Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 8, No. 1, 2003, 11 – 17
Akreditasi Dikti Depdiknas RI No. 69/DIKTI/Kep/2000

ISSN : 1410-0177

Pengaruh Diabetes Terhadap Haemodinamik dan Aktifitas Saraf Simpatik Ginjal pada Tikus Sprague-Dawley

A Helmi[1], Armenia[1], EJ Johns[2], AS Munavvar[3] & APM Yusof[3].
[1]*Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas Padang Indonesia*
[2]*Department of Physiology, Medical School, Birmingham, B 15 2 TT UK*
[3]*School of Pharmaceutical Sciences, University Sains Malaysia, Penang, Malaysia*

Diterima : 15 Februari 2003, Disetujui : 25 Maret 2003

Abstract

This study sets up to examine the effect of diabetes on the haemodinamic and renal sympathetic nerve activity in normal male Sprague-Dawley (SD) rats. Diabetes was chemically induced using streptozotocin (STZ) 60 mg/kg intraperitoneally, and the experiment was carried out seven days later. Body weight, total water intake, total urine output, urine sodium excretion were determined every 24 hours after STZ. The blood glucose, systolic and diastolic blood pressure (SBP and DBP), heart rate (HR) and renal sympathetic nerve activity (RSNA) were measured the day of acut experiment conducted. The animals were anaesthetised by a mixture of fluothane/O_2 with flow rate 4 and 5 l/min for 2 min and thereafter maintained on chloralose/urethane (12 mg and 180 mg/ml) 0.1 ml/5 min (6-7 times) followed by 0.05 ml/30 min respectively, administered intravenously via femoral vein. Blood pressure (systolic and diastolic) and heart rate were monitored using a Grass transducer connected to LabVIEW data acquisition system on a Macintosh computer. Renal nerves were isolated and placed on bipolar electrodes and their activity measured using the above system. Blood pressure, heart rate and renal sympathetic nerve activity were measured. The same experiment was also done in the normal SD rats. Results showed that urine out flow, water intack, natrium urine and blood glucose levels were increased in diabetic state while body weight was redused. Blood pressure were increase, but HR was decrease. However on RSNA was increased in diabetic state. Collectively, these data indicated that diabetes can influence blood pressure, heart rate, renal sympathetic nerve activity in experimental diabetes rats.

Keywords : diabetes, haemodinamik, saraf simpatik ginjal

Pendahuluan

Menurut The Expert Committee on the "Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus" (ECDCDM), diabetes mellitus adalah sekumpulan penyakit metabolik yang ditandai oleh timbulnya hiperglisemia yang berasal dari kegagalan sekresi insulin dan/atau kerja dari insulin. Hiperglisemia yang kronik akibat diabetes melitus dapat menyebabkan kerusakan jangka panjang, disfungsi dan kegagalan beberapa organ penting tubuh seperti mata, ginjal, jantung dan pembuluh darah. Gejala lain untuk penyakit diabetes melitus adalah terjadinya perubahan homeostatis, keseimbangan cairan tubuh dan volume darah.

Corresponding author : Telp 62-751-71682, Fax: 62-751-73118
E-mail : helmi_ar@yahoo.com

Keadaan diabetes yang berkepanjangan dapat menyebabkan terjadinya beberapa penyakit ikutan (komplikasi) seperti strok, neuropati autonomik yang mengakibatkan simptom kardiovascular, nefropati (dapat menimbulkan kegagalan ginjal), disfungsi saluran cerna, gangguan genitourinari dan seksual, neuropati perifer dengan resiko ulser pada kaki (dapat menimbulkan amputasi) dan retinopati yang dapat menyebabkan terganggu/hilang penglihatan (Tomlinson, *et al.*, 1989; Jarret, 1989). Frekwensi penyakit diabetes dan hipertensi akan bertambah sejalan dengan bertambahnya umur (Barnett, 1994).

Dalam penelitian ini dilihat pengaruh diabetes eksperimental terhadap haemodinamik dan aktifitas saraf simpatik ginjal pada tikus Sprague-Dawley.

Metode Penelitian

Hewan Percobaan

Penelitian ini menggunakan hewan percobaan tikus jantan dewasa jenis Sprague Dawley (SD) dengan berat badan 250-300 gram. Sebelum percobaan dilakukan, hewan terlebih dahulu dipelihara (aklimatisasi) selama satu minggu pada suhu kamar, diberi makanan berupa pelet yang diperoleh dari "Gold Coin Malaysia Sdn. Bhd" dan air minum secukupnya.

Induksi Diabetes Pada Tikus

Diabetes diinduksi pada tikus dengan pemberian injeksi streptozotocin (STZ) dosis 60 mg/kg secara intraperitoneal (i.p.). Pengamatan parameter fisiologi dilakukan selama 7 hari berturut-turut setelah injeksi STZ. Parameter fisiologi tersebut meliputi berat badan tikus, pengambilan air minum, pengeluaran urin, kepekatan natrium di dalam urin tikus. Sedangkan kepekatan glukosa darah, parameter haemodinamik (SBP, DBP, HR) dan RSNA hanya ditentukan pada hari ke 7 (saat percobaan akut dilakukan).

Pengukuran Parameter Fisiologi Selama Induksi Diabetes

a. Berat badan tikus selama induksi diabetes ditentukan dengan menimbang tikus pada hari ke 1, 3, 5 dan 7.
b. Pengukuran volume urin, volume air minum dan kepekatan natrium urin yang dikumpulkan selama 24 jam ditentukan pada hari ke 4, 5, 6 dan 7.
c. Pengukuran kadar natrium urin dilakukan dengan menggunakan alat fotometer nyala, dengan pembanding larutan standar natrium (MultiCal = 140 mmol NaCl).
d. Kepekatan glukosa darah untuk setiap tikus percobaan ditentukan dengan metoda Trinder (1969) menggunakan kit glukosa (Peridochrom glucose kit). Pengukuran serapan dilakukan terhadap sampel plasma darah dengan spektrofotometer "Stat Fax ^{TM} pada panjang gelombang (λ) 490 nm dan suhu 37^0 C.

Selain pengamatan parameter yang di atas, juga dikut diamati warna dan tekstur (keruh atau berbusa) dari urin, keadaan bulu yang berdiri, keadaan tingkah laku untuk pembersihan diri dari hewan.

Percobaan akut

a. Persiapan hewan

Pada hari percobaan akut, tikus dibius menggunakan campuran *"fluotane"* dan oksigen dengan kecepatan aliran masing-masingnya 5 L/menit dan 4 L/menit selama 2 menit. Tikus yang terbius sempurna dipindahkan ke meja pembedahan, dilanjutkan pembiusan dengan kecepatan aliran pembius yang cocok. Kemudian pada tikus dilakukan tracheotomi untuk memfasilitasi pernafasan spontan, dan kanulasi kantong kemih (bladder) untuk pengeluaran urin spontan. Setelah itu vena femoral kanan dikanulasi dengan kanula (pipa plastik) PE50 untuk memberikan infus salin dan larutan obat bius berupa campuran kloralos/ uretan (12 mg dan 180 mg/ml), 0.1 ml setiap 5 min (6-7 kali pemberian), kemudian dilanjutkan dengan 0.05 ml setiap 30 menit sesuai dengan keperluan untuk mempertahankan anestesi.

Arteri femoral kanan dikanulasi dengan kanula PE50 untuk memonitor dan menentukan besarnya tekanan darah arteri sistol (SBP) dan diastol (DBP) serta laju jantung (HR) secara langsung. Kanula yang berisi campuran salin dan heparin (60 U/ml) dari arteri femoral dihubungkan dengan transduser tekanan darah (*"Grass"* transducer) untuk menerima sinyal tekanan darah dan laju jantung. Transduser tekanan dihubungkan kepada "CEC instrumentation" dan amplifier, seterusnya dihubungkan dengan komputer "Apple Macintosh" untuk mencatatkan data secara otomatik menggunakan software LabVIEW(A/D National Instruments, Austin, Texas, USA).

Untuk mendeteksi aktifitas saraf simpatik ginjal (RSNA) dilakukan pembedahan secara retroperitoneal. Sinyal RSNA yang diterima oleh elektroda perak dihubungkan dengan "CEC instrumentation" dan amplifier, kemudian dihubungkan seterusnya kepada komputer "Apple Macintosh" untuk mencatatkan data (mV/s) secara automatis menggunakan software LabVIEW.

Agar kondisi hewan percobaan selama percobaan tetap stabil, maka kepada tikus percobaan diberi 2 ml larutan salin sekaligus, dan dilanjutkan dengan infus salin dengan kecepatan 3 ml/jam melalui vena femoral. Sebelum dilakukan penentuan tekanan darah, laju jantung dan aktifitas saraf simpatik ginjal, terlebih dahulu hewan percobaan dibiarkan selama 2 jam untuk kestabilan dan menghilangkan tekanan (stress) pada tikus percobaan akibat dari proses pembedahan (Zhang & Johns, 1996).

b. Penentuan Tekanan darah, Laju jantung dan Aktifitas saraf simpatik ginjal

Data tekanan darah, laju jantung dan aktifitas saraf simpatik ginjal untuk setiap tikus percobaan dicatat dengan menekan tombol "Clearance" pada layar monitor komputer untuk setiap percobaan. Semua

data dalam purata dari SBP dan DBP (mmHg), HR (Hz) dan RSNA (mV/s) dalam waktu 3.5 menit akan tercatat dan tersimpan dalam bentuk tabel di dalam hardisk komputer secara otomatis.

Untuk menghilangkan pengaruh suara latar (background noise) dari RSNA, pada setiap tikus perlu pencatatan nilai RSNA 30 menit setelah tikus dimatikan. Besarnya RSNA untuk setiap tikus percobaan adalah nilai RSNA yang dicatat sewaktu percobaan berlangsung dikurangkan dengan nilai suara latar yang dicatat di akhir percobaan (Zhang & Johns, 1997).

Analisis data

Data dari semua kelompok tikus dinyatakan dalam rata-rata standar eror minimum (s.e.m). Data dianalisis dengan sistem Anova, dilanjutkan dengan Duncan's post-hoc test menggunakan program SUPER ANOVA (Abacus Inc., 1985).

Hasil dan Diskusi

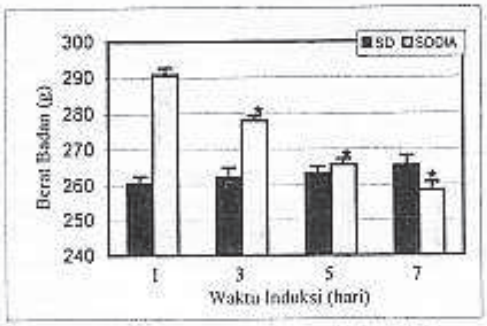
Pemberian Streptozotosin (STZ) 60 mg/kg secara suntikan intraperitoneal (i.p.) dapat mengakibatkan terjadinya diabetes melitus pada tikus-tikus percobaan 7 hari pasca induksi diabetes dengan terlihatnya tanda-tanda perubahan prilaku seperti berkurangnya aktifitas tikus dan kurang sukanya tikus membersihkan diri. Keadaan ini adalah akibat kurangnya sumber energi (glukosa) di dalam tubuh untuk melakukan aktifitas. Selain itu pada tikus diabetes secara organoleptis terlihat bahwa urin, berwarna kuning muda, keruh, berbusa dan ada endapan.

Tabel 1.Pengamatan visual beberapa parameter diabetes pada hewan percobaan selama induksi diabetes

No.:	Kelompok hewan	Pengamatan visual beberapa parameter diabetes selama induksi diabetes (7 hari)
1	Normal (SD)	Aktifitas normal, suka membersihkan diri, urin jernih, tak ada buih dan tak ada endapan.
2	Diabetes (SDDIA)	Aktifitas kurang, tak suka membersihkan diri, urin keruh, berwarna kuning muda, berbusa dan ada endapan.

Berat badan tikus (BB)

Dari data berat badan hewan percobaan selama induksi diabetes (Gambar 1.) terlihat bahwa ada perbedaan yang nyata BB dipengaruhi waktu ($P<0.05$) dari berat badan pada jenis tikus SD yang terinduksi diabetes (SDDIA) sedangkan dalam kelompok tikus normal (SD) tidak terlihat perbedaan yang berarti.



Gambar 1. Perbandingan berat badan (BB) antara kelompok tikus normal (SD) dan kelompok tikus diabetes (SDDIA) selama induksi diabetes.

* = berbeda nyata ($P<0.05$) untuk jenis tikus yang sama.

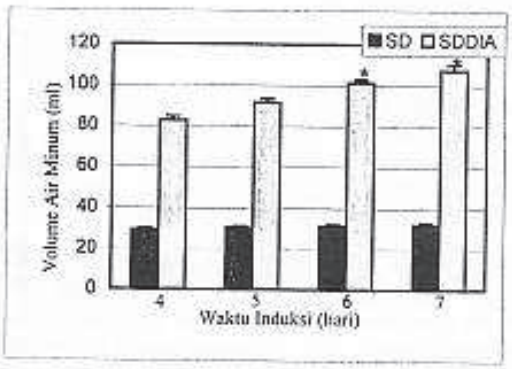
Dalam penelitian ini ditemui jenis tikus SD diinduksi diabetes dengan STZ 60 mg/kg secara intraperitoneal pada umumnya mengalami keadaan diabetes. Tanda-tanda diabetes yang dijumpai yaitu poliuria, polidipsia dan menurunnya kelakuan membersihkan diri, hiperglisemia serta penurunan berat badan sebagaimana yang dilaporkan oleh Wong & Tzeng (1993). Dalam hal penurunan berat badan ini terlihat kurva penurunan berat badan kelompok tikus diabetes tergantung dengan waktu, di mana makin lama induksi diabetes, sedangkan pada kelompok tikus non diabetes tidak terlihat hal demikian.

Penurunan berat badan tikus yang diinduksi dengan STZ merupakan suatu pertanda telah berlangsungnya diabetes di dalam tubuh tikus percobaan seperti yang dilaporkan oleh Tomlinson *et al.*, (1992). Insulin sangat diperlukan tubuh untuk memfasilitasi masuknya glukosa ke dalam sel sebagai sumber energi untuk membantu proses metabolisme kelebihan glukosa menjadi glikogen dan seterusnya disimpan di dalam hati. Insulin juga membantu proses metabolisme lemak menjadi asam lemak yang seterusnya untuk disimpan dalam jaringan lemak (fat tissue). Dalam keadaan diabetes,

seperti yang terjadi pada penghancuran sel-sel beta pankreas oleh STZ, maka insulin yang membantu masuknya sumber energi ke dalam sel akan berkurang atau terhenti sama sekali, sehingga sumber energi di dalam sel akan ikut berkurang atau habis sama sekali. Sebagai kompensasinya maka sel akan menggunakan sumber energi lain yang telah tersimpan sebelumnya dalam bentuk glikogen atau asam amino. Dengan terus berlangsungnya proses penghancuran lemak dan penggunaan glikogen akan menyebabkan terjadinya penurunan berat badan secara cepat. Hal ini terlihat pada penelitian ini bahawa kelompok tikus yang diaruh dengan STZ menunjukkan penurunan berat badan yang tergantung dengan waktu (Tomlinson *et al.*, 1992).

Pengambilan Air Minum (PAM)

Dari data volume air minum yang dicatat selama waktu induksi diabetes terlihat adanya peningkatan dalam kelompok tikus SD yang terinduksi deabetes, sedangkan dalam kelompok tikus SD normal tidak terlihat perubahan yang nyata ($P<0.05$).

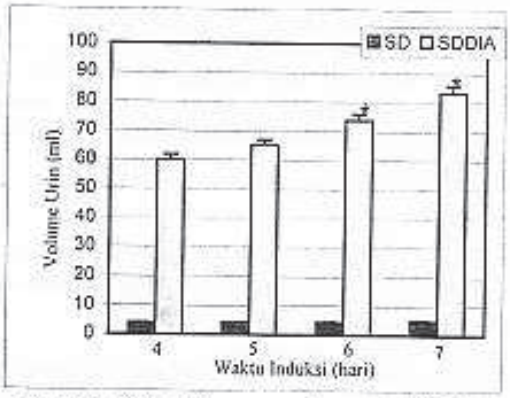


Gambar 2. Perbandingan pengambilan air minum (PAM) antara kelompok tikus normal (SD) dan kelompok tikus diabetes (SDDIA) selama induksi diabetes.
* = berbeda nyata ($P<0.05$) untuk jenis tikus yang sama.

Peningkatan PAM ini disebabkan oleh keadaan diabetes yang menyebabkan proses urinasi sebagai kompensasi faktor fisiologis dalam mengurangi kadar glukosa dalam darah serta mengontrol tekanan darah. Untuk mengganti volume cairan tubuh yang dikeluarkan sebagai akibat proses urinasi tersebut maka secara otomatis tubuh akan menjadi haus dan dahaga dan akan sering minum dengan volume yang banyak pula. Hal ini terlihat dengan meningkatnya pengambilan air minum pada kelompok tikus diabetes.

Pengeluaran Urin (PU)

Pengeluaran urin yang dicatat selama berlangsungnya proses induksi diabetes terlihat meningkat pada kelompok tikus diabetes, dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol ($P<0.05$).



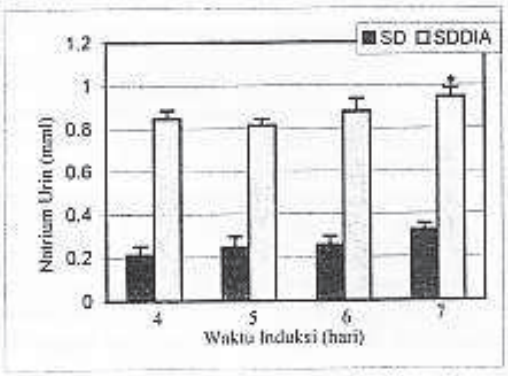
Gambar 3. Perbandingan pengeluaran urin (PU) antara kelompok tikus normal (SD) dan kelompok tikus diabetes (SDDIA) selama induksi diabetes.
* = berbeda nyata ($P<0.05$) dalam jenis tikus yang sama.

Peningkatan pengeluaran urin ini disebabkan oleh kerja ginjal yang lebih aktif untuk mengontrol kepekatan glukosa dalam darah. Bila kepekatan glukosa dalam darah meningkat, maka ginjal semakin aktif melakukan penyaringan glukosa dan mengeluarkan kelebihan glukosa tersebut melalui urin. Oleh karena itu tikus yang menderita diabetes akan sering mengeluarkan urin dalam volume yang banyak pula. Dalam pengamatan ini sering juga dijumpai urin tikus diabetes tersebut mempunyai banyak semut, mungkin disebabkan oleh glukosa yang berlebihan keluar bersama urin.

Jumlah Natrium di Dalam Urin (NaU)

Terjadi peningkatan kadar Natrium urin (NaU) yang nyata dalam kelompok tikus diabetes selama waktu induksi berbanding dengan kelompok tikus SD normal ($P<0.05$).

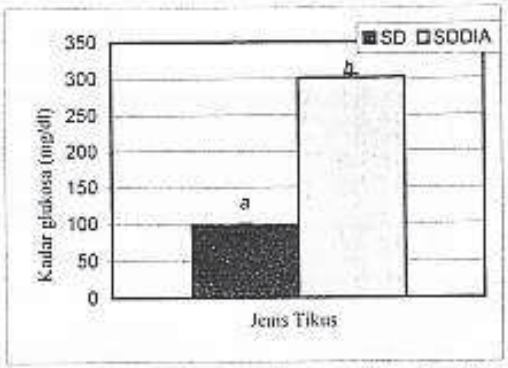
Selama induksi diabetes terjadi peningkatan jumlah (mmol) sodium urin (NaU) di dalam urin pada kelompok tikus diabetes. Terjadinya peningkatan jumlah NaU ini disebabkan terjadinya peristiwa diuresis. Pengeluaran air yang banyak melalui urin akan menyebabkan bertambahnya jumlah sodium yang dikeluarkan bersama urin tersebut. Hal ini juga disebabkan oleh terjadinya hiperreaktifitas dari adrenoseptor-α_1 pada aferen glomerulus ataupun terjadinya rintangan arteriol sistemik dari kadar adrenalin di dalam disfungsi pembuluh darah yang amat berperanan dalam terjadinya hipertensi glomerular disebabkan oleh hiperfiltrasi (Bodmer *et al.*, 1999).



Gambar 4. Parameter perbandingan jumlah natrium di dalam urin tikus (NaU) antara kelompok tikus normal (SD) dan kelompok tikus diabetes (SDDIA) selama induksi diabetes.
* = berbeda nyata (P<0.05) dalam jenis tikus yang sama.

Kepekatan Glukosa Darah (KGD)

Terjadi peningkatan kepekatan glukosa darah (hiperglisemia) selama induksi diabetes dengan rataan (301.0±5.1 mg/dl) berbanding dengan tikus normal (96.5±2.8 mg/dl).

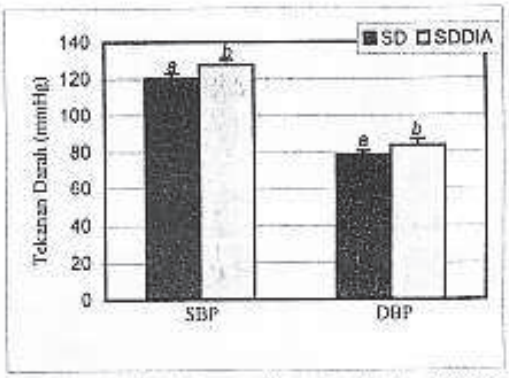


Gambar 5.Perbandingan kepekatan glukosa darah (KGD) pada kelompok tikus normal (SD) dan kelompok tikus diabetes (SDDIA).
a dan *b* = berbeda nyata (P<0.05)

Selama diabetes berlangsung telah terjadi proses glukosuria, hiperglisemia, hipoinsulinemia, polidipsia, polifagia, kehilangan berat badan, hiperkolesterolemia, hipertrigliseridemia, hipertensi dan bradikardia (Tomlinson *et al.*, 1992 dan Srinivasan *et al.*, 1997). Akibat dari terjadinya hiperglisemia selama diabetes ini menyebabkan tingginya kadar glukosa dalam darah, dan juga makanan yang dimakan setiap hari yang merupakan sumber glukosa akan selalu menambah kepekatan glukosa di dalam darah. Tingginya kadar glukosa dalam darah dapat melebihi batas ambang penyerapan balik nefron sehingga bisa memberikan keberadaan glukosa di dalam urin.

Tekanan Darah, Laju Jantung dan Aktifitas Saraf Simpatik Ginjal

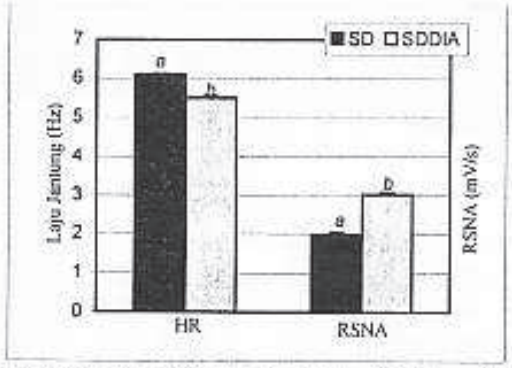
Dari hasil penelitian ini didapati bahawa dalam tikus jenis SD pada keadaan diabetes, baik tekanan darah, sistole (SBP) maupun tekanan darah diastole (DBP) dan aktifitas saraf simpatik ginjal (RSNA) terlihat lebih tinggi berbanding dalam tikus jenis SD yang normal (P<0.05), namun laju jantung (HR) terlihat menurun.



Gambar 6. Perbandingan tekanan darah sistol (SBP) dan diastol (DBP) pada kelompok tikus normal (SD) dan kelompok tikus diabetes (SDDIA).
a dan *b* = berbeda nyata (P<0.05) pada parameter yang sama

Terjadinya peningkatan tekanan darah pada tikus diabetes dalam penelitian ini mungkin merupakan akibat dari terjadinya retensi natrium, peningkatan volume dalam intrasel, perubahan aktifitas sistem saraf simpatik dan sistem renin-angiotensin (RAS) serta peningkatan reaktifitas vaskular (Ramos, 1980). Peningkatan aktifitas saraf simpatik dan penurunan reaktifitas pembuluh berperanan dalam meningkatnya tekanan darah arteri dalam tikus diabetes tipe 2, namun keterlibatan sistem saraf simpatik ini tidak terlihat dalam model tikus hipertensi yang sensitif garam (Carlson *et al.*, 2000). Beberapa peneliti terdahulu memberikan laporan yang berbeda mengenai pengaruh diabetes terhadap tekanan darah ini. Ada yang melaporkan tekanan darah meningkat akibat induksi diabetes seperti yang dilaporkan oleh Ramos (1988) dan Takeda *et al.*, (1991), sedangkan Kohler *et al.*, 1980; Pfaffman, 1980, dan Tomlinson *et al.*, 1990 melaporkan bahwa induksi diabetes menyebabkan penurunan tekanan darah. Namun demikian, Rodgers (1986), Yamamoto (1988) dan Akiyama *et al.*, (1989) menyatakan tidak ditemui perubahan tekanan darah dalam tikus yang diinduksi dengan zat diabeto-

genik. Hasil penelitian yang berbeda-beda yang dilaporkan oleh para peneliti ini mungkin disebabkan oleh perbedaan dalam tingkat aktifitas sistem simpatik atau sistem RAS (Renin-Angiotensin System) atau mungkin juga disebabkan oleh metoda penelitian yang berbeda (Tomlinson *et al.*, 1992).



Gambar 7. Perbandingan Laju Jantung (HR) dan aktifitas saraf simpatik ginjal (RSNA) di dalam kelompok tikus normal (SD) dan kelompok tikus diabetes (SDDIA). *a* dan *b* = berbeda nyata (P<0.05) pada parameter yang sama.

Dalam penelitian ini, laju jantung (HR) pada kelompok tikus SD terinduksi diabetes terlihat lebih rendah disbandingkan dengan kelompok tikus SD normal (P<0.05). Keadaan bradikardi yang disebabkan oleh diabetes ini juga sudah dilaporkan oleh Farzan *et al.*, 1997, Pfaffman, 1980; Bunag *et al.*, 1982 dan Tomlinson *et al.*, 1990. Peneliti-peneliti ini melaporkan bahwa tikus diabetes kronik memperlihatkan laju jantung yang rendah dibandingkan dengan tikus kontrol. Menurut Kawashima *et al.*, (1978), tikus diabetes kronik tidak terdapat hubungan antara gangguan fungsi baroreseptor atau kemampuannya untuk menormalkan tekanan darah secara tepat terhadap gangguan hipertensi, Ini berarti bahwa bradikardi tidak selalu terjadi dalam tikus terinduksi STZ. Akan tetapi menurut Tomlinson *et al.*, (1989) pada tikus diabetes akan terjadi bradikardi yang diakibatkan oleh peningkatan aktifitas saraf vagus dan/atau peningkatan sensitifitas efek kronotropik dari asetilkolin dalam jangka waktu pendek.

Aktifitas saraf simpatik ginjal (RSNA) pada penelitian ini lebih tinggi pada kelompok tikus SD yang terinduksi STZ dibandingkan dengan tikus SD normal (P<0.05). Menurut Monckton & Pehowich, (1980), dalam keadaan diabetes dapat terjadi perubahan degenerasi sistem saraf autonomik. Ini dijumpai dalam tikus jenis Wistar yang terinduksi diabetes. Dalam waktu 24 jam setelah induksi diabetes akan terjadi perubahan dalam akson dari jalinan simpatik pada paravertebral. Setelah 3 hari sampai 6 minggu, proses degenerasi ini akan menyebar sampai ke ganglion, dan seterusnya postganglion juga akan mengalami hal yang sama. Namun Schmidt & Scharp (1982) mengatakan bahwa tidak ditemui bukti yang menyokong atas terjadinya autonomik neuropati pada tikus Wistar Lewis setelah 3.5 bulan induksi diabetes. Kemungkinan timbulnya neuropati dapat disebabkan karena perbedaan dari spesies hewan yang digunakan. Pada tikus SD akan terjadi neuropati autonomik pada 1,5 sampai 3 bulan setelah induksi diabetes. Terjadinya neuropati autonomik juga bergantung kepada tingkat keparahan diabetes akibat perbedaan pemberian dosis diabetogenik (Monckton dan Pehowich, 1980).

Neuropati autonomik merupakan komplikasi dari diabetes melitus yang dapat menyebabkan berbagai perubahan terhadap fungsi kardiovaskular diantaranya takikardia, bradikardia, kekacauan ritma kadar jantung dan perubahan tekanan darah setelah melakukan kegiatan fisik, gangguan barorefleks dan juga dapat mengacaukan sistem termoregulasi (Bennett & Gardiner, 1988; Scott *et al.*, 1988), Akibat peningkatan aktifitas saraf simpatik dalam kelompok tikus diabetes memungkinkan terjadinya peningkatan tekanan darah dalam kelompok tikus tersebut.

Daftar Pustaka

Akiyama, N., Okumura, K., Watanabe, Y., Hashimoto, H., Ito, T., Ogawa, K., and Satake, K., 1989, Altered acetylcholine and norepinephrine concentrations in diabetic rat hearts: role of parasympathetic nervous system in diabetic cardiomyopathy. *Diabetes*, 38: 231-236.

Barnett, A.H., 1994, Diabetes and Hipertension, *Br. Med. Bull.*, 50 (2), 397 – 407.

Bennett, T., and Gardiner, S.M., 1988, *Cardiovascular pathophysiology in diabetes mellitus; a reappraisal. In Autonomic Failure*, ed.2, University Press; Oxford, England, 654-666.

Bodmer, C.W., 1999, *Hand vein responses to noradrenaline in normotensive patients with insulin-dependent Diabetes mellitus and microalbuminuria: Effects of α-adrenoceptor blockade with doxazosin*, Current Medical Research and Opinion; Newbury.

Bunag, R.D., Tomita, T., and Sasaki, S. (1982). Streptozotocin diabetic rats are hypertensive despite reduced hypothalamic responsiveness, *Hypertension*, 4, 556-565.

Carlson, S.H., Shelton, J., White, C.R., Wyss, J.M. (2000). Elevated sympathetic activity contributes to hypertension and salt sensitivity in diabetic obese Zucker rats. *Hypertension*; 35 (1 Pt 2):403-408

Farzan, R. Jr., Ballejo, G., Salgado, M.C., Moraes, M.F., Salgado, H.C. (1997). Heart rate variability and baroreceptor function in chronic diabetic rats. *Hypertension*, ; 30 (3 Pt 2):632-5

Garcia, M.J., McNamara, P.M., Gordon, T. and Kannell, W.B., 1974, Morbidity and Mortality in Diabetes in the Framingham Population : Sixteen year follow up study, *Diabetes*, 23, 105 – 111.

Jarrett, R.J., 1989, Cardivascular Disease and Hypertension in Diabetes Mellitus, *Diabetes Metab. Rev.*, 5, 547 – 558.

Kawashima, H., Igarashi, T., Nakajima, Y., Akiyama, Y., Usuki, K., Ohtake, S., (1978). Chronic hypertension induced by streptozotocin in rats, *Naunyn-Schemiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 305, 123-126.

Kohler, L., Boillat N, Luthi P, Atkinson J, and Peters-Haefeli L, (1990). Influence of streptozotocin induced diabetes on blood pressure and on renin formation and release. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 313: 257-261.

Monckton, G., dan Pehowich, E. (1980). Autonomic neuropathy in the streptozotocin diabetic rat, *Can. J. Neurol. Sci.* 7: 135-142.

Pfaffman, M.A. (1980). The effect of streptozotocin-induced diabetes and insulin treatment on the cardiovascular system of the rat. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 28: 27-41.

Porte, D. Jr. and Schwartz, M.W., 1996, Diabetes Complications : Why is Glucose Potentially Toxic?, *Science*, 272, 599- 560.

Ramos, E., Hall-Craggs, M. and Demers, L.M. (1980). Surreptitious habitual vomiting simulating Bartter's syndrome, *JAMA*, 243(10),1070-1072.

Ramos, O.L. (1988). Diabetes mellitus and hypertension: state of the art lecture. *Hypertension*, 11 (Suppl.I): 114-118.

Rodgers, R.L., (1986). Depressor effect of diabetes in the spontaneously hypertensive rat: associated changes in heart performance. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 64: 1177-1184.

Schmidt, R.E., dan Scharp, D.W. (1982). Axonal dystrophy in experimental diabetic autonomic neuropathy, *Diabetes* 31: 761-770.

Scott, A.R., MacDonald, I.A., Bennett, T., and Tattersal R.B. (1988). Abnormal thermoregulation in diabetic autonomic neuropathy, *Diabetes*, 37, 961-968.

Srinivasan, P.S., Hakim, Z.S., Santani, D.D., Goyal, R.K., (1997). Effects of chronic treatment with amlodipine in streptozotocin-diabetic and spontaneously hypertensive rats, : *Pharmacol Res* 1997 ; 35(5):423-8.

Takeda, Y., Miyamori, I., Yoneda, T., and Takeda, R. (1991). Production of endothelin-1 from the messenteric arteries of streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci.* 48: 2553-2556.

The Expert Committee on the Diagnosis and Classification on Diabetes Mellitus (ECDCDM), 1999, Report of The Expert Committee on the Diagnosis and Classification on Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, 22 (Suppl. 1), S5 – S19.

Tomlinson, K.C., Gardiner, S.M., and Bennett, T. (1989). Diabetes mellitus in Brattleboro rats: cardiovascular, fluid, and electrolyte status. *Am. J. Physiol.* 256: R1279-R1285.

Tomlinson, K.C., Gardiner, S.M., and Bennett, T. (1990). Blood pressure in streptozotocin-treated Brattleboro and Long Evans rats. *Am. J. Physiol.* 258: R852-R859.

Tomlinson, K.C., Gardiner, S.M., Hebden, R. A. and Bennett, T. (1992). Functional consequences of STZ-induced diabetes mellitus, with particular reference to the cardiovascular system, *Pharmacol. Rev.*, 44, 103-150.

Wong, K.K., and Tzeng, E.S.F. (1993). Appearence of different diabetic symptoms after Streptozotocin administration, a comparison study, *Biochem. and Mol. Biol. Internat.*, 30(6), 1035-1041.

Yamamoto, J. (1988). Blood pressure and metabolic effects of streptozotocin in Wistar-Kyoto and hypertensive rats. *Clin. Exp. Hypertens.* 10: 1065-1083.

Zhang, T. and Johns, E.J., (1996). Rilmenidine and reflex renal sympathetic nerve activation in wistar and hypertensive rats, *British Journal of Pharmacol.* 119, 1248-1254.

Zhang, T. and Johns, E.J., (1997). Somatosensory influences on renal sympathetic nerve activity in anaesthetized wistar and hypertensive rats, *Am. J. Physiology*, 272, (*Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 41): R982-R990.