

DIYABETİK SIÇAN KALBİNDE İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINA KARŞI ARTMIŞ TOLERANS KALP ATIM HIZINDAN BAĞIMSIZDIR

INCREASED TOLERANCE AGAINST ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY IN
DIABETIC RAT HEART IS INDEPENDENT FROM HEART RATE

**Hande Özge ALTUNKAYNAK¹, Ebru ARIOĞLU², Işıl ÖZAKÇA², Gizem KAYKİ²,
A.Tanju ÖZÇELİKAY²**

¹Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Bağlıca Kampüsü, Eskişehir Yolu
20. km, 06530, Bağlıca, Etimesgut-Ankara, TÜRKİYE

²Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, 06100
Tandoğan-Ankara, TÜRKİYE

ÖZET

Diyabet, iskemik kalp hastalığının gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır ve bu hastalığın uzun dönem sonuçlarını kötüleştirir. Klinik bulguların aksine diyabetik deneysel hayvan modellerinde kalbin iskemiye karşı duyarlılığı ile ilgili sonuçlar çelişkilidir. Diyabetin süresi, şiddeti ve tipi, iskemik protokolün şiddeti (global iskemi ya da low flow iskemi) ve farklı çalışma protokolleri (in vivo or in vitro) gibi faktörler bu çelişkili sonuçların nedeni olarak ileri sürülmüştür. Diyabetik kalpte görülen bradikardi iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarına karşı artmış toleransa neden olabilir. Bu nedenle sunulan çalışmada I/R hasarına karşı diyabetik sıçan kalbindeki fonksiyonel geri dönüş üzerinde kalp atım hızı etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. 8-haftalık diyabetik veya aynı yaştaki kontrollerinden izole edilen kalpler, spontan ve elektriksel uyarı (300 atım/dakika) yapılarak atan kalpler olmak üzere iki gruba ayrıldı. İzole kalplere, 20 dakika stabilizasyon periyodundan sonra 40 dakika global iskemi ve 40 dakika reperfüzyon protokolü uygulandı. Her iki deneysel koşulda da, iskemik periyod öncesi kardiyak fonksiyonlar tüm

diyabetik kalplerde kontrollerle karşılaştırıldığında azaldı. Spontan atan kalplerde, reperfüzyon sonunda % geri dönüş diyabetik ve kontrol sıçanlarda sırasıyla 80.0 ± 8.0 ve 9.2 ± 4.8 olarak bulundu. Uyarı verilerek atan grupta, diyabetik ve kontrol kalplerdeki % geri dönüş ise sırasıyla 66.0 ± 10.3 ve 8.0 ± 4.0 'tü. Bu sonuçlar, 8 haftalık diyabetik sıçan kalbinin I/R hasarına karşı dirençli olduğunu ve bunun bradikardiden bağımsız olarak oluştuğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Diyabet, İskemi/reperfüzyon hasarı, Kalp atım hızı

ABSTRACT

Diabetes plays an important role in the development of ischemic heart disease and aggravates long term outcome of the disease. In contrast to clinical data, results concerning the sensitivity to ischemia of hearts from experimental animal models of diabetes are controversial. Several factors including the duration, severity and the type of diabetes, severity of ischemic protocol (ie, global zero flow versus low-flow ischemia) and different study protocols testing the effect of ischemia (in vivo or in vitro) accounted for the conflicting results. Bradycardia is one of the functional abnormalities occurring in diabetic heart, which may cause the increased tolerance against to ischemia/reperfusion (I/R) injury. To address this point, the study was aimed to evaluate the effect of heart rate on functional recovery of diabetic rat hearts subjected to I/R injury. Isolated hearts from 8-weeks diabetic or age-matched controls were divided into spontaneously beating and paced (300 beats/min) beating groups. After 20-minute stabilization period, global ischemia(40 min) followed by reperfusion(40 min) was applied to isolated hearts. In both experimental conditions, cardiac functions before ischemic period were all depressed in diabetic hearts compared with controls. In spontaneously beating group, % recovery of hearts at the end of reperfusion in diabetic and control rats was, 80.0 ± 8.0 and 9.2 ± 4.8 , respectively. In paced beating group, % recovery of diabetic and control hearts was, 66.0 ± 10.3 and 8.0 ± 4.0 , respectively. This results showed that the heart from 8-week diabetic rat was resistance to I/R injury, which was independent from bradycardia.

Key words: Diabetes, Ischemia/reperfusion injury, Heart rate

GİRİŞ

Anjina pectoris, akut miyokard infarktüsü ve konjestif kalp yetmezliği gibi kardiyak bozukluklar diyabetik olmayan popülasyona göre diyabetiklerde daha sık ve daha şiddetli olarak görülmektedir (1). Epidemiyolojik ve klinik veriler diyabetiklerin iskemik kalp hastalıklarına daha yatkın olduğunu açıkça göstermiş olmasına karşın, deneysel çalışmalar iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarına karşı diyabetik kalbin duyarlılığı konusunda çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur. Değişik hayvan modellerindeki bu çalışmalarda I/R hasarına karşı kalbin duyarlılığının arttığı (2-8), azaldığı (9-15) ya da değişmediği (16,17) gösterilmiştir. Diyabet süresi ve şiddeti, hayvan türü deneysel modeller ve protokoller, iskeminin tipi (düşük akım ya da global iskemi) ve şiddeti,

perfüzyon ortamındaki substratlar (yağ asidi gibi) ve değerlendirilen parametrelerdeki farklılıkların söz konusu çelişkili sonuçlara kısmen neden olabileceği ileri sürülmüştür (1).

DeneySEL diyabetik hayvan modellerinde kalbin kasılma ve gevşeme fonksiyonlarında azalma olduğu bilinmektedir. Ek olarak, diyabetik kalpte bradikardi de sıklıkla görülmektedir. Beta adrenerjik reseptör dansitesindeki değişim (18) ve sinyal transdüksiyon mekanizmasındaki bozukluk (19) azalmış Ca^{+2} -ATPaz aktivitesi (20) ve hipotroidizm diyabette bradikardi oluşumuna neden olan mekanizmalar olarak düşünülmektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada kalp atım sayısındaki azalmanın kalpte İ/R hasarına karşı koruyucu bir etki oluşturabileceği gösterilmiştir (21). Diyabette de bradikardi geliştiği göz önüne alındığında, kalp atım sayısındaki bu azalmanın deneysel diyabetik hayvan çalışmalarının bazılarında kalpte İ/R hasarına karşı görülen direnç için önemli bir faktör olduğu düşünülebilir. Bu nedenle çalışmamızda, diyabetik kalbin İ/R hasarına karşı gösterdiği duyarlılık üzerinde kalp atım hızının etkisinin, *in vitro* koşullarda değerlendirmesi amaçlandı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliği'ne uygun olarak gerçekleştirildi (Karar No:2010-54-271). Bilkent Üniversitesi Deney Hayvanı yetiştirme bölümünden temin edilen erkek Sprague-Dawley sıçanlar (322 ± 4 g), kontrol (n=10) ve diyabetik (n=14) olmak üzere iki gruba ayrılarak, araştırma süresince sıcaklığı ($23 \pm 2^\circ C$) ve bağıl nemi (%40) sabit, 12 saat aydınlık / karanlık döngüsü uygulanan ortamda barındırıldılar.

DeneySEL diyabet oluşturmak için sıçanların kuyruk veninden sitrat tamponu (0.1M, pH:4.5) içinde hazırlanmış streptozotosin (STZ, 45 mg/kg) injekte edildi. Kontrol sıçanlara ise sadece sitrat tamponu uygulandı. STZ injeksiyonundan 72 saat sonra sıçanların tokluk kan şekeri (sabah 09:00-10:00) kuyruklarından alınan kanda glukometre aracılığıyla ölçüldü. Kan şekeri 300 mg/dl'nin üzerinde olan sıçanlar diyabetik kabul edildi. Sıçanların kan şekerlerinin ölçümü 8.hafta sonunda tekrarlandı ve ek olarak, beden ağırlıkları, yem ve su tüketimleri ölçüldü.

Deney günü eter ile anestezi edilmiş sıçanlardan çıkartılan kalpler, Langendorff sistemine takılarak aort damarı boyunca ters yönde Krebs-Henseleit çözeltisiyle (mM:120 NaCl, 4.8 KCl, 1.25 $CaCl_2$, 1.25 $MgSO_4$, 1.2 KH_2PO_4 , 25 $NaHCO_3$ ve 10 glukoz, $37^\circ C$, pH:7.4) perfüze edildi. Perfüzyon çözeltisi %95 oksijen ve %5 karbondioksit karışımıyla sürekli havalandırıldı. Kontrol ve diyabetik sıçan kalpleri kendi içlerinde spontan veya GRASS S44 Stimulator aracılığıyla elektriksel uyarı (5 Hz, 300 atım/dak, 1.5 milisaniye, 30 V) yapılarak çalıştırıldı. Bir basınç transdüseriyle (Harvard Apparatus no:72-4497) bağlantılı içi suyla dolu lateks balon sol ventrikül

içine yerleştirildi ve, sol ventrikül sonu diyastolik basınç (LVEDP) her deney başında 5-10 mmHg olacak şekilde ayarlandı. Önce sabit basınç (60-65 mmHg) altında perfüze edilerek koroner akış hızları belirlenen kalpler, sonrasında bir pompa (Masterflex Model:77200-12, Cole-Parmer, USA) aracılığıyla aynı hızda perfüze edildi. 20 dakika stabilizasyon süresinden sonra 40 dakika global iskemiye sokulan kalplere 40 dakika reperfüzyon uygulandı. Kalbin atım hızı (HR) ile birlikte, sol ventrikül içi gelişen basınç (LVDP), LVEDP, kasılma (+dP/dt) ve gevşeme hızları (-dP/dt) deney süresince bir bilgisayar programı (3.5.0 for Windows, MP100 Biopac Systems Inc.Santa Barbara CA) kullanılarak ölçüldü. LVDP ile HR'nin çarpımıyla hesaplanan hız basınç ürünü (RPP) kardiyak performansın bir göstergesi olarak değerlendirildi.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz eşlenmemiş data için Student'in *t* testi kullanılarak yapıldı. Çalışmada elde edilen tüm sonuçlar, Ortalama \pm Standart Hata olarak sunuldu. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

SONUÇ ve TARTIŞMA

STZ injeksiyonu öncesi beden ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmayan kontrol (324 ± 4 , $n=10$) ve diyabetik (321 ± 5 , $n=14$, $p > 0.05$) gruptaki sıçanların 8 hafta sonundaki ağırlık ve kan şekeri düzeyleri ile yem ve su tüketimleri Tablo 1'de görülmektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında beklendiği gibi STZ-diyabetik sıçanlarda beden ağırlıklarında azalmayla birlikte hiperglisemi, polifaji ve polidipsi gözlemlendi.

Tablo 1. Kontrol ve diyabetik gruptaki sıçanların 8 hafta sonundaki kan glukoz düzeyleri, vücut ağırlıkları, yem ve su tüketimleri. * $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık.

	Vücut ağırlığı (g)	Kan glukoz düzeyi (mg/dl)	Yem tüketimi (g/gün)	Su tüketimi (ml/gün)
Kontrol (n=10)	423 \pm 6	104 \pm 2	20.0 \pm 0.4	57 \pm 4
Diyabetik (n=14)	251 \pm 9*	487 \pm 11*	38.3 \pm 0.8*	186 \pm 5*

Kardiyak fonksiyonları açısından değerlendirildiğinde kontrollere göre 8 haftalık diyabetik sıçanların spontan atım yapan kalplerinde belirgin bir bradikardi oluştu (Tablo 2). Buna ek olarak, gerek spontan gerekse elektrik stimülasyonu ile atım yapan diyabetik kalplerde iskemi öncesi ölçülen kardiyak parametreler kontrollere göre anlamlı şekilde azaldı (Tablo 2 ve 3).

Tablo 2. Spontan atım yapan kontrol ve diyabetik kalplerdeki iskemi öncesi ölçülen kardiyak parametreler.

	Kontrol (n=5)	Diyabetik (n=9)
HR (atım/dakika)	236±12	173±13*
LVDP (mmHg)	85±11	61±5*
+dP/dt(mmHg/sn)	1688±200	1064±77*
-dP/dt(mmHg/sn)	1307±104	709±48*
RPP (mmHg x atım/dakika)	19990±2422	10480±1012*

* $p<0.05$ Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık.

Tablo 3. Elektrik stimülasyonu ile çalıştırılan kontrol ve diyabetik kalplerdeki iskemi öncesi ölçülen kardiyak

	Kontrol (n=5)	Diyabetik (n=5)
LVDP (mmHg)	92±9	64±7*
+dP/dt(mmHg/sn)	2096±123	1369±208*
-dP/dt(mmHg/sn)	1446±164	925±114*

Çalışmada global iskemi (40 dak.) ve reperfüzyon (40 dak.) süresi sonunda kontrol sıçanlarda her iki deney koşullarında da kardiyak fonksiyonların İ/R hasarı sonucu belirgin şekilde bozulduğu saptandı (Tablo 4 ve 5). Buna göre reperfüzyon sonrasında LVEDP dışındaki tüm kardiyak parametreler gerek spontan gerekse elektrik stimülasyonu ile çalıştırılan kalplerde iskemi öncesi değerlerine göre önemli ölçüde azaldığı, LVEDP ise başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi (Şekil 1 ve 2). Öte yandan, 8 haftalık diyabetik sıçan kalplerinde her iki deney protokolünde de incelenen parametrelerde kontrollere göre reperfüzyon sonrası anlamlı bir düzelme olduğu gözlemlendi (Tablo 4 ve 5, Şekil 1 ve 2). Bir başka ifadeyle çalışmamızda 8 haftalık kronik diyabetik sıçan kalbinin İ/R hasarına karşı dirençli olduğu görüldü.

Tablo 4. Spontan atım yapan kontrol ve diyabetik kalplerdeki reperfüzyon sonunda ölçülen kardiyak

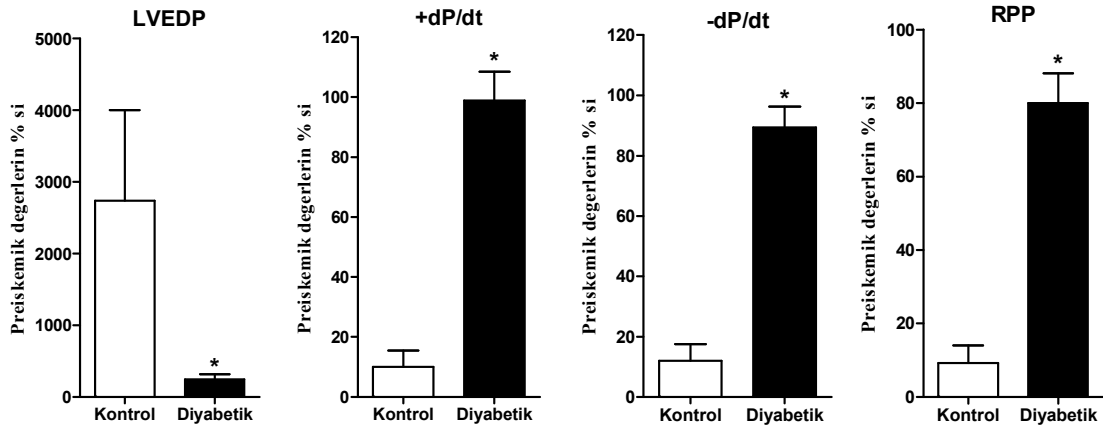
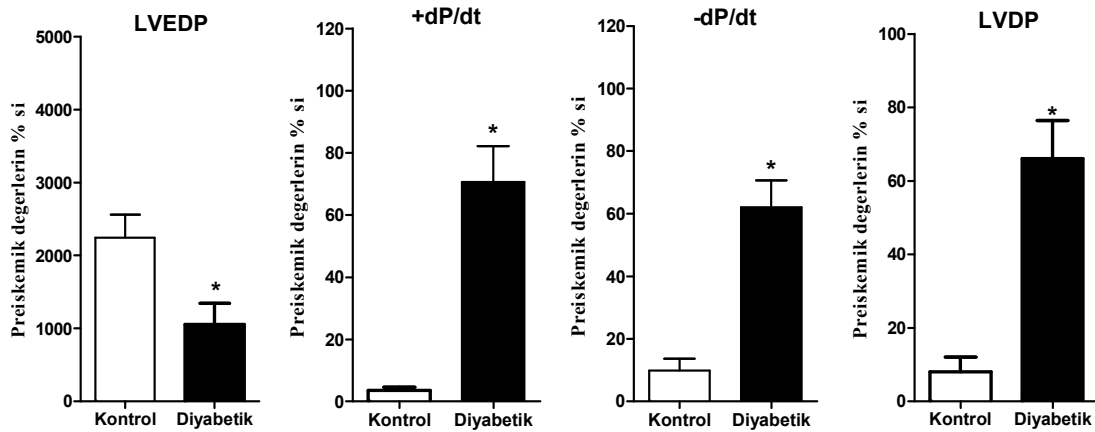
	Kontrol (n=5)	Diyabetik (n=9)
LVEDP (mmHg)	54±9	8±3*
HR (atım/dakika)	205 ± 31	148 ± 9*
LVDP (mmHg)	9 ± 4	58 ± 8*
+dP/dt(mmHg/sn)	169 ± 92	1078 ± 138*
-dP/dt(mmHg/sn)	172 ± 86	652 ± 79*
RPP (mmHg x atım/dakika)	2068 ± 1263	8517 ± 1131*

parametreler. * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık.

Tablo 5. Elektrik stimülasyonu ile çalıştırılan kontrol ve diyabetik kalplerdeki reperfüzyon sonunda ölçülen kardiyak parametreler.

	Kontrol (n=5)	Diyabetik (n=5)
LVEDP (mmHg)	92±11	24±6*
LVDP (mmHg)	6 ± 2	44 ± 9*
+dP/dt(mmHg/sn)	72 ± 18	1040 ± 263*
-dP/dt(mmHg/sn)	119± 25	602 ± 128*

* $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık.

**Şekil 1.** Spontan olarak atan kontrol ve diyabetik kalplerde reperfüzyon sonunda kardiyak performans. * $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık.**Şekil 2.** Elektrik stimülasyonu ile çalıştırılan kontrol ve diyabetik kalplerde reperfüzyon sonunda kardiyak performans. * $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık.

Epidemiyolojik ve klinik veriler diyabetiklerin iskemik kalp hastalıklarına daha yatkın olduğunu açıkça göstermiş olmasına karşın (22,23), deneysel çalışmalar İ/R hasarına karşı diyabetik kalbin duyarlılığının arttığı (2-8), azaldığı (9-15) ya da değişmediği (16,17) şeklinde çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur. Klinik ve deneysel çalışmalarda gözlemlenen bu farklılığın nedenlerinden biri diyabetik hastalarda hipertansiyon, hiperkolestrolemi, mikrovasküler disfonksiyon, nöropati ve nefropati gibi patolojik durumların da bulunması olabilir. Buna ek olarak, sülfonilüreler gibi antidiyabetik ilaçlarla tedavi, miyokardiyal iskemi sırasında ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının açılmasını engelleyerek önkoşullama etkisini bloke edebilir (24-27). Bu nedenle tüm bu özellikler diyabetik hastalarda iskemiye karşı miyokardiyal yanıtta belirleyici olabilir.

Klinik bulguların aksine İ/R hasarına karşı diyabetik sıçan kalplerinin daha dayanıklı olduğu ilk defa Tani ve Neely tarafından gösterilmiştir (28). Buna ek olarak, Liu ve arkadaşları (14) da akut STZ-diyabetik sıçan kalbinde bölgesel İ/R hasarı sonrasında miyokardiyal infarkt alanın kontrollere göre yaklaşık % 70 daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Tosaki ve arkadaşları (2) ise 2 haftalık STZ-tip 1 diyabetik sıçanlardan izole edilen kalplerde İ/R sonrası ventriküler fibrilasyon ve ventriküler taşikardi insidansının diyabetik olmayan kontrollerine göre anlamlı olarak azaldığını, fakat 4, 6 ve 8 haftalık diyabetiklerde bu koruyucu etkinin kaybolduğunu saptamışlardır. Buna karşın, Ravingerova ve arkadaşları (29,30) deneysel olarak kalsiyum paradoksu (aşırı kalsiyum yüklenmesi) oluşturulan kontrol kalplerde fonksiyonel parametrelerin geri dönüşüm açısından hiçbir iyileşme olmadığını, buna karşın 9 haftalık kronik diyabetik sıçan kalplerinde %75 oranında geri döndüğünü bulmuşlardır. Benzer şekilde bu çalışmada da izole diyabetik sıçan kalplerinde İ/R hasarından sonra fonksiyonel parametrelerin kontrol gruba göre anlamlı geri döndüğü saptanmıştır. Tüm bu çelişkili sonuçlar, diyabet süresi ve şiddeti, hayvan türü ve koroner kollaterallerin dağılımı, çalışmalarda kullanılan deneysel modeller (*in vivo* ya da izole kalpler), iskeminin tipi (düşük akım ya da global iskemi) ve şiddeti, perfüzyon ortamındaki substratlar (yağ asidi gibi) ve değerlendirilen parametrelerdeki farklılıklarla açıklanabilir (1,31).

Hücre içi aşırı kalsiyum birikimi ve oksidatif stresin kalpte İ/R hasarına yol açan başlıca faktörler olduğu bilinmektedir. Diyabetik kalpte, İ/R hasarına karşı gelişen toleransla ilişkili olarak birkaç mekanizma öne sürülmektedir. Bu mekanizmalardan ilki, intraselüler asiditenin derecesi ve hücrenin bununla baş etme yeteneğindeki farklılıktır (10). İskemi sırasında glikolitik akışın artmasıyla birlikte hücre içi H^+ konsantrasyonu yükselir. Bunun sonucu reperfüzyonla birlikte Na^+/H^+ değiştiricisi devreye girer ve bu koşullar altında da kardiyomyosite aşırı Na^+ girişi olur. Sonuçta Na^+/Ca^{+2} değiştiricisi ters yönde aktive olur ve hücre içinde aşırı kalsiyum yüklenmesi

meydana gelir. İ/R hasarında kilit rolü olan her iki değiştiricinin de aktivitesinin diyabetik kalpte azaldığı bildirilmiştir (1,10,11,32,33). Bu nedenle diyabetik kalpte global iskemi sonrası reperfüzyon sırasında hücre içinde daha az sodyum ve kalsiyum birikmesi kontraktıl fonksiyonun daha iyi olmasına neden olabilir.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada kalp atım sayısındaki azalmanın kalpte İ/R hasarına karşı koruyucu bir etki oluşturabileceği gösterilmiştir (21). Diyabetik kalpte, beta adrenerjik reseptör dansitesindeki değişim (18) ve sinyal transdüksiyon mekanizmasındaki bozukluk (19) azalmış Ca^{+2} -ATPaz aktivitesi (20) ve hipotroidizm gibi mekanizmalarla ilişkili olarak bradikardinin geliştiği bilinmektedir. Bu nedenle ilk bakışta spontan diyabetik sıçan kalbinde İ/R hasarına karşı ortaya çıkan toleransın diyabetik kalpte kalp atım hızındaki azalmanın bir sonucu olduğu düşünülebilir. Ancak çalışmamızda benzer kardiyoprotektif etkinin elektrik stimülasyonu ile kalp atım hızı sabitlenen diyabetik sıçan kalbinde de gözlemlenmesi bu mekanizmayı geçersiz kılmaktadır. Öte yandan klinik önemi olmamakla birlikte, elde ettiğimiz bulgular, deneysel diyabetik hayvan modellerinde gözlemlenen çelişkili sonuçlarda diyabetik bradikardinin bir rolünün olmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda 8 haftalık diyabetik kalplerin *in vitro* koşullarda İ/R hasarına karşı rezistans gösterdiği ve bunun diyabetik kalpte gözlemlenen kalp atım hızındaki azalmayla ilişkili olmadığı saptanmıştır.

REFERANSLAR

1. **Feuvray D, Lopaschuk GD.** “Controversies on the sensitivity of the diabetic heart to ischemic injury: the sensitivity of the diabetic heart to ischemic injury is decreased” *Cardiovasc Res.*, **34**, 113-120 (1997).
2. **Tosaki A, Engelman DT, Engelman RM, Das DK.** “The evolution of diabetic response to ischemia/reperfusion and preconditioning in isolated working rat hearts” *Cardiovasc Res*, **31**, 526-536 (1996).
3. **Tosaki A, Engelman DT, Engelman RM, Das DK.** “Diabetes and ATP-sensitive potassium channel openers and blockers in isolated ischemic reperfused hearts” *J Pharmacol Exp Ther*, **275**, 1115–1123 (1995).
4. **Forrat R, Sebbag L, Wiensperger A, Guidollet J, Delaye J, De Lorgeril M.** “Acute myocardial infarction in diabetic dogs with experimental diabetes” *Cardiovasc Res*, **27**, 1908-1912 (1993).

5. **Hearse DJ, Steward DA, Green DG.** “Diabetes and the survival and recovery of the anoxic myocardium” *J Mol Cell Cardiol*, **7**, 397–415 (1975).
6. **Bakth S, Arena J, Lee W, Torres R, Haider B, Patel BC, Lyons MM, Regan TJ.** “Arrhythmia susceptibility and myocardial composition in diabetes” *J Clin Invest*, **77**, 382–395 (1986).
7. **Mochizuke S, Ischikawa SI, Abe M.** “Insulin treatment and myocardial function in isolated perfused hearts from diabetic rat” *Jpn Circ J*, **48**, 255–265 (1984).
8. **Heijnen JB, Mathy M-J, Van Zwieten PA.** “Effects of various calcium antagonists in isolated perfused hearts from diabetic and age-matched control rats” *J Cardiovasc Pharmacol*, **17**, 983–989 (1991)
9. **Gamble J, Lopaschuk GD.** “Glycolysis and glucose oxidation during reperfusion of ischemic hearts from diabetic rats” *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, **1225**, 191–199 (1994).
10. **Khandoudi N, Bernard M, Cozzone P, Feuvray D.** “Intracellular pH and role of Na⁺/H⁺ exchange during ischaemia and reperfusion on normal and diabetic rat hearts” *Cardiovasc Res*, **24**, 873–878 (1990).
11. **Khandoudi N, Bernard M, Cozzone P, Feuvray D.** “Mechanisms of intracellular pH regulation during postischemic reperfusion of diabetic rat hearts” *Diabetes*, **44**, 196–202 (1995).
12. **Tilton RG, Daugherty A, Sutera SP, Larson KB, Land MP, Rateri DL, Kilo C, Williamson JR.** “Myocyte contracture, vascular resistance, and vascular permeability after global ischemia in isolated hearts from alloxan-induced diabetic rabbits” *Diabetes*, **38**, 1484–1491 (1989).
13. **Kusama Y, Hearse DJ, Avkiran M.** “Diabetes and susceptibility to reperfusion-induced ventricular arrhythmias” *J Mol Cell Cardiol*, **24**, 411–421 (1992).
14. **Liu Y, Thornton JD, Cohen MV, Downey JM, Schaffer SW.** “Streptozotocin-induced non-insulin dependent diabetes protects the heart from infarction” *Circulation*, **88**, 1273–1278 (1993).
15. **Hadour G, Ferrera R, Sebbag L, Forrat R, Delaye J, De Lorgeril M.** “Improved myocardial tolerance to ischemia in the diabetic rabbit” *J Mol Cell Cardiol*, **30**, 1869-1875 (1998).

16. **Lopaschuk GD, Saddik M, Barr R, Huang L, Barder CC, Muzyke RA.** “Effects of high levels of fatty acids on functional recovery of ischemic hearts from diabetic rats” *Am J Physiol.*, **263**, E1046–E1053 (1992).
17. **Paulson DJ, Shug AL, Zhao J.** “Protection of the ischemic diabetic heart by L-propionylcarnitine therapy” *Mol Cell Biochem*, **116**, 131–137 (1992).
18. **Heyliger CE, Pierce GN, Singal PK, Beamish RE, Dhalla NS.** “Cardiac alpha- and beta-adrenergic receptor alterations in diabetic cardiomyopathy” *Basic Res Cardiol*, **77**, 610–618 (1982).
19. **Dutta K, Carmody MW, Cala SE, Davidoff AJ.** “Depressed PKA activity contributes to impaired SERCA function and is linked to the pathogenesis of glucose-induced cardiomyopathy” *J Mol Cell Cardiol*, **34**, 985–996 (2002).
20. **Takeda N, Dixon IMC, Hata T, Elimban V, Shah KR, Dhalla NS.** “Sequence of alterations in subcellular organelles during the development of heart dysfunction in diabetes” *Diabetes Res Clin Pract*, **30**, 113–122 (1996).
21. **Kano S, Ichihara K, Komatsu K, Satoh K.** “Comparative effects of azelnidipine and amlodipine on myocardial function and mortality after ischemia/reperfusion in dogs” *J Pharmacol Sci.*, **116**, 181-187 (2011).
22. **Kannel WB, McGee DL.** “Diabetes and cardiovascular risk factors. The Framingham Study” *Circulation*, **59**, 8-13 (1979).
23. **Dubrey SW, Reaveley DR, Seed M, Lane DA, Ireland H, O'Donnell M, O'Connor B, Noble MI, Leslie RD.** “Risk factors for cardiovascular disease in IDDM. A study of identical twins” *Diabetes*, **43**, 831-835 (1994).
24. **Galinanes M, Fowler AG.** “Role of clinical pathologies in myocardial injury following ischaemia and reperfusion” *Cardiovasc Res*, **61**, 512-521 (2004).
25. **Brady PA, Terzic A.** “The sulfonylurea controversy: More questions from the heart” *J Am Coll Cardiol*, **31**, 950-956 (1998).
26. **Loubani M, Fowler A, Standen NB, Galinanes M.** “The effect of gliclazide and glibenclamide on preconditioning of the human myocardium” *Eur J Pharmacol*, **515**, 142-149 (2005).
27. **Fisman EZ, Motro M, Tenenbaum A.** “Non-insulin antidiabetic therapy in cardiac patients: Current problems and future prospects” *Adv Cardiol*, **45**, 154-70 (2008).

28. **Tani M, Neely JR.** “Hearts from diabetic rats are more resistant to in vitro ischemia: Possible role of altered Ca²⁺ metabolism” *Circ Res*, **62**, 931-940 (1988).
29. **Ravingerová T, Styk J, Pancza D, Tribulová N, Seboková J, Volkovová K, Ziegelhoffer A, Slezák J.** “Diabetic cardiomyopathy in rats: Alleviation of myocardial dysfunction caused by Ca²⁺ overload” *Diabetes Res Clin Pract*, **31**, 105-112 (1996).
30. **Ziegelhöffer A, Ravingerová T, Styk J, Seboková J, Waczulíková I, Breier A, Dzurba A, Volkovová K, Cársky J, Turecký L.** “Mechanisms that may be involved in calcium tolerance of the diabetic heart” *Mol Cell Biochem*, **176**, 191-198 (1997).
31. **Paulson DJ.** “The diabetic heart is more sensitive to ischemic injury” *Cardiovasc. Res*, **34**, 104-112 (1997).
32. **Pierce GN, Ramjiawan B, Dhalla NS, Ferrari R.** “Na⁽⁺⁾-H⁺ exchange in cardiac sarcolemmal vesicles isolated from diabetic rats” *Am J Physiol*, **258**, H255–H261(1990).
33. **Lagadic-Gossmann D, Buckler KJ, Le Prigent K, Feuvray D.** “Altered Ca²⁺ handling in ventricular myocytes isolated from diabetic rats” *Am J Physiol*, **270**, H1529–H1537(1996).

Received= 02.04.2012

Accepted= 11.06.2012