

DENEYSEL DİYABET N SİÇAN KALP DOKUSUNDA MEYDANA GETİRİLEN HİSTOLOJİK DEĞİŞİMLERİN AMİNOGUANİDİNİN İYİLETTİRİCİ ETKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ AMACIYLA PLANLANDI

Aslı ÇET N¹, Nigar VARDI¹, Do an ORMAN¹

¹ nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya

Amaç: Bu çalışmada, Streptozotocin ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda kalp dokusunda meydana gelen histolojik değişiklikler üzerine aminoguanidinin olası iyileştirici etkilerinin gösterilmesi amacıyla planlandı.

Materyal- Metod: Çalışmada 32 adet Sprague Dawley erkek sıçan kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar her bir grupta 8 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Gruplar sırası ile Kontrol, Aminoguanidin, Diyabet ve Diyabet + Aminoguanidin olarak belirlendi. Deneysel diyabet, tek doz Streptozotocin' in intraperitoneal uygulanması ile oluşturuldu. Hematoksilen-Eozin, Masson Trikrom ve Toluidin Blue ile boyanan kesitler, Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Plus analiz sistemi kullanılarak incelendi.

Bulgular: Kontrol ve Aminoguanidin grubunda kalp kası normal histolojik görünümde izlendi. Diğer yandan diyabet grubunda kalp kası hücrelerinde myofibril kaybı, eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nükleuslu hücreler, intrasitoplazmik vakuolizasyon ve konjesyon gözlemlendi. Ayrıca bu grupta Masson trikrom boyama metoduyla kas lifleri arasındaki kollajen lif yoğunluğunun ve kardiyak dokudaki toluidin blue boyama metoduyla mast hücrelerinin sayısının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede arttığı tespit edildi. Aminoguanidin ile tedavi edilen grupta ise diyabetin neden olduğu myosit hasarında belirgin derecede azalma gözlemlendi. Diyabet grubunda izlenen kollajen lif yoğunluğundaki ve mast hücre sayısındaki artışın da bu grupta istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı saptandı.

Sonuç: Sonuç olarak bu çalışmada, Streptozotocin ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanların kalp dokusunda oluşan mikroskobik hasarın selektif nitrik inhibisyonu yapan ve antioksidan özellikleri bilinen aminoguanidin uygulaması ile azaldığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Aminoguanidin, diyabet, kalp, sıçan, Streptozotocin.

AMELIORATING EFFECTS OF AMINO GUANIDINE AGAINST IN THE HISTOLOGICAL ALTERATIONS OF RAT HEART IN EXPERIMENTAL DIABETES

Objective: This study was planned to investigate beneficial effects of aminoguanidine on heart tissues of Streptozotocin - induced diabetic rats.

Materials and Methods: 32 male Sprague Dawley rats were divided into 4 groups. Groups: Control, Aminoguanidine (1 gr/l in water for 10 weeks), Diabetes and, Diabetes + Aminoguanidine. The animals in group diabetes and diabetes + aminoguanidine were made diabetic by intraperitoneal injection of Streptozotocin. At the end of the study, hearts were removed. The tissue samples were fixed in 10% formalin, were processed by tissue preparation techniques and were embedded in paraffin. Tissue blocks were sectioned at a thickness of 4 µm mounted on slides stained with The sections were stained with Hematoxylen- Eosin, Masson's Trichrome and Toluidine Blue and examined under a Leica DFC280 light microscope by Leica Q Win and Image Analysis System (Leica Micros Imaging Solutions Ltd.; Cambridge, U.K).

Results: The heart muscle sections from control and aminoguanidine groups were normal histological appearance. On the other hand we observed myofibril loss in cardiac muscle cells, eosinophilic cytoplasm and pyknotic nuclei cells, intracytoplasmic vacuolization and congestion in Diabetes group. In addition to this, we detected increase of density of collagen fibers between muscle fibers of the cardiac tissue and the number of mast cells stained with toluidine blue were significantly increased in diabetes group than control group. In aminoguanidine treated group, myosit damage caused by diabetes was significantly reduced. The density of collagen fibers and the increase in the number of mast cells observed in Diabetes group were significantly decreased in this group as statistical analysis.

Conclusion: In conclusion, we observed decrease of microscopic damage of heart tissue in Streptozotocin induced diabetic rats with the application of aminoguanidine is known that inhibition of nitric oxide and antioxidant properties.

Key Words: Aminoguanidine, diabetes, heart, rat, Streptozotocin.

DENEYSSEL DİYABET N SİÇAN KALP DOKUSUNDA MEYDANA GETİRİLEN HİSTOLOJİK DEĞİŞİMLER ÜZERİNDE AMİNOGUANİDİNİN YERLEŞTİRİCİ ETKİLERİ

Diyabet, pankreasın insülin salgısında azalma ya da etkisindeki yetersizlik sonucu oluşan ve hiperglisemi ile kendini gösteren metabolik bir hastalıktır (1). Diyabet damar, böbrek ve göz gibi organizmanın çeşitli organlarını etkileyen komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Diyabetle ilgili morbidite ve mortaliteye yol açan nedenlerden birisi de kardiyovasküler komplikasyonlardır (2). Yapılan klinik ve deneysel çalışmalar, diyabetin miyokardiyal disfonksiyon, ventriküler dilatasyon (3) ve koroner ateroskleroz gibi kardiyak bozukluklara neden olduğunu göstermiştir (4,5). Diyabetin neden olduğu kardiyomyopatinin patogenezi henüz kesin olarak tanımlanamadığı için diyabetik kalp hastalıklarının önlenmesinde ve tedavisinde spesifik bir ilaç geliştirememiz (3). Son yıllarda diyabetin neden olduğu komplikasyonların gelişiminde en önemli neden olarak oksidatif stres gösterilmektedir. Sırlıklı bireylerde antioksidanlar ve serbest radikaller arasında bir denge bulunmaktadır. Hiperglisemide glukoz ototoksikasyonu ve protein glikozilasyonu ile serbest radikallerin oluşum hızının artması bu dengeyi bozarak oksidatif strese neden olmaktadır (6).

Bir phenyl hidrazine bileşiği olan aminoguanidin (AG) inducible nitrik oksit sentezi (iNOS)'ni selektif olarak inhibe ederek nitrik oksit (NO) üretimini azaltır (7). Ayrıca non enzimatik glikozilasyon bölgelerine bağlanan daimin oksidazı inhibe eder ve reaktif karbonil parçalarını yakalayarak daha ileri glikozilasyon ürünlerinin oluşumunu önler. Bunlara ek olarak yapılan bazı çalışmalarda AG'ın peroksinitrit gibi radikalleri süpürücü etkisi ile de antioksidan özellikleri olduğunu bildirilmiştir (6, 8).

Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda kalp dokusunda meydana gelen histolojik değişimler üzerine aminoguanidinin olası iyileştirici etkilerinin histolojik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezinden temin edilen Sprague-Dawley cinsi, ağırlıkları 230-280 gr arasında 32 adet erkek sıçan kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar her bir grupta 8 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Gruplar sırasıyla; Kontrol, Aminoguanidin (AG), Diyabet (D) ve Diyabet + Aminoguanidin (D+AG) olarak belirlendi.

Diyabet oluşturulacak D ve DAG grubundaki sıçanlara 450 mg Streptozotosin (STZ) (Sigma, USA), 10 cc distile su içerisinde çözülerek (45 mg/kg tek doz), hayvan ağırlıklarına göre intraperitoneal (i.p) olarak enjekte edildi. D ve DAG gruplarına uygulanan STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra tekrar kan alınıp, (Accu Chek Glukometre - Roche) glukometreyle kan glukoz seviyeleri ölçüldü. Kan glukoz seviyeleri 270 mg/dL ve üzerinde olanlar çalışmaya dahil edildi. AG, sıçanlara içme suyu içerisinde 1 gr/L doz oranında, iyice çözülerek hazırlandı ve her gün aynı saatte deneklere verildi. 10 haftalık deney süresinde; tüm hayvanlar standart sıçan yemi ve AG verilen gruplardakiler normal içme suyu aldılar. Sıçanların günlük içme suyu tüketimleri mezur ile ölçülüp, her sıçanın bir günde tükettiği ortalama AG miktarı mg olarak hesaplandı.

Deney süresi sonunda ketamin/ksilazin anestezisi altında sıçanların kalp dokuları alınarak %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Alınan doku örnekleri rutin doku takibi için lemlerinden geçirildi ve parafine gömüldü. Elde edilen bloklardan mikrotomla (Leica RM 2245) 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere Hematoksilin-Eozin, Masson Trikrom ve

Toluidin Blue boyama yöntemleri uygulandı. Hazırlanan preparatlar Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Plus analiz sistemi kullanılarak incelendi.

HISTOLOJİK DEĞERLENDİRME:

Kesitler histolojik olarak; kalp kasında miyofibril kaybı, intrasitoplazmik vakuolizasyon, eozinofilik boyanma ve piknotik nükleuslu hücreler ve konjesyon açısından incelendi. Histolojik değerlendirme için hazırlanan preparatlardan X20'lik büyütmede 10 alan değerlendirildi. Değişiklikler, histolojik hasarın şiddetine göre yok 0, hafif 1, orta 2 ve şiddetli 3 olarak skorlandı. Maksimum skor 12 olarak belirlendi. Her bir grubun skorlaması yapıldı ve her grup için ortalama değerler saptandı. Toluidin blue ile boyanan preparatlarda, X40 büyütmede rastgele 10 alanda mast hücreleri sayılıp, ortalamaları alındı ve istatistiksel açıdan değerlendirildi. Masson trikrom ile boyanan preparatlar fibrozis yönünden değerlendirildi (0: fibrozis yok, 1: kesitteki alanın %25'inden azında fibrozis var, 2: kesitteki alanın %25- 50'sinde fibrozis var, 3: kesitteki alanın %50'sinden fazlasında fibrozis var).

STATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME:

statistiksel değerlendirmeler SPSS 13.0 programı ile Kruskal Wallis Varyans Analizi ve Mann Whitney –U testi kullanılarak yapıldı. Grup içindeki değişim testi ise Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi ile yapıldı. Tüm sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edildi ve P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

BULGULAR KAN GLİKOZ DEĞERLERİ

Diyabet (D) grubundaki sıçanlarda STZ enjeksiyonundan (72 saat sonra) deneyin sonuna kadar hiperglisemi gözlemlendi. Diğer yandan D+AG grubunda, D grubuna göre başlangıç- sonuç kan glikoz seviyeleri farkı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı (P=0.001). Sıçanların deneyin başlangıç ve sonundaki kan glikoz değerleri Tablo 1'de verildi.

Tablo 1: Grupların başlangıç-sonuç kan-glikoz değerleri.

PARAMETRELER	GRUPLAR			
	K (n=8)	AG (n=8)	D (n=8)	DAG
Başlangıç kan-glikoz (mg/dl)	128.6±2.5	132.25±6	383.3±14.1	283.58±6.1
Final kan-glikoz (mg/dl)	154.4±3.4	167.0±13.2	587.0±5.0	334.6±7.8
Kan-glikoz farkları (mg/dl) ♦	25.7±3.5	32.7±8.7	203.6±11.9	51.1±8.5
P Değerleri				
GRUPLAR	KAN- GLUKOZ FARKLARI			
K-D	0,001			
K- DAG	➤ 0,05 (FY)			
D- DAG	0,001			
AG- DAG	➤ 0,05 (FY)			

Not: K: Kontrol grubu, AG: Aminoguanidin grubu, D: Diyabet grubu, DAG: AG verilmiş diyabet grubu. n: Sıçan sayısı ♦:

Başlangıç-sonuç farkları FY: Fark yok.

HİSTOLOJİK BULGULAR:

Kontrol ve Aminoguanidin Grupları:

Kontrol grubunun kalp kası normal histolojik görünümde izlendi (Resim 1A). Aminoguanidin verilen grupta da kalp kası (Resim 1B) kontrol grubuna benzer özellikler göstermekteydi. Kontrol grubunda (Resim 1C) mast hücre sayısı $1,09 \pm 1,15$, aminoguanidin grubunda (Resim 1D) ise $1,20 \pm 1,04$ olarak tespit edildi.

Diyabet Grubu:

Diyabetli oluşturulan grupta bazı kalp kası hücrelerinde belirgin myofibril kaybı olduğu gözlemlendi (Resim 2A). Ayrıca diyabetik sıçanların kesitlerinde normal kalp kası dokusundan, yoğun asidofil sitoplazması ve piknotik nükleusları ile ayırt edilen kas hücre grupları izlendi (Resim 2B). Bazı kas liflerinde farklı büyüklüklerde izlenen intrasitoplazmik vakuoller dikkat çekiciydi (Resim 2B, 2C). Diğer bir bulgu konjesyon olarak değerlendirilen eritrositlerle dolu venlerin izlenmesiydi (Resim 2D). Masson trikrom boyama

metoduyla kas lifleri arasında yeşil olarak boyanan kollajen liflerin yoğunluğunun kontrol grubuna göre arttığı gözlemlendi ($1,54 \pm 0,83$)(Resim 4A). Toluidin blue boyama metoduyla mavi-mor renkte boyanan granülleriyle ayırt edilen mast hücrelerinin sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede artmıştı ($2,69 \pm 1,34$)(Resim 4C) ($p < 0,0001$).

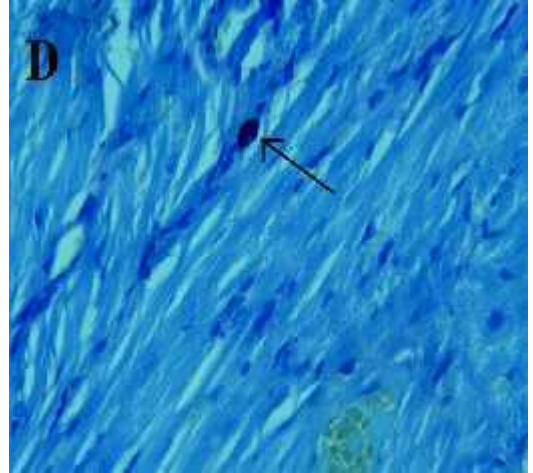
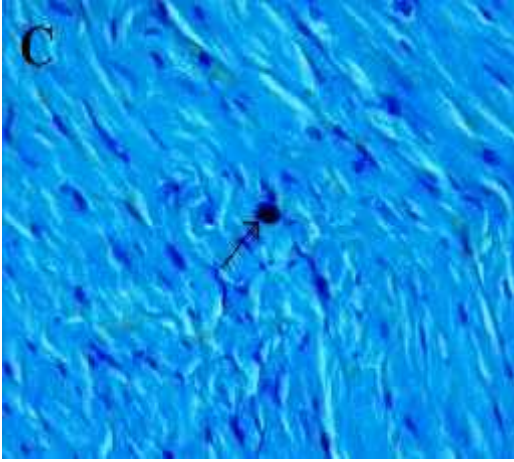
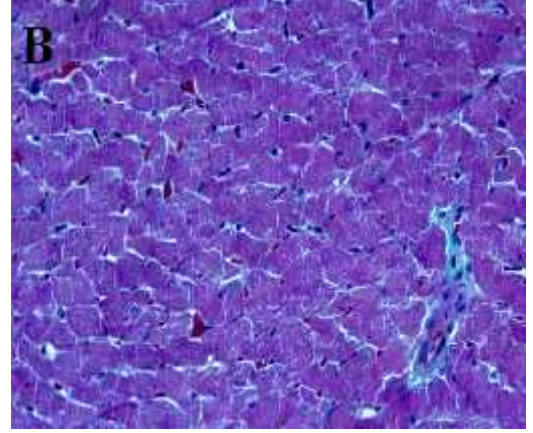
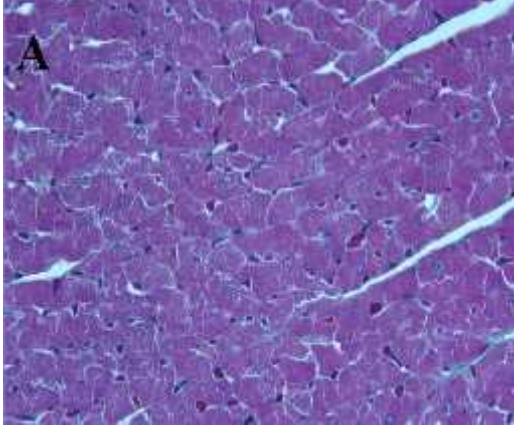
Diyabet + Aminoguanidin Grubu:

Aminoguanidin ile tedavi edilen grupta eozinofilik boyanmış ve piknotik nükleuslu hücrelerin diyabet grubuna göre azaldığı gözlemlendi (Resim 3A). intrasitoplazmik vakuoller de nadir olarak izlendi (Resim 3B). Masson Trikrom boyama metodu ile boyanmış preparatlarda, kollajen lif yoğunluğunun ($1,04 \pm 0,77$) diyabet grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı tespit edildi (Resim 4B). Toluidin blue boyama metodu ile boyanmış kesitlerde ortalama mast hücre sayısı ($1,67 \pm 1,28$) diyabet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı (Resim 4D) ($p < 0,0001$). Grupların histolojik skor, fibrozis ve mast hücre sayıları Tablo 2’de verildi.

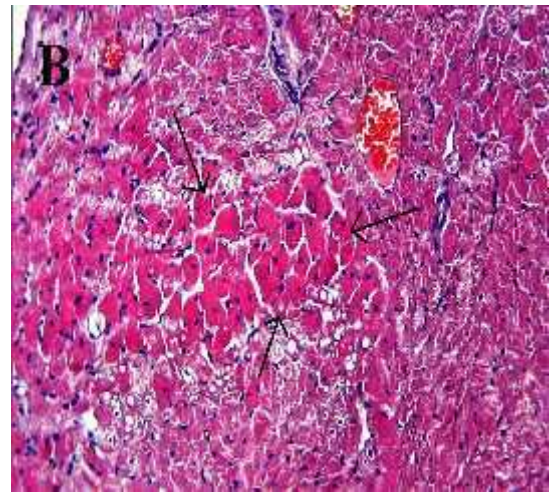
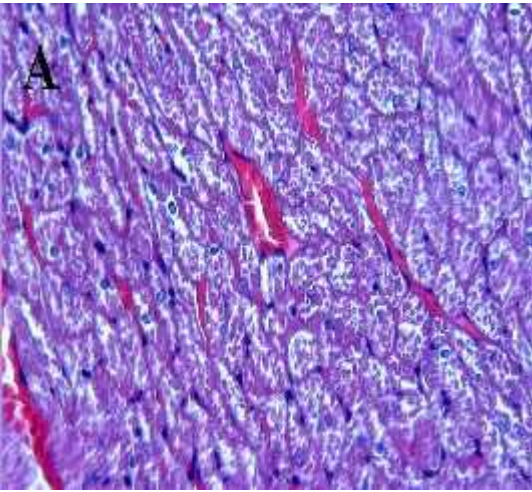
Tablo 2: Grupların semikuantitatif olarak histolojik değerlendirilmesi

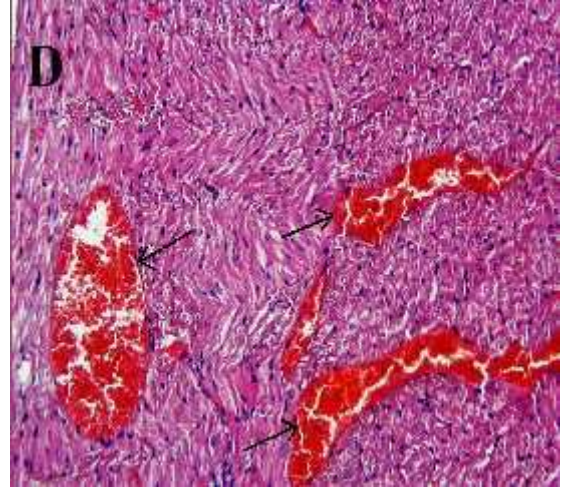
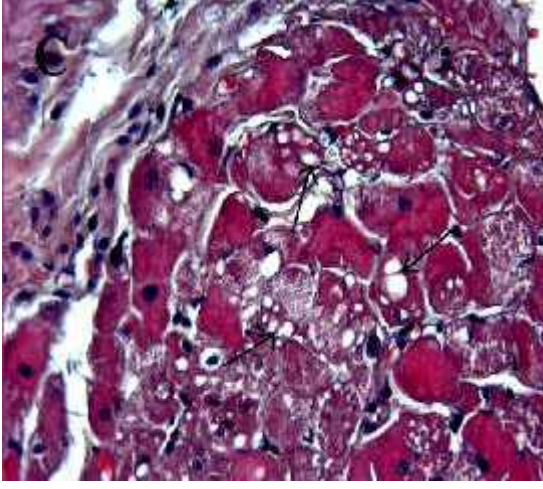
Gruplar	Kollajen lif yoğunluğu	Mast hücre sayısı	Histolojik
1- Kontrol	$0,36 \pm 0,58$	$1,09 \pm 1,15$	$0,08 \pm 0,27$
2- AMG	$0,44 \pm 0,60$	$1,20 \pm 1,04$	$2,16 \pm 1,06$
3- DM	$1,54 \pm 0,83$	$2,69 \pm 1,34$	$6,53 \pm 1,28$
4- DM+ AG	$1,04 \pm 0,77$	$1,67 \pm 1,28$	$3,86 \pm 1,33$
$p < 0,0001$	1-3,4	1-3,4	1-3,4

HİSTOLOJİK BULGULAR:

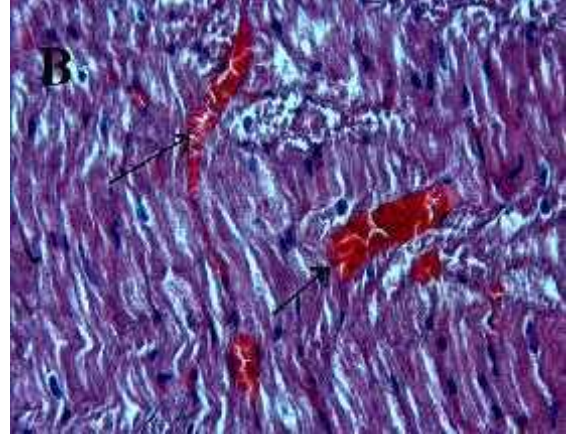
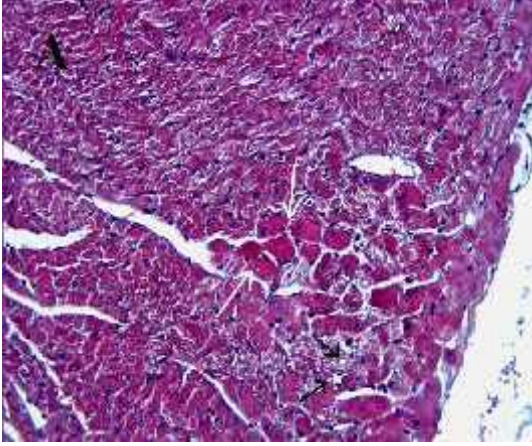


Resim 1: Kontrol ve AG grubu: (A, B) Kalp kasının normal histolojik görünümü, Masson trikromX40; (C,D) Mast hücreleri (oklar), Toluidin blue X40.

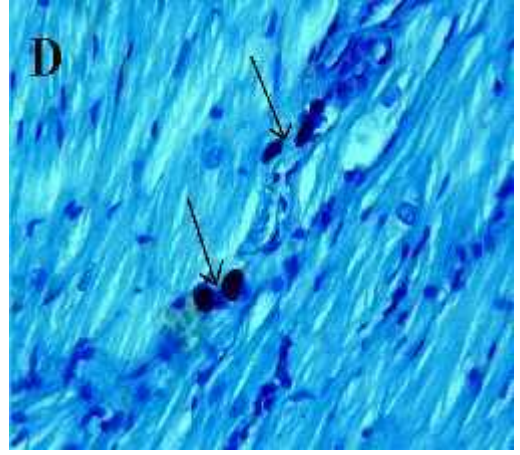
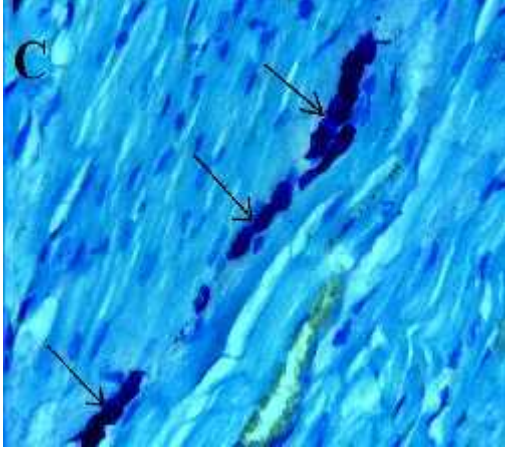
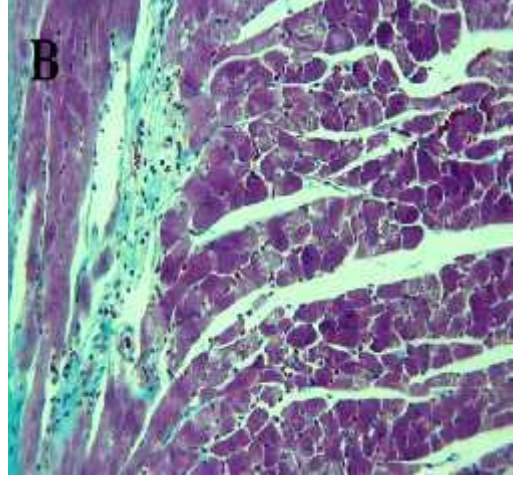
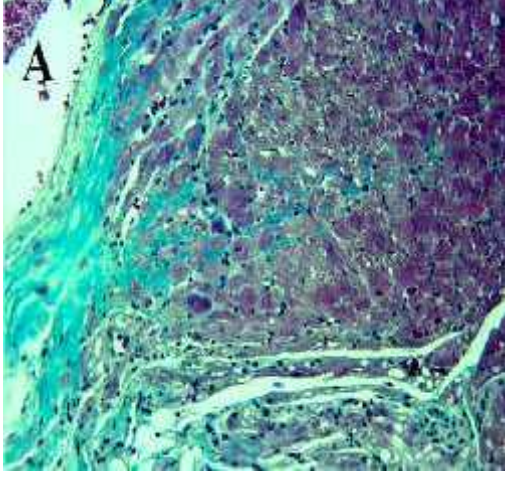




Resim 2: Diyabet grubu: (A) Kalp kası hücrelerinde myofibril kaybı H-E X40 ;(B) eozinofilik boyanmış ve piknotik nükleuslu hücreler (oklar) H-E X20; (C) intrasitoplazmik vakuolizasyon (oklar) H-E X40; (D) konjesyon (oklar) H-E X20.



Resim 3: D+AG grubu: (A) eozinofilik ve piknotik nükleuslu hücreler (beyaz oklar) ve intrasitoplazmik vakuolizasyon (siyah oklar) D grubuna göre daha az gözlenmekte H-EX20, (B) D grubuna göre myofibril kaybında ve konjesyonda azalma (oklar) H-EX40.



Resim 4: D ve D+AG grubu: D grubunda (A) kollajen lif yoğunluğunun D+AG (B) grubuna göre artışı, Masson trikrom X20. D+AG grubunda (D)

TARTIŞMA

Bu çalışmada; deneysel diyabet oluşturulan sıçanların kalp kasında meydana gelen hasar üzerine aminoguanidinin tedavi edici özellikleri histokimyasal yöntemlerle araştırıldı.

Çalışmalarda sıçanlarda diyabet modeli oluşturmak için *Streptomyces achromogenes* tarafından üretilen bir antibiyotik olan STZ ortalama 40-45 mg ve tek doz olarak kullanılmaktadır. (6, 9, 10). Biz de çalışmamızda STZ'yi 45 mg/kg ve tek doz olarak uyguladık. Streptozotisin, pankreasta serbest radikal temizleyicisi olan superoksit dismutazı inhibe eder ve böylece serbest radikallerin birikmesi sonucu hücreleri yıkıma uğratar. (11). Çalışmada STZ enjeksiyonunun 3. gününden deneyin sonuna kadar, D grubunda hiperglisemi izlendi. AG ile tedavi edilen grupta ise, kan-glikoz düzeyleri D grubuna göre anlamlı olarak azalmı. Bu sonuçlar, diyabetik sıçanlara uygulanan 8 haftalık AG tedavisinin plazma glikoz seviyeleri üzerinde anlamlı bir azalmaya neden olduğunu bildiren Liptowa ve Vardi ile uyumludur (6).

STZ kullanılarak oluşturulan deneysel diyabet modellerinde, sıçanların kalp kası hücrelerinde myofibrillerde hasar, lipid birikimi ve çekirdekte kromatin kondensasyonu gibi dejeneratif değişiklikler olduğu bildirilmiştir (12-14). Harackova ve Murphy, STZ ile oluşturulan diyabet modelinde sıçanlarda 8-10 haftalık süreçte, ventriküler kalp kası hücrelerinde minimal düzeyde değişiklik olduğu savunmuşlardır (15). Cai ve ark. 60-65 mg/kg STZ enjeksiyonu ile erkek sıçanlarda oluşturulan diyabet modellerinde, 12 hafta sonunda miyokard tabakasında inceleme gözlemlenmiştir (16).

Biz de çalışmamızda D grubunda kalp kasında eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nükleuslu hücreler, sarkoplazmada miyofibril kaybı gözlemledik. Eozinofilik sitoplazmalı miyokardiyal hücrelerin koagülasyon nekrozuna giden hücreler olduğu gösterilmiştir. Bu tip hücreler, genelde iskemi ya da kimyasal hasar gibi stresler sonucu ortaya çıkmaktadır ve nekrozun kalp kasındaki erken bulguları olarak değerlendirilmektedir (17). Hücre içi pH seviyesinin düşmesi ve

hücrenin asidoza gitmesi sonucu çeşitli enzimleri aktive olmaktadır. Aktive olan enzimlerin yapısal ve enzimatik sitoplazma proteinlerini denatüre etmesi sonucu, ortama verilen bazı gruplar, asit boyalara (eozin) affinite göstererek sitoplazmanın asidofilik boyanmasına neden olmaktadır (17).

Diyabette miyokardiyal hücre ölümünün mekanizması ile ilgili yapılan çalışmalarda oksidatif stresin (18) önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Hücrenin strese karşı verdiği ilk yanıt intrasitoplazmik vakuollerle karakterize hidropik değişikliklerdir (17, 19). Hücre membran permeabilitesinin bozulduğu, iyon ve sıvı homeostazını sürdürmede yetersiz kaldığı durumlarda ortaya çıkmaktadır (17). Okruhlicova L ve ark. diyabetik erkek sıçanların miyokardiyal hücre sitoplazmalarında vakuollerin ekillendiğini ve sarkoplazmik retikulumun azaldığını göstermişlerdir (20). Çalışmamızdaki diyabet oluşturulan grupta kalp kası hücrelerinde sitoplazma içerisinde irili ufaklı pek çok vakuol gördük.

Mast hücreleri, kalp dokusunda kalp kası hücreleri ile yakınındaki kan damarları arasında yerleşim göstermektedir. Bunun yanı sıra mast hücreleri koronerlerin adventisiasında da tespit edilmiştir (21). Patella ve ark. dilate ve iskemik kardiyomyopatilerde mast hücre sayısının arttığını bildirmektedir (22). Biz de çalışmamızda toluidin blue ile boyanan preparatlarda diyabet grubunda mast hücre sayısının kontrollere göre istatistiksel olarak arttığını saptadık. Mast hücrelerinin kardiyak fibroblastları stimüle ederek kollajen üretimini arttırdığı bildirilmektedir (23). Ayrıca mast hücreleri kimaz, TGF- β salgılayarak ve anjiotensin II'yi artırarak fibroziste etkili olmaktadır. Bahçeci ve ark. diyabetin akut dönemde kalp kası hücrelerinde minimal düzeyde fibrozise neden olduğu ve kalp dokusunun hastalığın erken dönemlerinden itibaren etkilenmeye başladığını göstermişlerdir (24). Bizim çalışmamızda da diyabetik sıçanların kalplerinde kollajen lif yoğunluğu belirgin derecede artmıştır.

Çalışmamızda AG verilmesinin, deneysel diyabet oluşturulan sıçanların kalp kasında görülen miyofibril kaybını, eozinofilik

boyanımı ve piknotik nükleuslu hücrelerin yoğunluğu ve intrasitoplazmik vakuolizasyonun şiddetini azalttı izlendi.

Yüksek glukoz seviyelerinin neden olduğu miyosit nekrozuna karşı AG'nin koruyucu etkileri gösterilmiştir. AG, reaktif bir oksidan olan peroksinitriti (ONOO-) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) türevi hidroksil radikallerini (OH-) direkt süpürücü etkiye sahiptir. Böylece hücre içerisindeki oksidan düzeylerini azaltmakta ve kardiyak miyositleri, STZ'ye bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif strese karşı korumaktadır (25, 26). AG'nin diyabetik kalp hasarına karşı iyileştirici etki mekanizmalarından biride selektif bir NOS inhibitörü olmasıdır. AG, NOS inhibisyonuyla vasküler permeabiliteyi düzenlemektedir (26). Adams ve ark., NOS izoformlarını inhibe ettikleri çalışmalarında, selektif bir iNOS inhibitörü olan AG'nin non-selektif eNOS inhibitörü L-NAME ile tedavi edilen gruplara göre miyokardiyal fonksiyonları daha anlamlı bir şekilde iyileştirdiğini göstermiştir (27).

Ayrıca kollajen lif yoğunluğunun da D+AG grubunda D grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı gözlemlendi. Güçlü bir antioksidan olan AG'nin diyabette oluşan komplikasyonlara karşı yararlı etkileri olduğu farklı hayvan modellerinde gösterilmiştir (28). Vadla GP ve ark. (25) 100 mg/kg STZ verilen farelerin kalp dokusunda izlenen kollajen birikiminin AG uygulamasıyla önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir. Kardiyak fibrozis kollajen fibrillerin artması ve kontraktıl fonksiyonun azalması ile karakterizedir. Yapılan çalışmalarda diyabette izlenen kalp dokusundaki kollajen birikiminde metalloproteaz 2 ve 9'un önemli rol oynadığı gösterilmektedir (29-31). AG'nin anti fibrotik etkisinin de muhtemelen metalloproteaz 2 ve 9'un aktivitesini de iştirimesine bağlı olduğu düşünülmektedir (25).

Diğer yandan, yüksek glukozun neden olduğu serbest radikallerin ve inflamatuvar sitokinlerin, kardiyak fibroblastlardan kollajen üretimini arttırdığını bildirilmektedir. AG, serbest radikalleri süpürücü etkisi ile de oksidatif strese bağlı olarak gelişen kollajen üretimini inhibe etmiş olabilir (25).

Sonuç olarak bu çalışmada, STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların kalp dokusunda oluşan hasarların, antioksidan etkisi olduğu bilinen AG uygulaması ile azaldığını göstermektedir. AG'nin tedavi edici mekanizmasını anlamak için daha ileri çalışmalara ve klinik denemelerin yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

**DENEYSEL DİYABETİN SİÇAN KALP DOKUSUNDA MEYDANA GETİRDİĞİ HİSTOLOJİK DEĞİŞİMLER ÜZERİNDE
AMİNOGUANİDİNİN ETKİLERİ**

KAYNAKLAR:

- 1- Yeniğün M, Altunta Y. Her Yöntemle Diabetes Mellitus, 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2001. s. 51-67.
- 2- Li Y, Ma J, Zhu H, Singh M, Hill D, Greer PA, Arnold JM, Abel ED, Peng T. Targeted inhibition of calpain reduces myocardial hypertrophy and fibrosis in mouse models of type 1 diabetes. *Diabetes* 2011 Nov; 60(11):2985-94.
- 3- Guan SJ, Ma ZH, Wu YL, Zhang JP, Liang F, Weiss JW, Guo QY, Wang JY, Ji ES, Chu L. Long term administration of fasudil improves cardiomyopathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol* 2012 June; 50(6): 1874-82.
- 4- Shaper LM, Howart AP, Calter MM. Left-ventricular function in diabetes mellitus. I. Methodology and prevalence and spectrum of abnormalities. *Br Heart J* 1981; 45: 122-28.
- 5- Penpragkul S, Schaible T, Yipinstoi T et al. The effects of diabetes on performance and metabolism of rat hearts. *Circ Res* 1980; 47: 911-21.
- 6- Vardı N, İraz M, Gül M, Öztürk F, Uçar M, Otlu A. Diyabetin böbreklerde neden olduğu histolojik ve iktikler üzerine aminoguanidinin iyileştirici etkileri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri* 2006; 26:599-606.
- 7- Polat A, Parlakpınar H, Ta demir S, Çolak C, Vardı N, Uçar M, et al. Protective role of aminoguanidine on gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Acta histochemica* 2006; 108:365-71.
- 8- İhm SH, Yoo HJ, Park SW, İhm J. Effect of aminoguanidine on lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetic rats. *Metabolism* 1999; 48:1141-5.
- 9- Vardı N, İraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, E refolu M, Otlu A. Deneysel diyabetin siçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik ve iktikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri. *nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2005;12(3): 145-152.
- 10- Öztürk F, Gül M, A kadir M, Ya murca M. Deneysel diyabetin siçan testislerinde meydana getirdiği histolojik ve iktikler. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri* 2002;22:173-178.
- 11- Endotel. İzmir Tabip Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu, 1994.
- 12- Zhu XX, Zhou XP, Zhong XL et al. Streptozotocin induced cardiomyopathy in diabetic rats. *Chin Med J (Engl)*.1993; 106:463-6.
- 13- Seager MJ, Singal PK, Orchard R et al. Cardiac cell damage: a primary myocardial disease in streptozotocin – induced chronic diabetes. *Br J Exp Pathol*.1984; 65: 613-23.
- 14- Cai F. Studies of enzyme histochemistry and ultrastructure of the myocardium in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*.1989; 69:276-8.
- 15- Harackova M, Murphy MG. Effects of chronic diabetes mellitus on the electrical and contractile activities, $45Ca^{2+}$ transport, fatty acid profiles and ultrastructure of isolated rat ventricular myocytes. *Pflugers Arc* 1988; 411:564-72.
- 16- Cai F. Studies of enzyme histochemistry and ultrastructure of the myocardium in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1989; 69: 276-8.
- 17- Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins Pathologic Basis of Disease. Saunders Company.1999; 1-88.
- 18- Li Z, Zhang T, Dai H, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in myocardial apoptosis of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Clin Biochem Nutr*. 2007;41(1):58-67.
- 19- Wyllie A, Duvall E. Cell injury and death. In: Mc-Gee JOD, Isoconson PG, Wright NA ed(s) .*Oxford textbook of pathology*. Oxford University Press, New York, 1992; 147-148.
- 20- Okruhlicova L, Sotnikova R, Stefek M et al. L-arginine reduces structural remodeling in the diabetic rat myocardium. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2002; 24: 201-7.
- 21- Akgül A, Ünal O, Kervan Ü. Mast hücrelerinin kalp hastalıkları ve cerrahisindeki rolü. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2011; 31(4).
- 22- Patella V, Marinò I, Arbustini E, Lamparter- Schummert B, Verga L, Adt M, et al. Stem cell factor in mast cells and increased mast cell density in idiopathic and ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 1998;97: 971-8.
- 23- de Almeida A, Mustin D, Forman MF, Brower GL, Janicki JS, Carver W. Effects of mast cells on the behaviour of isolated heart fibroblasts: modulator of collagen remodeling and gene expression. *J Cell Physiol* 2002;19: 51-9.
- 24- Bahçeci S, Canoruç N, Nergis Y, Söker S, Gökalp D, Akbalık ME, Tut i Y. Alloxan ile oluşturulan deneysel diyabetin kardiyovasküler sistem üzerindeki akut etkilerinin mikroskopik düzeyde incelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi* 2007; 34(2):111-5.
- 25- Vadla GP, Vellaichamy E. Anti fibrotic cardio protective efficacy of aminoguanidine against streptozotocin induced cardiac fibrosis and high glucose induced collagen up regulation in cardiac fibroblasts. *Chemico- Biological Interactions* 2012; 197:119-28.
- 26- Parlakpınar H, Örümlü MH, Acet A. Aminoguanidin ve Kardiyovasküler Sistem. *nönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2012; 2: -14.
- 27- Adams JA, Wu D, Bassuk J, et al. Nitric oxide synthase isoform inhibition before ischemia reperfusion in pigs: vital or protective? *Resuscitation* 2007; 74(3): 516-25.
- 28- Okamoto T, Okabe S. Inhibition of anti-Fas antibody- induced hepatitis by aminoguanidine in mice. *Eur J Pharmacol* 2000; 403(3):277-80.
- 29- H. Li, H. Simon, T.M. Bocan, J.T. Peterson, MMP/TIMP expression in spontaneously hypertensive heart failure rats: the effect of ACE- and MMPinhibition, *Cardiovasc. Res*. 2000; 46 (2): 298–306.
- 30- S. Heymans, B. Schroen, P. Vermeersch, H. Milting, F. Gao, A. Kassner, H. Gillijns, P. Herijgers, W. Flameng, P. Carmeliet, F. Van de Werf, Y.M. Pinto, S. Janssens, Increased cardiac expression of tissue inhibitor of metalloproteinase- 1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 is related to cardiac fibrosis and dysfunction in the chronic pressure-overloaded human heart, *Circulation* 2005; 112(8):1136–1144.
- 31- H.B. Kwak, J.H. Kim, K. Joshi, A. Yeh, D.A. Martinez, J.M. Lawler, Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart, *FASEB J*. 2011;25(3) 1106–1117