, B., . . . INVESTIGATORS. (2013). Saxagliptin and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*, **369**(14), 1317-1326. doi:10.1056/NEJMoa1307684
- SCIRICA, B. M., BRAUNWALD, E., RAZ, I., CAVENDER, M. A., MORROW, D. A., JAROLIM, P., . . . INVESTIGATORS. (2015). Heart Failure, Saxagliptin, and Diabetes Mellitus: Observations from the SAVOR-TIMI 53 Randomized Trial. *Circulation*, **132**(15), e198. doi:10.1161/CIR.0000000000000330
- SCOTT, L. J. (2017). Sitagliptin: A Review in Type 2 Diabetes. *Drugs*, **77**(2), 209-224. doi:10.1007/s40265-016-0686-9
- SHAH, Z., PINEDA, C., KAMPFRATH, T., MAISEYEU, A., YING, Z., RACOMA, I., . . . RAJAGOPALAN, S. (2011). Acute DPP-4 inhibition modulates vascular tone through GLP-1 independent pathways. *Vascul Pharmacol*, **55**(1-3), 2-9. doi:10.1016/j.vph.2011.03.001
- SHIMIZU, T., NATHAN, D. M., BUSE, J. B., DAVIDSON, M. B., FERRANNINI, E., HOLMAN, R. R., . . . ZINMAN, B. (2012). [Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes]. *Nihon Rinsho*, **70 Suppl 3**, 591-601.
- SIMO, R., & HERNANDEZ, C. (2016). New Treatments for Type 2 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease. The Revolution Has Begun. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, **69**(11), 1005-1007. doi:10.1016/j.rec.2016.07.009
- SINGH-FRANCO, D., ROBLES, G., & GAZZE, D. (2007). Pramlintide acetate injection for the treatment of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clin Ther*, **29**(4), 535-562. doi:10.1016/j.clinthera.2007.04.005
- SKOV, J., HOLST, J. J., GOTZE, J. P., FROKIAER, J., & CHRISTIANSEN, J. S. (2014). Glucagon-like peptide-1: effect on pro-atrial natriuretic peptide in healthy males. *Endocr Connect*, **3**(1), 11-16. doi:10.1530/EC-13-0087
- SOKOS, G. G., NIKOLAIDIS, L. A., MANKAD, S., ELAHI, D., & SHANNON, R. P. (2006). Glucagon-like peptide-1 infusion improves left ventricular ejection fraction and functional status in patients with chronic heart failure. *J Card Fail*, **12**(9), 694-699. doi:10.1016/j.cardfail.2006.08.211

- STRAZNICKY, N. E., GRIMA, M. T., SARI, C. I., LAMBERT, E. A., PHILLIPS, S. E., EIKELIS, N., . . . LAMBERT, G. W. (2016). Comparable Attenuation of Sympathetic Nervous System Activity in Obese Subjects with Normal Glucose Tolerance, Impaired Glucose Tolerance, and Treatment Naive Type 2 Diabetes following Equivalent Weight Loss. *Front Physiol*, **7**, 516. doi:10.3389/fphys.2016.00516
- SUCHAROV, C. C., MARINER, P. D., NUNLEY, K. R., LONG, C., LEINWAND, L., & BRISTOW, M. R. (2006). A beta1-adrenergic receptor CaM kinase II-dependent pathway mediates cardiac myocyte fetal gene induction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **291**(3), H1299-1308. doi:10.1152/ajpheart.00017.2006
- SUGIMOTO, M., NAKAYAMA, M., GOTO, T. M., AMANO, M., KOMORI, K., & KAIBUCHI, K. (2007). Rho-kinase phosphorylates eNOS at threonine 495 in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, **361**(2), 462-467. doi:10.1016/j.bbrc.2007.07.030
- TA, N. N., SCHUYLER, C. A., LI, Y., LOPES-VIRELLA, M. F., & HUANG, Y. (2011). DPP-4 (CD26) inhibitor alogliptin inhibits atherosclerosis in diabetic apolipoprotein E-deficient mice. *J Cardiovasc Pharmacol*, **58**(2), 157-166. doi:10.1097/FJC.0b013e31821e5626
- TAHRANI, A. A., BARNETT, A. H., & BAILEY, C. J. (2013). SGLT inhibitors in management of diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol*, **1**(2), 140-151. doi:10.1016/S2213-8587(13)70050-0
- TAIGEN, T., DE WINDT, L. J., LIM, H. W., & MOLKENTIN, J. D. (2000). Targeted inhibition of calcineurin prevents agonist-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **97**(3), 1196-1201.
- TAKADA, A., MIKI, T., KUNO, A., KOUZU, H., SUNAGA, D., ITOH, T., . . . MIURA, T. (2012). Role of ER stress in ventricular contractile dysfunction in type 2 diabetes. *PLoS One*, **7**(6), e39893. doi:10.1371/journal.pone.0039893
- TAKAI, S., SAKONJO, H., & JIN, D. (2014). Significance of vascular dipeptidyl peptidase-4 inhibition on vascular protection in Zucker diabetic fatty rats. *J Pharmacol Sci*, **125**(4), 386-393.
- TERASAKI, M., NAGASHIMA, M., NOHTOMI, K., KOHASHI, K., TOMOYASU, M., SINMURA, K., . . . HIRANO, T. (2013). Preventive effect of dipeptidyl peptidase-4 inhibitor on atherosclerosis is mainly attributable to incretin's actions in nondiabetic and diabetic apolipoprotein E-null mice. *PLoS One*, **8**(8), e70933. doi:10.1371/journal.pone.0070933
- TESHIMA, Y., TAKAHASHI, N., SAIKAWA, T., HARA, M., YASUNAGA, S., HIDAKA, S., & SAKATA, T. (2000). Diminished expression of sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase and ryanodine sensitive Ca(2+)Channel mRNA in streptozotocin-induced diabetic rat heart. *J Mol Cell Cardiol*, **32**(4), 655-664. doi:10.1006/jmcc.2000.1107
- THULE, P. M., & UMPIERREZ, G. (2014). Sulfonylureas: a new look at old therapy. *Curr Diab Rep*, **14**(4), 473. doi:10.1007/s11892-014-0473-5
- TURNER, R. C., CULL, C. A., FRIGHI, V., & HOLMAN, R. R. (1999). Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *JAMA*, **281**(21), 2005-2012.
- TSANG, S., WONG, S. S., WU, S., KRAVTSOV, G. M., & WONG, T. M. (2009). Testosterone-augmented contractile responses to alpha1- and beta1-adrenoceptor stimulation are associated with increased activities of RyR, SERCA, and NCX in the heart. *Am J Physiol Cell Physiol*, **296**(4), C766-782. doi:10.1152/ajpcell.00193.2008
- VAN DE LAAR, F. A., LUCASSEN, P. L., AKKERMANS, R. P., VAN DE LISDONK, E. H., RUTTEN, G. E., & VAN WEEL, C. (2005). Alpha-glucosidase inhibitors for patients with

- type 2 diabetes: results from a Cochrane systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*, **28**(1), 154-163.
- VILA PETROFF, M. G., EGAN, J. M., WANG, X., & SOLLOTT, S. J. (2001). Glucagon-like peptide-1 increases cAMP but fails to augment contraction in adult rat cardiac myocytes. *Circ Res*, **89**(5), 445-452.
- WAGSTAFF, A. J., & GOA, K. L. (2002). Rosiglitazone: a review of its use in the management of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, **62**(12), 1805-1837.
- WALDROP, G., ZHONG, J., PETERS, M., & RAJAGOPALAN, S. (2016). Incretin-Based Therapy for Diabetes: What a Cardiologist Needs to Know. *J Am Coll Cardiol*, **67**(12), 1488-1496. doi:10.1016/j.jacc.2015.12.058
- WANG, D., LUO, P., WANG, Y., LI, W., WANG, C., SUN, D., . . . CAO, F. (2013). Glucagon-like peptide-1 protects against cardiac microvascular injury in diabetes via a cAMP/PKA/Rho-dependent mechanism. *Diabetes*, **62**(5), 1697-1708. doi:10.2337/db12-1025
- WEBB, I. G., NISHINO, Y., CLARK, J. E., MURDOCH, C., WALKER, S. J., MAKOWSKI, M. R., . . . MARBER, M. S. (2010). Constitutive glycogen synthase kinase-3alpha/beta activity protects against chronic beta-adrenergic remodelling of the heart. *Cardiovasc Res*, **87**(3), 494-503. doi:10.1093/cvr/cvq061
- WEI, Y., & MOJSOV, S. (1996). Distribution of GLP-1 and PACAP receptors in human tissues. *Acta Physiol Scand*, **157**(3), 355-357. doi:10.1046/j.1365-201X.1996.42256000.x
- WHITE, W. B., CANNON, C. P., HELLER, S. R., NISSEN, S. E., BERGENSTAL, R. M., BAKRIS, G. L., . . . INVESTIGATORS, E. (2013). Alogliptin after acute coronary syndrome in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*, **369**(14), 1327-1335. doi:10.1056/NEJMoa1305889
- WIDLANSKY, M. E., PUPPALA, V. K., SUBOC, T. M., MALIK, M., BRANUM, A., SIGNORELLI, K., . . . TYAGI, S. (2017). Impact of DPP-4 inhibition on acute and chronic endothelial function in humans with type 2 diabetes on background metformin therapy. *Vasc Med*, **1358863X16681486**. doi:10.1177/1358863X16681486
- WILD, S., ROGLIC, G., GREEN, A., SICREE, R., & KING, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, **27**(5), 1047-1053.
- WILLEMEN, M. J., MANTEL-TEEUWISSE, A. K., STRAUS, S. M., MEYBOOM, R. H., EGBERTS, T. C., & LEUFKENS, H. G. (2011). Use of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and the reporting of infections: a disproportionality analysis in the World Health Organization Vigibase. *Diabetes Care*, **34**(2), 369-374. doi:10.2337/dc10-1771
- WILLIAMS, R., DE VRIES, F., KOTHNY, W., SERBAN, C., LOPEZ-LEON, S., CHU, C., & SCHLIENGER, R. (2017). Cardiovascular safety of vildagliptin in patients with type 2 diabetes: A European multi-database, non-interventional post-authorization safety study. *Diabetes Obes Metab*, **19**(10), 1473-1478. doi:10.1111/dom.12951
- WOO, A. Y., & XIAO, R. P. (2012). beta-Adrenergic receptor subtype signaling in heart: from bench to bedside. *Acta Pharmacol Sin*, **33**(3), 335-341. doi:10.1038/aps.2011.201
- WU, S., HOPPER, I., SKIBA, M., & KRUM, H. (2014). Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and cardiovascular outcomes: meta-analysis of randomized clinical trials with 55,141 participants. *Cardiovasc Ther*, **32**(4), 147-158. doi:10.1111/1755-5922.12075
- XIANG, Y., & KOBILKA, B. K. (2003). Myocyte adrenoceptor signaling pathways. *Science*, **300**(5625), 1530-1532. doi:10.1126/science.1079206

- XIAO, R. P., ZHU, W., ZHENG, M., CHAKIR, K., BOND, R., LAKATTA, E. G., & CHENG, H. (2004). Subtype-specific beta-adrenoceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications. *Trends Pharmacol Sci*, **25**(7), 358-365. doi:10.1016/j.tips.2004.05.007
- XIAO, Y. F., NIKOLSKAYA, A., JAYE, D. A., & SIGG, D. C. (2011). Glucagon-like peptide-1 enhances cardiac L-type Ca^{2+} currents via activation of the cAMP-dependent protein kinase A pathway. *Cardiovasc Diabetol*, **10**, 6. doi:10.1186/1475-2840-10-6
- XU, S., WANG, P., ZHANG, H., GONG, G., GUTIERREZ CORTES, N., ZHU, W., . . . WANG, W. (2016). CaMKII induces permeability transition through Drp1 phosphorylation during chronic beta-AR stimulation. *Nat Commun*, **7**, 13189. doi:10.1038/ncomms13189
- YAMAMOTO, H., LEE, C. E., MARCUS, J. N., WILLIAMS, T. D., OVERTON, J. M., LOPEZ, M. E., . . . ELMQUIST, J. K. (2002). Glucagon-like peptide-1 receptor stimulation increases blood pressure and heart rate and activates autonomic regulatory neurons. *J Clin Invest*, **110**(1), 43-52. doi:10.1172/JCI15595
- YE, Y., KEYES, K. T., ZHANG, C., PEREZ-POLO, J. R., LIN, Y., & BIRNBAUM, Y. (2010). The myocardial infarct size-limiting effect of sitagliptin is PKA-dependent, whereas the protective effect of pioglitazone is partially dependent on PKA. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **298**(5), H1454-1465. doi:10.1152/ajpheart.00867.2009
- YANG, J., LIU, Y., FAN, X., LI, Z., & CHENG, Y. (2014). A pathway and network review on beta-adrenoceptor signaling and beta blockers in cardiac remodeling. *Heart Fail Rev*, **19**(6), 799-814. doi:10.1007/s10741-013-9417-4
- ZHANG, L., CANNELL, M. B., PHILLIPS, A. R., COOPER, G. J., & WARD, M. L. (2008). Altered calcium homeostasis does not explain the contractile deficit of diabetic cardiomyopathy. *Diabetes*, **57**(8), 2158-2166. doi:10.2337/db08-0140
- ZHANG, C. S., LI, M., MA, T., ZONG, Y., CUI, J., FENG, J. W., . . . LIN, S. C. (2016). Metformin Activates AMPK through the Lysosomal Pathway. *Cell Metab*, **24**(4), 521-522. doi:10.1016/j.cmet.2016.09.003
- ZHONG, Y., AHMED, S., GRUPP, I. L., & MATLIB, M. A. (2001). Altered SR protein expression associated with contractile dysfunction in diabetic rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **281**(3), H1137-1147. doi:10.1152/ajpheart.2001.281.3.H1137
- ZHU, W., WOO, A. Y., YANG, D., CHENG, H., CROW, M. T., & XIAO, R. P. (2007). Activation of CaMKII δ is a common intermediate of diverse death stimuli-induced heart muscle cell apoptosis. *J Biol Chem*, **282**(14), 10833-10839. doi:10.1074/jbc.M611507200
- ZHU, W. Z., WANG, S. Q., CHAKIR, K., YANG, D., ZHANG, T., BROWN, J. H., . . . XIAO, R. P. (2003). Linkage of beta1-adrenergic stimulation to apoptotic heart cell death through protein kinase A-independent activation of Ca^{2+} /calmodulin kinase II. *J Clin Invest*, **111**(5), 617-625. doi:10.1172/JCI16326
- ZHU, W. Z., ZHENG, M., KOCH, W. J., LEFKOWITZ, R. J., KOBILKA, B. K., & XIAO, R. P. (2001). Dual modulation of cell survival and cell death by beta(2)-adrenergic signaling in adult mouse cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**(4), 1607-1612. doi:10.1073/pnas.98.4.1607
- ZILE, M. R., BAICU, C. F., & GAASCH, W. H. (2004). Diastolic heart failure--abnormalities in active relaxation and passive stiffness of the left ventricle. *N Engl J Med*, **350**(19), 1953-1959. doi:10.1056/NEJMoa032566

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Ceren

Soyadı: UYAR BOZTAŞ

Doğum yeri ve tarihi: Zonguldak, 1988

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi: Bağlıca Bulv., Sedef Apt. No.12 Bağlıca/ANKARA

Eğitim: Zonguldak Fen Lisesi (2002-2005)
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2005-2010)

Yabancı dil: İngilizce

Mesleki Deneyim: Türk Eczacıları Birliği (2010-2017)
Sosyal Güvenlik Kurumu (2017- halen)

Bilimsel Yayınlar:

Uyar-Boztas, C., Arioglu-Inan, E., Altan, V.M. (2016), DPP-4 İnhibitörlerinin β -AR Aracılı Kardiyak Yanıtlar Üzerindeki Etkileri, 21-24 Aralık 2016, İstanbul, Türkiye.

Uyar-Boztaş, C, Arioglu-Inan, E, Altan, V.M. (2017), Effects of Incretin Mimetic Drugs on Diabetic Cardiovascular Functions. FABAD J. Pharm. Sci. 42(2):151-165.

Uyar-Boztas, C., Arioglu-Inan, E., Muderrisoglu, A.E., Kayki-Mutlu, G., Erdogan, B.R., Yesilyurt, Z.E., Karaomerlioglu, I., Altan, V.M. (2017), The Effects of Sitagliptin on beta adrenoceptor Mediated Cardiac Responses in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. 3rd CVOT Summit of the Diabetes & Cardiovascular Disease EASD Study Group, 26 - 27 October 2017, Munich, Germany.

Muderrisoglu, A. E., Erdogan, B. R., Yesilyurt, Z. E., **Uyar-Boztas, C.,** Karaomerlioglu, I., Altan, VM., Arioglu-Inan, E. The effects of sitagliptin treatment on beta 3 adrenergic receptor mediated relaxation responses in streptozotocine-induced diabetic rat aorta. Diabetes and Cardiovascular Disease (D&CVD) EASD Study Group Annual Meeting, 22-24 June 2017, Milan, Italy.