

**T.C.**  
**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL DİABETİN SEREBELLAR CREB / BDNF YOLAĞI**  
**VE MOTOR FONKSİYONA ETKİSİ**

**Birgöl ALTUĞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Dr. Öğr. Üyesi İnci TURAN**

**ZONGULDAK**  
**2019**

**T.C.**  
**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL DİABETİN SEREBELLAR CREB / BDNF YOLAĞI**  
**VE MOTOR FONKSİYONA ETKİSİ**

**Birgül ALTUĞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Dr. Öğr. Üyesi İnci TURAN**

**ZONGULDAK**  
**2019**

**KABUL ve ONAY :**

**“DENEYSEL DİABETİN SEREBELLAR CREB / BDNF YOLAĞI VE MOTOR FONKSİYONA ETKİSİ”** başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Fizyoloji Anabilim Dalı Fizyoloji Yüksek Lisans Programı yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**26.06.2019**

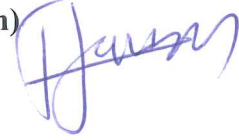
**Başkan : Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZACMAK**



**Üye : Prof. Dr. Şerif DEMİR**



**Üye : Dr. Öğretim Üyesi İnci TURAN (Danışman)**




**ONAY :**

**Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.**

**TARİH: 26.06.2019**

**Prof. Dr. Veysel Haktan ÖZACMAK**

**Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü**



## ÖNSÖZ

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'ndaki yüksek lisans eğitimim süresince ve tez çalışmam boyunca kendimi geliştirmem adına her anlamda desteğini, anlayışını esirgemeyen ve büyük emek sarfeden sayın hocalarıma; tez danışmanın olan Sayın Dr. Öğr. Üyesi İnci TURAN'a bilgi ve tecrübelerini en üst düzeyde ve sabırla paylaştığı için çok teşekkür ediyorum, saygı ve minnetimi sunuyorum. Üstün bilgi birikimlerini esirgemeyen, tüm süreçlerime ışık tutan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK ve Sayın Prof.Dr. Veysel Haktan ÖZAÇMAK'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunuyorum.

Yüksek lisans eğitimimin tüm aşamalarında her anlamda destek gördüğüm arkadaşlarım Büşra ONAR'a, Vet. Hekim Osman CENGİL'e, Öğr. Gör. Meryem ERGENÇ'e, Sümeyra ERCAN'a ve Fizyoterapist Salim ÖZENOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu süreçte yine desteğini esirgemeyen arkadaşlarım Öğr. Gör. Öznur KIRMIZI AY'a, Öğr. Gör. Funda YILDIRIM'a ve Öğr. Gör. Elif YATGIN'a çok teşekkür ediyorum.

Her zaman her şartta yanımda olan değerli arkadaşım Öğr. Gör. Dr. Güneş GÜNAY SEZER'e; sonsuz sabırla destek veren, hep yanımda olan Op. Dr. İsa DÜRÜMLÜ'ye çok teşekkür ediyorum.

Ayrıca hayatımın her aşamasına ve bu yüksek lisans sürecime varlıklarıyla anlam katan hep destek olan babam, annem, kardeşim, dedem, babaannem ve sayamadığım tüm aile üyelerime teşekkür ediyorum.

Birgül ALTUĞ

Haziran 2019, ZONGULDAK

## ÖZET

**Birgöl Altuğ, Deneysel Diabetin Serebellar CREB / BDNF Yolağı Ve Motor Fonksiyona Etkisi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Zonguldak, 2019.**

Diabetes mellitus, yüksek mortalite ve morbidite riski olan kronik bir hastalıktır. Siklik AMP Regülatuar Eleman Bağlayıcı Protein / Beyin kaynaklı nörotrofik faktör yolağı beyindeki öğrenme, hafıza, duygudurum dengeleri ve ödül mekanizmaları gibi çeşitli fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bu çalışmanın amacı deneysel olarak oluşturulan diabetin serebellumdaki etkilerini incelemek, diyabetin serebellar motor fonksiyonu nasıl etkilediğini ve diyabetin oksidatif stres parametreleri ile sinaptik proteinler üzerindeki etkisini araştırmaktır. Çalışmamızda 24 adet 300-350 gr ağırlığında erkek Wistar Albino cinsi sıçan rastgele iki gruba ayrılmıştır. 1) Kontrol grubu, 2) Diabet grubu. Diabet oluşturmak için streptozotosin tek doz (60 mg/kg) olarak intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Streptozotosin uygulamasından 3 gün sonra açlık kan şekeri düzeyinin >250 mg/kg olması diabet olarak kabul edilmiştir. Deney sonlandırılmadan önce hayvanlarda motor koordinasyonu değerlendirmek için kiriş yürüme testi (Beam Walking test) uygulandı. Feda edilen sıçanlardan serebellum dokuları toplanarak sinaptik protein düzeyleri ELİSA yöntemiyle ölçüldü. Ayrıca malondialdehid düzeyi ve glutatyon seviyeleri ölçüldü. Kiriş yürüme testinde platformu tamamlama süresi diabet grubunda kontrol grubuna göre düşük bulundu ( $p<0.05$ ). Serebellum BDNF düzeyi diabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Serebellum CREB düzeyleri kontrol ve diabet grupları arasında anlamlı farklılık yoktur. Serebellum MDA düzeyleri diabet grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p<0.05$ ). Serebellum GSH düzeyleri ise diabet grubunda düşük bulunmasına rağmen iki grup arasında anlamlı farklılık yoktur. Bu çalışma diyabetin serebellumda BDNF seviyesini azalttığını ve oksidatif stresi arttırarak motor fonksiyonlarda bozulma yarattığını göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Diabet, Serebellum, BDNF, CREB, Oksidatif stres, Motor koordinasyon

## ABSTRACT

**Birgöl Altuğ, Effects Of Experimental Diabetes on Cerebellar CREB/BDNF Pathways and Motor Function, Zonguldak Bülent Ecevit University Institute of Health Sciences, Physiology Thesis. Zonguldak, 2019.**

Diabetes mellitus is a chronic disease with high mortality and morbidity risks. Cyclic AMP Regulatory Element Binding Protein / Brain-derived neurotrophic factor pathway plays a role in the regulation of various functions in the brain such as learning, memory, mood balances and reward mechanisms. The aim of this study was to investigate the effects of experimentally induced diabetes on cerebellum, how diabetes affects cerebellar motor function and to investigate the effect of diabetes on oxidative stress parameters and synaptic proteins. In our study, 24 male Wistar Albino rats weighing 300-350 g were randomly divided into two groups. 1) Control group, 2) Diabetic group. Streptozotocin was administered intraperitoneally as a single dose (60 mg/kg) to induce DM. After 3 days of streptozotocin administration, fasting blood glucose level > 250 mg / kg was accepted as diabetes. The beam walking test (Beam Walking test) was applied to assess motor coordination in animals before the experiment was terminated. Cerebellum tissues were collected from the sacrificed rats and the levels of CREB and BDNF protein were measured by ELISA. Malondialdehyde levels and glutathione levels were also measured. The time to complete the platform was lower in the diabetes group compared to the control group in the beam walking test ( $p < 0.05$ ). The levels of BDNF in cerebellum were significantly lower in the diabetic group than in the control group ( $p < 0.05$ ). Cerebellum CREB levels do not differ significantly between diabetic and control groups. MDA levels were significantly higher in the diabetes group than in the control group in the cerebellum ( $p < 0.05$ ). Although cerebellum GSH levels were low in the diabetes group, there was no significant difference between the two groups. This study showed that diabetes reduces the levels of BDNF in the cerebellum and increases distortion of motor functions by increasing oxidative stress.

**Keywords:** Diabetes, Cerebellum, BDNF, CREB, Oxidative stress, Motor coordination

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL VE ONAY:.....	ii
ÖNSÖZ .....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİL DİZİNİ .....	xii
GRAFİK DİZİNİ.....	xiii
TABLO DİZİNİ .....	xiv
RESİM DİZİNİ .....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Diabetes Mellitus.....	3
2.2. Diabet Tanı Kriterleri .....	5
2.3. Diabetin Sınıflandırılması .....	5
2.3.1. Tip 1 diabetes mellitus.....	6
2.3.2. Tip 2 diabetes mellitus.....	8
2.3.3. Gestasyonel diabetes mellitus.....	11
2.4. Santral Sinir Sistemi.....	12
2.4.1. Serebellum / Beyincik.....	13
2.5. Diabetes Mellitus ve Serebellum.....	15
2.6. BDNF/ Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör.....	17
2.7. CREB/ Siklik AMP Regülatuar Eleman Bağlayıcı Protein.....	20
2.8. Diabetik Hayvan Modelleri .....	22
2.8.1. Deneysel T1DM modellerinin sınıflandırılması (86). .....	23
2.8.2. Deneysel T2DM modellerinin sınıflandırılması (87). .....	23
2.8.3. BGT modelleri (87). .....	23
2.9. Deneysel Diabet Modellerinde Cerrahi Yöntemler.....	23
2.9.1. Pankreatektomi .....	23
2.9.2. Hipotalamik lezyonlar.....	24
2.10. Kimyasal Ajan Aracılı Deneysel Diabet .....	24

2.10.1. Diabetik modellerde STZ.....	25
2.11. Diabetik Komplikasyon Patofizyolojisi .....	27
2.11.1. Polyol yolağı aktivite artışı .....	28
2.11.2. AGE artışı .....	28
2.11.3. PKC aktivasyon artışı .....	29
2.11.4. Heksosamin yolağının aşırı aktivitesi .....	30
2.11.5. Oksidatif Stres.....	30
2.11.6. Antioksidanlar.....	31
2.12. Beam walking test/Kiriş yürüme testi .....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	34
3.1. Deney Hayvanları.....	34
3.2. Deney Grupları ve Diabet Oluşturma.....	34
3.3. Kan Şekeri ve Vücut Ağırlıkları Takibi .....	35
3.4. Davranış Testi.....	35
3.4.1. Beam walking test/Kiriş yürüme testi.....	35
3.5. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması.....	36
3.6. Değerlendirilen Parametreler.....	36
3.6.1. Fosfat tampon solüsyonu hazırlanma süreci.....	36
3.6.2. Doku homejanatlarının hazırlanma süreci .....	37
3.6.3. Serebellar CREB ve BDNF ölçümü .....	37
3.6.4. Oksidatif stres düzeylerinin belirlenmesi .....	37
3.7. İstatistiksel Analiz .....	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. BDNF Sonuçları .....	39
4.2. CREB sonuçları .....	39
4.3. Biyokimyasal Parametreler .....	40
4.3.1. MDA sonuçları .....	40
4.3.2. GSH düzeyleri.....	41
4.4. Davranış Testi Sonuçları .....	41
4.4.1. Beam walking test/Kiriş yürüme testi sonuçları.....	41
5. TARTIŞMA .....	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	46
7. KAYNAKLAR .....	47



8. EKLER.....	59
Ek 1: Etik kurul onayı .....	59
9. ÖZGEÇMİŞ .....	60



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AChE</b>	: Asetilkolinesteraz
<b>AD</b>	: Alzheimer Hastalığı
<b>AGE</b>	: İleri glikasyon son ürünleri
<b>AR</b>	: Aldo redüktaz
<b>BDNF</b>	: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	: Kalsiyum
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CaMKIV</b>	: Ca <sup>2+</sup> / kalmodulin-bağımlı kinaz IV
<b>cAMP</b>	: Siklik adenozin monofosfat
<b>CBP</b>	: CREB-bağlayıcı protein
<b>CCAS</b>	: Serebellar kognitif affektif sendrom
<b>CD 4-8</b>	: Cluster of differentiation 4-8
<b>CCAS</b>	: Serebellar bilişsel duygulanımsal sendrom
<b>CREB</b>	: Siklik AMP regülatuar eleman bağlayıcı protein
<b>CRTC</b>	: CREB-regüle edilmiş transkripsiyon kofaktörü
<b>DAG</b>	: Diaçilgliserol
<b>DM</b>	: Diabetes mellitus
<b>DNA</b>	: Deoksiribo nükleik asit
<b>ECM</b>	: Hücre dışı matriks
<b>EGL</b>	: Granül tabakası
<b>eNOS</b>	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
<b>ET-1</b>	: Endotelin-1
<b>ERK</b>	: Hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz
<b>GAD</b>	: Glutamik asid dekarboksilaz
<b>GAPDH</b>	: Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz
<b>GDM</b>	: Gestasyonel diabetes mellitus
<b>GFAT</b>	: Fruktoz-6-fosfat amidotransferaz
<b>GPx</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GSH</b>	: Redükte glutasyon
<b>HLA</b>	: İnsan lökosit antijeni
<b>IGT</b>	: Bozulmuş glikoz toleransı
<b>IFG</b>	: Bozulmuş açlık glukoz

<b>IDDM</b>	: İnsüline bağımlı diabet
<b>IGL</b>	: İç granül tabakası
<b>İp</b>	: İntraperitoneal
<b>İv</b>	: İntravenöz
<b>KATP</b>	: ATP'ye duyarlı potasyum kanalı
<b>LTP</b>	: Uzun süreli potansiyel
<b>ML</b>	: Moleküler tabaka
<b>mRNA</b>	: Mesajcı ribo nükleik asit
<b>MAPK</b>	: MAP kinaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehid
<b>NAD<sup>+</sup></b>	: Nikotin adenin dinükleotid
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotide fosfat
<b>NGF</b>	: Sinir büyüme faktörü (Nerve growth factor)
<b>NICE</b>	: Ulusal sağlık ve klinik mükemmellik enstitüsü
<b>NT</b>	: Nörotrofin ( Neurotrophin)
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit Radikali
<b>O-GlcNAcaz</b>	: O-N-asetilglukozamin
<b>PAI-1</b>	: Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
<b>PD</b>	: Parkinson hastalığı
<b>PI-3 K</b>	: Fosfatidil inozitol-3 kinaz
<b>PKC</b>	: Protein kinaz C
<b>PKA</b>	: Protein kinaz A
<b>PLC<math>\gamma</math></b>	: Fosfolipaz C gama
<b>PSS</b>	: Periferik sinir sistemi
<b>RAGE</b>	: AGE reseptörü
<b>RTK</b>	: Reseptör tirozin kinaz
<b>S133</b>	: Serin 133
<b>Sc</b>	: Subkutan
<b>SDH</b>	: Sorbitol dehidrogenaz
<b>SEM</b>	: Standart error of the mean
<b>SSS</b>	: Santral sinir sistemi
<b>STZ</b>	:Streptozotosin
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz

<b>SUR1</b>	: Sülfonilüre reseptörü 1
<b>T1DM</b>	: Tip 1 diabetes mellitus
<b>T2DM</b>	: Tip 2 diabetes mellitus
<b>TGF-a</b>	: Dönüştürücü büyüme faktörü a
<b>TGF-β1</b>	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta 1
<b>TNF</b>	: Tümör nekroz faktörü
<b>Trk</b>	: Tropomyozine bağlı kinaz
<b>UDP-GlcNAc</b>	: Difosfat ürasil-N-asetilglukosamine
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelyal growth faktör
<b>WHO</b>	: Dünya sağlık örgütü
<b>ZnT8</b>	: Çinko T8
<b>α</b>	: Alfa
<b>β</b>	: Beta
<b>γ</b>	: Gama

## ŞEKİL DİZİNİ

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
1. SSS'nin anatomik yapısı .....	12
2. Serebellumun fissur ve loblarının gösterimi .....	14
3. Nöronlarda BDNF işleme, paketlenme ve sekresyon .....	18
4. BDNF'nin etki mekanizması.....	20
5. CREB gen yapısı .....	21
6. CREB aracılı transkripsiyonun aktivasyon mekanizması .....	22
7. STZ ve alloksan uygulanması sonrasında elde edilen fazik kan glukoz yanıtı .....	25
8. STZ'nin Kimyasal Yapısı. ....	27
9. Antioksidanların Sınıflandırılması. ....	32

## GRAFİK DİZİNİ

<b><u>Grafik</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
1. Serebellum BDNF düzeyleri, & kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.....	39
2. Serebellum CREB düzeyleri.....	40
3. Serebellum MDA düzeyleri, & kontrol grubuna göre farklılığı göstermektedir. ..	40
4. Serebellum GSH düzeyleri.....	41
5. Beam walking test/Kiriş yürüme testi, & kontrol grubuna göre farklılığı göstermektedir.....	42



## TABLO DİZİNİ

### Tablo

### Sayfa

1. Grupların BDNF, CREB, MDA, GSH ve Platformu Tamamlama Değerleri..... 42



## RESİM DİZİNİ

### Resim

### Sayfa

1: Beam Walking Test/Kiriş Yürüme Testi ..... 36





## 1. GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM), dünya çapında milyonlarca kişiyi etkileyen, vücudun insülin metabolizmasındaki bozuklukla ve özellikle hiperglisemi ile karakterize sistemik seyirli bir hastalıktır (1, 2).

DM'ye bağlı çeşitli akut ve kronik komplikasyonlar nedeniyle her yıl binlerce kişi hayatını kaybetmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar DM komplikasyonları arasında en sık görülenidir. DM'li kişi sayısının azaltılması ve bu komplikasyonların en aza indirilmesi için önlemler alınmalıdır (2, 3).

DM gibi metabolik hastalıkların santral sinir sistemi (SSS) üzerindeki etkisi son yıllarda yapılan çalışmalarda hem insan hem de hayvan modellerinde araştırılmış olup, birçok çalışma DM'nin periferik nöropati ve SSS'nin işlev bozukluklarıyla ilişkisini kanıtlamıştır (4, 5).

DM, SSS'de oksidatif stres artışı ile ilişkili kronik hastalık olup toplumda çok yaygın görülmektedir. DM karbonhidrat ve lipid metabolizmasında değişikliklere neden olarak oksidatif stresi tetiklemektedir (6, 7).

Yapılan çalışmalarda beyinin çeşitli bölgelerinde diyabete bağlı fonksiyon bozuklukları bildirilmiştir. Etkilenen beyin bölgelerinden olan serebellumun motor koordinasyon, duyu ve bilişsel işlemler gibi birçok beyin fonksiyonunda rol oynadığı bilinmektedir (6, 7, 8).

Diyabetik komplikasyonların oluşmasında temel rol oynayan patofizyolojik mekanizma reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminin artışıdır. Bu durum komplikasyonların patogenezinde rol oynayan dört ana yolun aktivasyonuna neden olmaktadır; polyol yolağı aktivite artışı, ileri glikasyon son ürünleri (AGE) artışı, protein kinaz C (PKC) aktivasyon artışı, heksosamin yolağının aşırı aktivitesidir (9, 10).

Hiperglisemik koşullar altında, polyol yolu aktivitesi artar, bunu indirgenmiş GSH ve nikotinamid adenin dinükleotide fosfat (NADPH) seviyelerinde bir azalma izler. Polyol yolunun aşırı aktivasyonu ROS birikimine yol açar (11). Ayrıca ileri glikozillenmiş son ürünler (AGE) hücre içi sinyal iletim ve gen ekspresyon bozukluklarını, enflamatuvar yanıtları başlatabilen reseptörlere bağlanırlar. Sürekli AGE reseptörü (RAGE) uyarılmasının kronik hastalıkların patogenezinde önemli roller üstlendikleri düşünülmektedir (12).

Uzun süreli yüksek glukozaya maruziyet sonucu özellikle süperoksit dismutaz (SOD), MDA ve GSH düzeylerinin değişmesi ile karakterize olduğu düşünülen önemli hücresel dejenerasyonların diabetik hayvan serebellumlarında gözlemlendiği ve hücre içi glukozanın oto-oksidasyonu, serbest radikallerin fazla miktarda oluşması ve oksidatif stres artışının beyinde hasara neden olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (6).

BDNF, SSS ve periferik sinir sistemi (PSS) içerisinde nöronal fonksiyonları düzenleyen bir nörotrofindir (13). BDNF'nin, öğrenme ve hafızayı esas alan uzun süreli potansiyel (LTP) konusunda kritik bir rol oynadığı ve BDNF eksikliklerinin DM, Huntington hastalığı, Alzheimer hastalığı (AD) ve depresyon gibi birçok önemli hastalığın patogeneze katkıda bulunduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (14, 15, 16, 17).

Glisemik değişikliklerin CREB ekspresyonlarını değiştirdiğini çeşitli çalışmalar göstermiştir. Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) oluşturulan ratlarda çeşitli beyin bölgelerinde ve özellikle serebellum, hipokampus ve frontal kortekste CREB ekspresyonlarının azaldığı bildirilmiştir (18, 19).

Beyin hücreleri oksidatif strese karşı özellikle savunmasızdır ve oksidatif stres, ROS üretiminde ve ayrıca lipid peroksidasyonunda artışa neden olmaktadır. Diyabetik komplikasyonlarla bağlantılı olarak kortikal ve serebellar disfonksiyona yol açan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır (13, 20). Bu çalışmanın amacı streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diabet modelinin serebellar motor fonksiyonu nasıl etkilediğini ve diyabetin oksidatif stres parametreleri ile CREB/BDNF proteinleri üzerindeki etkisini araştırmaktır. Çalışmamız böylece diyabetin serebellumda meydana getirdiği fonksiyon bozukluklarının patofizyolojisine katkıda bulunacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diabetes Mellitus

DM, önümüzdeki on yılda hızla artan insidansı ile 21. yüzyılın en yaygın hastalıklarından biridir ve tüm dünyada on bir yetişkinden birinin diabetik olduğu düşünülmektedir (21). DM günümüz insanının yaşam koşullarından kaynaklı (sedanter yaşam, yanlış beslenme alışkanlıkları gibi) dünya çapında hızla yayılım gösteren yüksek mortalite ve morbiditeye sahip metabolik hastalıktır (22). DM vücudun insülin üretilmediği veya kullanamadığı ve özellikle de yüksek kan glukozu ile karakterize sistemik seyirli bir hastalıktır (1).

DM, dünya çapında 424 milyon kişiyi etkileyen küresel bir salgın olup, 2045 yılında bu rakamın 628 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Diabetin en yaygın tiplerinden biri olan Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM), insülin eksikliğinden kaynaklanır ve uzun süreli glukoz metabolizmasının bozukluğu organlarda çeşitli komplikasyonların oluşmasına neden olmaktadır (2, 4). T1 diabetli 20 yaş altı çocuk ve ergen sayısının bir milyonu aştığı tahmin edilmektedir. DM komplikasyonlarının azaltılması için daha ciddi önlemler alınmalıdır. Eğer önlem alınmaz ise diabetli kişi sayısının yükselebileceği öngörülmektedir. Ancak olumlu bir ilerleme olarak da bazı yüksek gelirli ülkelerde insidansın düşmeye başladığı görülmektedir (2). Hipoglisemi, diabetik ketoasidoz, koma, nöbetler, bilinç kaybı ve enfeksiyon gibi akut komplikasyonlar ile, retinopati, nöropati, nefropati ile koroner arter hastalığı gibi kronik komplikasyonlar hastalığın seyri sırasında görülmekte ve bu komplikasyonlar nedeniyle her yıl binlerce kişi hayatını kaybetmektedir. DM ayrıca artmış kanser oranları, depresyon ve tüberküloz gibi hastalıklarla da ilişkili bulunmuştur (2, 3). Diabet komplikasyonları arasında kardiyovasküler hastalıklar daha çok görülmektedir ve diyabetli kişilerin %65 den fazlası kardiyak hastalıklardan hayatını kaybetmektedir (1).

Normal serebral metabolizmanın sürekliliği için beyinde glukoz gerekir. DM, glikoz seviyesinin bozulmasına bağlı olarak nöral hücrelerin aktivitesini, hayatta kalmasını ve işlevini etkileyebilmektedir. DM gibi metabolik hastalıkların santral sinir sistemi (SSS) üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. DM beyinde nörofizyolojik ve yapısal değişikliklere neden olmakta ve bu değişiklikler diyabetik ensefalopati olarak adlandırılmaktadır (4). Diabetik

ensefalopati psikomotor verimlilik, kognitif fonksiyonlar ve hızlı bilgi işleme gücünü azaltmaktadır. Hem insan hem de hayvan modellerinde DM'nin periferik nöropati ve SSS'nin işlev bozukluklarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (5). DM, SSS'de özellikle serebellum ve hipotalamus gibi bölgelerde hasara neden olabilmekte ve AD ve Parkinson hastalığı (PD) gibi nörodejeneratif hastalıkların riskini arttırmaktadır (5, 23). DM, karbonhidrat metabolizmasının yanısıra protein ve lipid metabolizmalarını da bozmakta, ayrıca oksidatif stres ve apoptozisin tetiklenmesi ile bilişsel ve davranışsal problemlere de neden olmaktadır (5).

STZ ile indüklenen diabetik sıçanlarda hipotalamusta, serebral kortekste, hipokampusta ve serebellumda beyin hasarları ile ilgili kanıtlar bildirilmiştir. DM'li hastalar hafıza ve bilişsel işlevlerde bozulma, zayıf motor koordinasyon ve motor aktivitelerde azalma sergilemektedir. Serebellum merkezi sinir sisteminde başlıca motor koordinasyon merkezi olarak kabul edilmektedir (23). İnsanlarda yapılan son çalışmalar serebellumun yalnızca motor aktivitelerle ilgili olmadığını aynı zamanda yaygın gelişimsel bozukluk, otizm ve bilişsel ve duyuşsal fonksiyonlarla ilgili olduğunu da bildirmiştir. Ayrıca, Hernández-Fonseca ve arkadaşları (2009) , STZ ile indüklenen diyabette yetişkin sıçanlarda korteks ve serebellar Purkinje hücrelerindeki piramidal nöronlarda apoptozisin arttığını bildirmişlerdir (24, 25).

Diyabetik komplikasyonların azaltılmasında birçok ilaç etkili olmasına rağmen, bugüne kadar DM ile ilişkili nörolojik bozuklukların önlenmesi için özel bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Çünkü altta yatan mekanizmalar oldukça kompleks ve hala tam olarak anlaşılamamıştır. Örneğin; antidiyabetik bir ilaç olarak Glibenklamid, pankreatik beta hücrelerinde ATP'ye duyarlı potasyum kanalı (KATP) düzenleyici alt birim sülfonilüre reseptörü 1'e (SUR1) bağlanıp aktive edilerek çalışır. Daha sonra bu etki, hücre zarının depolarize olmasına ve voltaj bağımlı  $Ca^{2+}$  kanallarının aktivasyonuna neden olur ve bu da beta hücresindeki hücre içi kalsiyumu artırır ve insülin salınımını uyarır. Donepezil ise santral etkili bir geri dönüşümlü asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörüdür. Temel terapötik kullanımı; kan-beyin bariyerini geçme kabiliyeti nedeniyle AD'nın palyatif tedavisidir (5).

## 2.2. Diabet Tanı Kriterleri

DM teşhisi için, tanı kriterleri onlarca yıldır tartışılmakta ve güncellenmektedir, ancak Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) mevcut kriterlerine göre, diabetin kandaki glukoz düzeylerinin yükselmesiyle teşhis edildiği belirtilmiştir (2).

Aşağıdaki kriterlerden bir veya daha fazlası karşılanırsa, diyabet teşhis edilmelidir: (2).

-Açlık kan glukozu  $\geq 7.0$  mmol / L (126 mg / dL) veya

-75 g oral glukozu takiben iki saatlik kan glukozu  $\geq 11.1$  mmol / L (200 mg / dL) veya

-Rastgele bir glukoz  $> 11.1$  mmol / L (200 mg / dL) veya HbA1c  $\geq 48$  mmol / mol (% 6,5'e eşdeğer).

Aşağıdaki kriterlerin her ikisi de sağlandığında Bozulmuş Glukoz Toleransı (IGT) teşhisi konulmalıdır: (2).

-Açlık kan glukozu  $< 7.0$  mmol / L (126 mg / dL) ve

-75g oral glukozu takiben iki saatlik kan glukozu  $\geq 7.8$   $< 11.1$  mmol / L ( $\geq 140$  ila  $< 200$  mg / dL)

Aşağıdaki kriterlerin her ikisinin de karşılanması halinde, Bozulmuş Açlık Glukoz (IFG) teşhisi konulmalıdır: (2).

-Açlık kan glukozu 6.1-6.9 mmol / L (110 ila 125 mg / dL) ve

-75g oral glukozu takiben iki saatlik kan glukozu  $< 7.8$  mmol / L (140 mg / dL)

## 2.3. Diabetin Sınıflandırılması

Diabetin sınıflandırılması ve teşhisi karmaşıktır ve uzun yıllar boyunca pek çok araştırmaya ve revizyona konu olmuştur, ancak şu anda yaygın üç ana tip olarak T1DM, tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ve gestasyonel diabetes mellitus (GDM) kabul edilmektedir (2).

- 1- T1DM, vücudun insülin üretememesinin bir sonucu olarak ortaya çıkar (1, 2).
- 2- T2DM, insülin direnci ve beta hücre yetmezliği sonucu ortaya çıkmaktadır (1, 2).
- 3- GDM (gebeliğe başlamadan önce diyabeti olmayan ikinci veya üçüncü trimesterde diyabet teşhisi konulan diyabet), gebelikteki hiperglisemi sonucu ortaya çıkan türdür (1, 2).

Diğer sebeplere bağlı olan spesifik diyabet türleri; örneğin, monogenik diyabet sendromları (neonatal diyabet ve genç başlangıçlı diyabet gibi), pankreas hastalıkları (pankreatit ve kistik fibroz gibi) ve ilaç veya kimyasal kaynaklı diyabet (Glukokortikoid kullanımı, HIV / AIDS tedavisinde veya organ transplantasyonu sonrası) olarak sınıflandırılabilir (26, 27).

Gebelikte hiperglisemi görülen kadınlar, sağlıklı bir diyet, orta düzey egzersiz ve kan şekeri takibi yoluyla kan glukoz seviyelerini kontrol altında tutabilirler (2). Monojenik diyabet ve sekonder diyabet olarak daha az yaygın görülen diyabet türleri de vardır. Monojenik diyabet, T1DM ve T2DM'de görülen çoklu genlerin ve çevresel faktörlerin katkılarından ziyade, otozomal dominant bir gende tek bir genetik mutasyonun sonucu oluşmaktadır. Tüm diyabet vakalarının yaklaşık % 1-5'i monogenik diyabet kaynaklıdır. (2, 27). Sekonder diyabet, hormonal bozukluklar (örn.; akromegali veya cushing hastalığı), pankreas hastalıkları (örn.; pankreatit) veya ilaçlar (örn.; kortikosteroidler) gibi başka faktörlerin bir komplikasyonu olarak meydana gelir (2, 26).

### **2.3.1. Tip 1 diabetes mellitus**

T1DM insidansı dünya çapında hızla artmakta olup, bunun çevresel ve genetik faktörlerin kombinasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. T1DM, vücudun bağışıklık sisteminin, pankreas bezinin adacıklarındaki insülin üreten beta hücrelerine saldırdığı bugüne kadar çalışmalara en çok konu olan otoimmün hastalıktır. (1, 2). Pankreas beta ( $\beta$ ) hücrelerinin hasarlanmasıyla ortaya çıkan T1DM insülin yetersizliği ve kronik hiperglisemi ile karakterizedir (1, 28).

Bu yıkıcı sürecin nedenleri tam olarak anlaşılamamıştır, ancak genetik yatkınlık ve viral enfeksiyon, toksinler veya bazı diyet faktörleri gibi çevresel tetikleyiciler bir arada düşünülmüştür (2).

İnsülinin çok çok az olmasına ya da hiç yapılamamasına bağlı olarak hiperglisemi meydana gelir. Bu hastalar yaşamlarını idame ettirebilmek için insülini ömür boyu dışarıdan almak zorunda kalırlar. Bu nedenle bu hastalığa “İnsüline Bağımlı Diyabet” (Insulin Dependent Diabetes Mellitus = IDDM) de denir. Genelde 30 yaş öncesinde başladığı için “Juvenil Diyabet” olarak da isimlendirilir (29).

Hastalarda %90 otoimmün Tip 1A, %10 kadarında nonotoimmün Tip 1B  $\beta$  hücre yıkımı mevcuttur (30).

Tip 1A diabetin adacıklardaki beta hücrelerinin seçici harabiyetinden kaynaklandığı düşünülmekte olup erişkinlerde gizli seyreden farklı bir alt tipi daha yakın zamanda tanımlanmıştır. Tip 1A diabetin gelişimi genellikle genetik yatkınlıkla başlayan ve beta hücrelerinin tam yıkımıyla sonlanan bir evre serisidir (1).

Tip 1B diyabet, T1DM'nin pankreatik kesitlerinin histolojik incelemesinde inflamasyonun olduğu ancak adacığa karşı otoantikorların olmadığı nadir görülen bir çeşit olarak değerlendirilmektedir (1). Otoimmünite haricindeki farklı bazı sebeplere bağlı olarak mutlak insülin yetersizliği sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir (30).

T1DM'li hastalar için temel tedavi insülin enjeksiyonudur. Farklı etki sürelerine sahip ve kandaki insülin konsantrasyonlarını kişinin metabolik ihtiyaçlarıyla eşleştirme amaçlı değişik form insülin çeşitleri geliştirilmiştir. İnsülin pompaları ve sürekli glukoz monitörleri gibi yeni teknolojiler de geliştirilmeye başlanmıştır (1). T1DM'li kişiler sağlıklı bir yaşam tarzı (diyet ve egzersiz), kesintisiz insülin ve kan şekeri ölçüm ekipmanı temini ile sağlıklı ve tatmin edici bir hayat sürebilirler (2). Kan glukoz seviyesini iyi bir şekilde takip etmek için bu hastalara diyet ve fiziksel aktivite seviyeleriyle birlikte insülin doz monitörizasyonu önerilmelidir ve egzersiz başlı başına insülin gibi kasın glukoz alımını arttırıcı özelliğe sahiptir. DM'li hastalar genel egzersiz seviyelerini değiştirdiklerinde diyet veya insülin konusunda önemli ayarlamalar yapmalıdırlar (1).

#### 2.3.1.1. Tip 1 diabet patogenezi

Tip 1A diabet, Graves hastalığı, Hashimoto tiroiditi ve Addison hastalığı gibi pek çok hastalık otoimmün aracılı doku yıkımından kaynaklanır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 1.5 milyon kişide tip 1A diabet mevcuttur ve bunların yaklaşık 170.000'i 20 yaşın altındadır. T1DM, CD4 + ve CD8 + T hücreleri ve adacıklara sızan makrofajlar aracılığıyla insülinite ve sonuçta  $\beta$ -hücre ölümüne, insülin üretiminin azalmasına ve hiperglisemiye neden olan bir hastalıktır (26, 31).

Tip 1A diabet gelişimini tahmin etmek için şu anda kullanılan 4 otoantikor vardır: glutamik asid dekarboksilaz (GAD), bir tirozin fosfataz benzeri protein, insülin ve yeni keşfedilen çinko T8 taşıyıcısıdır (ZnT8). Otoantikor oluşumuyla beraber otoimmün yanıtı, ilerledikçe insülin salınımı giderek azalır. İlerleyen zamanlarda azalan C-peptid seviyeleri, hastalarda diyabetin belirgin semptomlarının ortaya çıkmasına neden olur (32).

DM, her zaman insan lökosit antijeni (HLA) tarafından tanımlanmış genetik yatkınlık ortamında gelişir. Kromozom 6 üzerindeki HLA hastalıkla ilişkili olduğu gösterilen ilk lokus olmuştur ve tip 1 diyabetin ailesel temelini yaklaşık yarısına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. İki HLA gen kombinasyonu (veya haplotip) özellikle önemlidir: DR4-DQ8 ve DR3-DQ2, tip 1 diabetli çocukların %90'ında mevcuttur. Üçüncü bir haplotip olan DR15-DQ6, tip 1 diabetli çocukların %1'inden daha azında, genel populasyonun %20' sinden daha fazlasında bulunur ve koruyucu olarak kabul edilir. DR4-DQ8 / DR3-DQ2 gen kombinasyonu, hastalığın ortaya çıkmasındaki en büyük risk faktörlerinden biridir ve çok erken yaşlarda diabet gelişen çocuklarda çok yaygın görülmektedir (31, 32, 33).

Çevresel faktörlerin de Tip 1 diabette etkili olduğu düşünülmektedir. En popüler olan viral faktörler; enterovirüsler, rotavirüs ve kızamıkçık virüsleridir. Bugüne kadarki en güçlü veri, kızamıkçık üzerindedir. Konjenital kızamıkçık sendromu ile enfekte bebeklerin, tip 1 diabet riskinde artış olduğu düşünülmektedir (31, 33).

Bazı epidemiyolojik gözlemler tip 1 diabette D vitamini koruyucu rolünü desteklemektedir. Gebelikte D vitamini alımı ve yaşamın erken dönemlerinde D vitamini takviyelerinin, evrimde adacık otoimmünesine karşı koruma sağladığını göstermiştir. (31).

### **2.3.2. Tip 2 diabetes mellitus**

T2DM nedenleri hala tamamen anlaşılamamıştır ancak aşırı kilo, obezite, yaş, etnik köken ve aile öyküsü ile T2DM gelişimi arasında güçlü bir bağ vardır (2).

İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus ya da T2DM, diyabetin toplumda en yaygın görülen tipidir. Esas bozukluk insülin salgılanması ve etkinliğiyle karakterizedir. Tip 2 diabetli hastalarda esasen insülin eksikliğinden ziyade göreceli olarak insülin yüksekliği ve insülin direnci görülür. Bu yüzden tedavide insülin uygulamak yerine antidiyabetik ilaçların kullanımıyla kan glukozunun düzenlenmesi daha önemlidir. Diyabetin bu türü diyabetin süresiyle artış gösteren beta-hücre yetmezliği ile karakterizedir (Ketoasidoz sadece spontan olarak oluşur ve infeksiyon gibi diğer hastalıklarla birlikte görülebilmektedir) (2, 34).



Diabetik hipergliseminin patogenezinde üç önemli faktörün rol oynadığı düşünülmektedir. Bunlar beta hücre insülin salgısında bozulma, insülin direnci ve karaciğerde glukoz üretiminde artış ile karakterizedir. Hem insülin direnci hem de bozulmuş insülin salgılanması T2DM patogenezinde genetik olarak kontrol edilen faktörlerdir ve bunlardan hangisinin birincil ağırlıkta rol oynadığı henüz net değildir (34, 35).

T2DM; aşırı susama, yüksek idrar çıkışı, aşırı yemek yeme, pruritus, kilo kaybı gibi belirtiler ile kendini gösteren ve uzun süren bir asemptomatik döneme sahip diyabet tipidir. Retinopati, nefropati, nöropati ve aterosklerotik kalp hastalığı gibi kronik komplikasyonlara ait yakınmalar hastanın doktora başvuru nedeni olabilmektedir. Genellikle 40 yaş sonrasında görülmektedir (35, 36).

T2DM'de aile hikayesi önemlidir ve bu genetik yatkınlığın bir göstergesidir. Ailede diyabet hastalığı olan bireylerin varlığı, obezite, yüksek kan basıncı ve kadınlarda gestasyonel diyabet mevcudiyeti tip 2 diyabet görülme riskini arttırmaktadır (34). T2DM gelişme riski yaş, obezite ve fiziksel inaktivite ile artış gösterir. Tip 2 diabette genellikle insülin direnci ön planda olduğundan, aşırı kiloyu azaltıp sağlıklı bir yaşam tarzını (diyet ve fiziksel aktivite) benimsemek ile hastalığın ilerlemesi engellenebilmektedir (2).

T2DM obezite ile çok yakın ilişkilidir. Obezite insülin direncini artırarak hiperglisemiye arttırmasına rağmen obezite yokluğunda da T2DM gelişebilmektedir. Buna göre obez T2DM'de insülin direnci daha büyük önem arz eder iken, obez olmayan T2DM'de insülin sekresyon bozukluğu öne çıkmaktadır (36, 37).

#### 2.3.2.1. Tip 2 diyabet patogenezi

Yetersiz insülin ve adiponektin üretimi ile sonuçlanan pankreatik  $\beta$  hücre hasarı ile proinflatuar sitokinlerin artmış üretimine neden olan obezite, T2DM oluşumuna katkıda bulunan başlıca faktörlerdir. İnsülin direnci T2DM'un klinik bulgularından yıllar önce ortaya çıkar ve özellikle anormal derecede artmış bel-kalça oranı gözlenen abdominal ve viseral obezite ile dislipidemi, hipertansiyon ve diğer metabolik bozukluklar önemli ölçüde ilişkilidir. Bu nedenle, obezite T2DM olan hastalarda insülin direncine büyük ölçüde katkıda bulunur (38).

İnsülin direnci karaciğer ve periferik organlar için spesifiktir. Örneğin periferik insülin direnci temel olarak kas ve yağ dokuda meydana gelir. Bu dokularda insülin aracılı glukoz alımı ve kullanımı bozulmuştur. Bununla birlikte hepatik insülin direncinin oluşumundan hepatik glukoneogenezin yetersiz baskılanması, glukojen sentezinin azalması ve lipid birikiminin artması sorumludur (39).

T2DM oluşmasının birincil nedeni  $\beta$  hücre işlev bozukluğu veya insülin direnci olsa bile yaş, kötü beslenme, yöresel farklılıklar ve genetik heterojenite gibi faktörler hastalığın ortaya çıkmasında etkilidir (40). Son çalışmalarda T2DM oluşmasında diğer bir etken olarak hiperinsülinemi ve hiperinsülinemiye bağlı insülin direnci meydana geldiği gözlenmiştir. Buna göre SSS'nde ventromedial hipotalamus, median eminence ve henüz tanımlanmayan çeşitli alanlardaki değişiklikler besin alımını artırarak ve sempatik sinir sistem aktivitesinin düzenlenmesinde rol alan neuropeptid Y ve diğer nöroregulator peptidlerin üretimini artırarak vagus sinirini uyarmakta ve bu da insülin salgısını uyarmaktadır.

Ayrıca normal sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalarda kronik fizyolojik hiperinsülineminin glukoz kullanımını veya glikojen sentezini bozarak insülin direncine sebep olabileceği düşünülmektedir (41, 42).

Glukoz homeostazi, pankreas  $\beta$ -hücrelerinden insülin sekresyonu ve insülinin vücuttaki etkileri arasındaki dengeye bağlıdır. İnsülin ile uyarılan glukoz alımına karşı gelişen insülin direncinin, tip 2 diyabet ve bozulmuş glukoz metabolizması olan hastalarda karakteristik bir bulgu olduğu iyi bilinmektedir. Normalden IGT'ye kadar geçen süreç, insülin direncinin kötüleşmesi ile ilişkilidir. IGT, T2DM'nin doğal seyirinde orta dereceli bir evredir ve DM ve kardiyovasküler hastalık gelişme riskinin bir göstergesidir (43).

T2DM'li hastaların yönetiminde glukozun kontrolü, önemli bir odak noktası olmaya devam etmektedir. Yapılan çalışmalar, hiperglisemiye azaltmanın mikrovasküler komplikasyonların başlangıcını geciktirdiğini ve ilerlemesini azalttığını bildirmişlerdir. Glukoz kontrolünün kardiyovasküler komplikasyonlara etkisi hala net olarak belirlenemezken, daha uzun süreli bir yararın mevcut olması muhtemeldir. Ancak uzun yıllar süren kontrolün ardından kardiyovasküler komplikasyonların azalacağı bildirilmiştir. Dolayısıyla glukoz kontrolünün yararları hastanın yaşı, yan etkiler ve tedavi maliyetleri göz önünde bulundurularak tedavi programları kişiselleştirilmelidir (44, 45).

### 2.3.3. Gestasyonel diabetes mellitus

GDM, anne ve bebek için, hem kısa hem de uzun süreli sağlık problemlerine neden olmaktadır. Gelecekte diyabet oranlarını arttırma potansiyeline sahip GDM, son zamanlarda bilimsel anlamda uluslararası ilgi uyandıran bir konu olmaktadır (46).

GDM, hamilelik sırasında ilk kez tanımlanan herhangi bir hiperglisemi derecesi olarak tanımlanır. Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü (NICE) tarafından açlık plazma glukozu olarak 5,6 mmol / L veya daha yüksek veya 2 saatlik kan glukoz düzeyi olarak 7.8 mmol / L veya daha yüksek tanımlanmıştır (47). Bu tanım, gebelikte erken teşhis edilen tanı konmamış T2DM vakalarını ve daha sonra gelişen gerçek GDM'yi kapsar. GDM, yaşamın ilerleyen dönemlerinde anne ve fetüste T2DM geliştirme riski taşıdığından, diyabet epidemisi üzerinde daha büyük bir etki oluşturmaktadır. Tarihsel anlamda bakıldığında, hamilelikte ortaya çıkan diyabet, 1921'de insülin keşfedilmeden önce hem anne hem de fetus için ölümcül bir durum olarak düşünülmüştür (48).

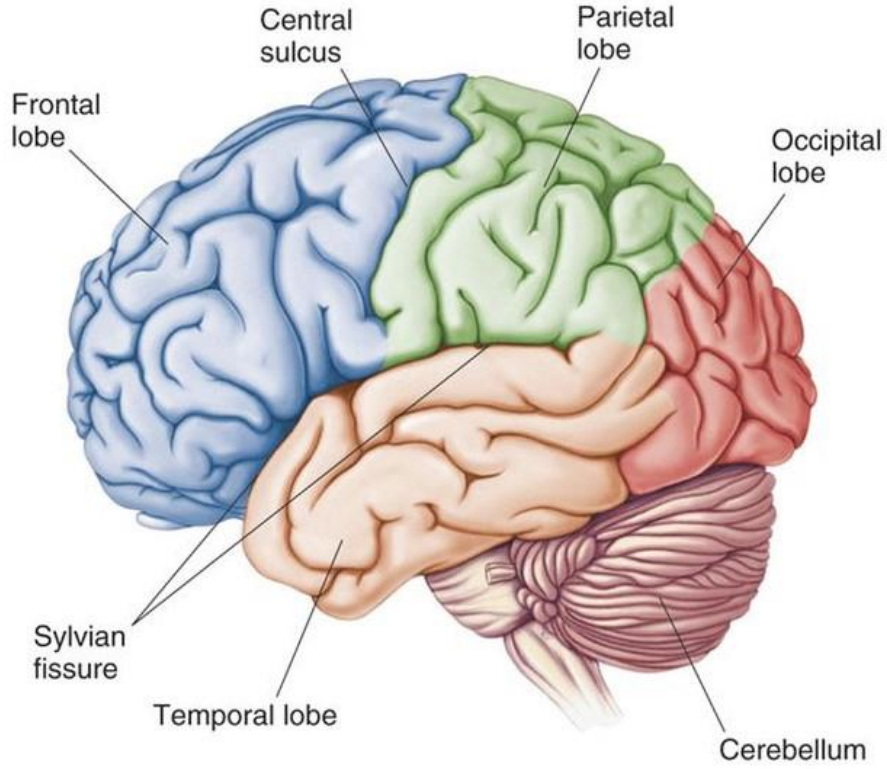
Gebelik kadınlarda insülin direncini tetikleyebilir ve yetersiz insülin sekresyonu ile birleştiğinde, maternal hiperglisemi ortaya çıkar (49). 1950'de Hoet ve ark. gebelikte hipergliseminin neonatal ve obstetrik komplikasyonlarını tanımlamışlardır. Maternal hipergliseminin, fetal kan glukoz düzeyini arttırdığını ve bunun sonucunda insülin sekresyonunu arttırarak pankreatik adacık hipertrofisi ile sonuçlandığını ve bunun da fetusun glukoz tüketimini arttırdığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (48, 50).

GDM, preeklampsi, gestasyonel hipertansiyon, sezaryen, makrozomi, doğum travması, solunum sıkıntısı sendromu, hipoglisemi ve ölü doğumlar gibi maternal ve perinatal komplikasyonların önemli sebebidir (47, 49).

Obezitenin dünya çapında yaygınlığı giderek artmakta ve gebelik komplikasyonlarının gelişmesinde önemli bir risk faktörü olarak görülmektedir. Obezite kronik inflamatuvar bir durumdur ve artmış inflamatuvar yanıt gebelik komplikasyonlarının gelişmesinde önemli bir rol oynayabilir (49). GDM prevalansı dünya çapında gebelerde aşırı kilo alımı ve obezite prevalansındaki artışa paralel olarak artmaktadır (2).

## 2.4. Santral Sinir Sistemi

SSS, birçok kompleks işlevinin yanında çevre ile ilgili bilgilerin periferik sinir sistemi aracılığıyla toplanması ve algılanması, refleksler ve diğer davranışsal yanıtların organize edilmesi, biliş, öğrenme ve bellek ile ilgili istemli hareketlerin planlanmasından sorumludur. SSS'ni beyin ve omirilik oluşturmakta, omirilik kendi içinde segmentlere ayrılmaktadır. Beyin embriyolojik gelişimi esas alındığında beş bölgeye ayrılabilir. Bunlar; miyelensefalon, metensefalon, mesensefalon, diensefalon ve telensefalon olarak adlandırılmaktadır. Erişkin beyinde miyelensefalonda medulla oblongata veya medulla, metensefalonda pons ve serebellum, mesensefalonda ortabeyin, diensefalonda talamus ve hipotalamus ve telensefalon da bazal ganglionlar ve serebral korteks bulunduğu görülmektedir (51, 52) (Şekil 1).

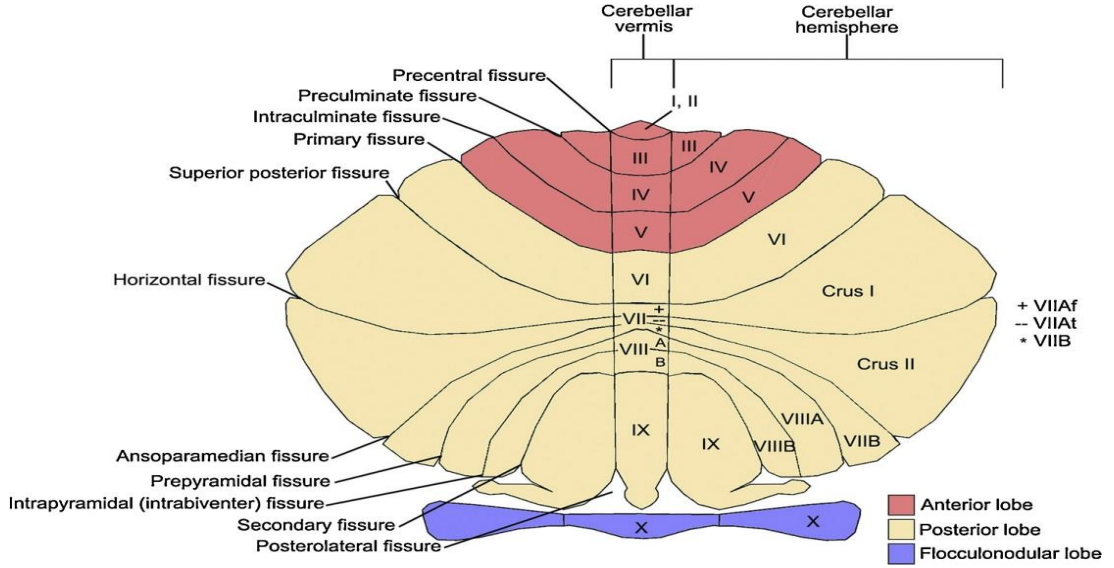


Şekil 1. SSS'nin anatomik yapısı (53).

#### 2.4.1. Serebellum / Beyincik

Serebellum, oksipital lobun hemen altında kraniyum arka çukuruna yerleşim gösteren ve beyin sapına bağlı olan yapıdır (51, 54). Uzun süredir yapılan çalışmalarda serebellum, koordinasyon ve istemli hareketlerin kontrolü için kritik bir beyin yapısı olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte son çalışmalar serebellumun aynı zamanda bilişsel, davranışsal ve duygusal işlevlerde de rol oynadığını göstermektedir (54).

Serebellum beyin sapında başlıca duysal ve motor sistemler üzerinde yerleşim gösterir. Mediyal vermis ve iki adet lateral serebellar hemisferden oluşan serebellum, serebral kortekse göre çok daha kıvrımlı ve daha fazla yarıklı yapıdadır. Serebellum, ağırlık açısından serebral korteksin sadece %10'u kadar, yüzey alanı açısından ise serebral korteks yüzey alanının %75'i kadar olduğu düşünülmektedir. Serebellum, dördüncü ventrikülün arka çevresinde yerleşmiş olan üç pedinkül ile beyin sapına bağlı durumdadır. Süperiyor serebellar pedinkül derin serebellar çekirdeklerden beyin sapı, çekirdek ruber ve talamusa yansıyan lifleri kapsamakta, orta serebellar pedinkül kontralateral pons çekirdeklerinden gelen lifleri içermekte, inferior serebellar pedinkül ise omirilik, beyin sapı, ve efferent liflerden vestibular çekirdeklere gelen afferent liflerin bir karışımı olarak bilinmektedir. Serebellumda, derin serebellar çekirdeklerden beyaz cevherle ayrılan bir dış serebellar korteks bulunur. Orta ve inferior serebellar pedinküllerde serebelluma giden afferent lifler mevcuttur. Bu lifler derin çekirdeklere kollateraller göndererek kortekse ulaşır. Dört adet derin çekirdek mevcuttur; dentatus, globus, emboliform ve fastigial çekirdeklerdir (53, 55) (Şekil 2).



**Şekil 2.** Serebellumun fissur ve loblarının gösterimi (66).

Serebellar kortekste ki hücre tipleri; granüler hücre, purkinje hücresi, golgi hücresi, sepet (basket) ve yıldız (stellat) hücreleri, unipolar fırçamsı hücreler ve lugaro hücreleridir. Serebellar korteksin üç tabakası bulunmakta, orta tabakayı purkinje hücrelerinin gövde kısımları oluşturur ve diğer iki tabaka ise granüler ve moleküler tabakadır. Granüler tabaka golgi hücrelerinden oluşan ara nöronları içerir ve granüler hücreler SSS'de en fazla bulunan küçük çaplı ve eksitator hücrelerdir. Moleküler tabakadan purkinje hücre tabakasına doğru granüler hücrelerin aksonları ilerleyerek paralel lifleri meydana getirirler. Paralel lifler çok sayıda purkinje ve golgi hücresinin dentritleri ile uyarıcı kavşak oluşturur ve moleküler tabakaya ait ara nöronlar olan sepet ve yıldız hücreler ile de bu hücreler uyarıcı sinaps yaparlar. Golgi, sepet ve yıldız hücreleri inhibitör tipli ara nöronlardır. Sepet hücreler, purkinje hücrelerinin gövdelerini sepet gibi sararak ilerler. Unipolar fırçamsı hücreler eksitator tipte ara nöronlar olup tek ve kısa dentritli, dentritin uç kısımları fırçamsı dallarıyla sinapslar yapar. Lugaro hücreleri ise inhibitör tipte ara nöronlardır ve aldıkları uyarıları inhibitör nöronlara ileterek kortikal tabakadaki hücresel iletişimi sağlarlar (51, 67).

Serebellum, bizzat istemli hareketleri başlatmayan ancak hareketlerin eşgüdümü ve postür ile dengenin denetlenmesinde görevli olan önemli bir merkezdir. Serebellum bu işlevlerini kas ve eklemler, deri, göz, vestibüler aygıt, iç organlar ve beynin hareketin denetlenmesine katılan bölgelerinden bilgi alarak gerçekleştirir (52). Serebellumun filogenetik olarak alt bölümleri; arşiserebellum, paleoserebellum ve neoserebellumdur. Bu alt bölümler serebellumun vestibüloserebellum,

spinoserebellum ve kortikoserebellum girdileri tarafından idare edilen bölümlerine karşılık gelmektedir. Vestibüloserebellum, göz hareketleri, duruş ve yürüyüşü, spinoserebellum gövde ve proksimal ekstremite hareketlerini düzenlemektedir. Kortikoserebellum ekstremitelerin distal bölümlerinin hareketlerini düzenler ve motor planlamaya katkıda bulunur (51).

Serebellum hasarı ile ilgili en önemli bozukluklar hareket sırasında görülmekte olup hareketin hızı, sırası, gücü ve yönündeki aksaklıklarla karakterize olarak tanımlanan ataksi sık görülmektedir. Hareket anomalileri etkilenen bölgeye göre değişir. Örneğin, vestibüloserebellum hasarından sonra oluşan semptomlar ataksi, denge bozukluğu ve nistagmudur (55).

## **2.5. Diabetes Mellitus ve Serebellum**

DM, SSS'de artmış oksidatif stres ile ilişkili kronik hastalıktır. Toplumda çok yaygın görülmekte, metabolizmayı etkilemekte ve kronik seyir göstererek karbonhidrat, proteinler ve lipid metabolizmasında değişikliklere sebep olmaktadır. Oluşan bu metabolizma değişiklikleri, bazı beyin hücrelerinin ölümüne yol açan oksidatif stresi tetiklemektedir (6, 7).

Yapılan çalışmalarda hipotalamus, hipokampus, serebral korteks ve serebellum gibi beyinin çeşitli bölgelerinde diyabete bağlı disfonksiyonlar bildirilmiştir. Motor koordinasyon, duyuşsal ve bilişsel işlemler gibi birçok beyin fonksiyonunda serebellum rol oynamaktadır (6, 7, 8).

Ravindar Naik ve ark.'na göre; DM sıçan beyinin hipokampus, hipotalamus, serebral korteks ve serebellumundaki katalaz (CAT), süperoksid dismutaz (SOD) ve glutasyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzim aktivitelerinde önemli derecede azalma görülmüştür (56).

Serebellum'un uzun süredir motor koordinasyon ve denge kontrolü ile ilgili bir beyin yapısı olduğu bilinmektedir. Ayrıca, son kanıtlar, serebellumun bilişsel işlem ve hafızadaki rolünü açıkça göstermiştir. Sıçanlarda serebellum, erken embriyonik dönemden doğum sonrası ilk haftalara kadar uzanan uzun bir süre boyunca gelişimini devam ettirir. Özellikle granüler hücrelerin dış granüler tabakada hizalanmasının doğumdan hemen sonra olduğu gözlemlenmiştir (57, 58).

Serebelluma verilen hasar, motor fonksiyon bozukluklarının yanısıra Serebellar Kognitif Affektif Sendrom (CCAS)'a neden olan nöropsikolojik

eksikliklere neden olabilir. Yürütücü fonksiyonlar, dikkat, bellek, görsel işlevler, dil ve duyguları etkileyebilir. Serebellum ile nörolojik bulgulara dayanan yüksek bilişsel işlevler arasındaki olası bir ilişki ilk olarak 1980'lerde tanımlanmıştır. Schmahmann ve arkadaşları tarafından CCAS'ta bilişsel işleyişe ait dört alanda bozukluklar gözlemlendiği bildirilmiştir.

1-yürütücü fonksiyonlar (planlama, soyut akıl yürütme, çalışma belleği, sözel akıcılık),

2-görsel fonksiyonlar (görsel örgütlenme ve hafıza),

3-kişilik (etkinin körleştirilmesi, uygunsuz veya uygunsuz davranış) ve

4-dil fonksiyonları (disprozodi, agramatizm, anomi).

Yürütme fonksiyonlarının serebellumla bağlantılı olduğu açıkça görünmektedir. Yapılan çalışmalar dikkat bozukluğu, hafıza ve öğrenme özellikle görsel hafızada önemli bozulmalar olduğunu göstermiştir. Dil işlevleri özellikle sözel akıcılık, sözcüksel hafıza, sözdizimi ve bazı vakalarda okuma ve yazma serebellum hasarlarında etkilenmiştir (59, 60, 61).

Serebellumun korku, endişe ve üzücü ruh hali gibi olumsuz duygular ile ilişkisi de tanımlanmaktadır. Depresyon, şizofreni gibi bazı nöropsikiyatrik hastalıklarda serebellar değişiklikler tespit edilmiştir. Bu hastalıkların tipik semptomları duygusal dengesizlik, saldırganlık, patolojik gülme ve ağlama gibi davranışsal bozukluklardır. Özellikle serebellar vermişin bu bozukluklarda önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (60). Diabetik modellerde serebellar korteksin farklı katmanlarındaki serebellar hacim, kalınlık ve hücre sayısı incelendiğinde; granül tabakası (EGL), moleküler tabaka (ML) ve iç granül tabakası (IGL) gibi çeşitli alanlarda serebellar korteksin kalınlığında önemli bir azalma olduğu gösterilmiştir (62, 63).

Kan şekeri kontrolü, öğrenme ve hafıza bozuklukları gibi uzun süreli diyabet komplikasyonlarından kaçınmak için şarttır. Diyabetik komplikasyonlarla ilişkili kortikal ve serebellar disfonksiyona yol açan mekanizmalar tam olarak anlaşılmasına rağmen, beyin hücreleri oksidatif strese karşı özellikle savunmasızdır. Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin üretiminde ve ayrıca lipid peroksidasyonunda artışa neden olur. Hiperglisemi, glukozun otoksidasyonu, proteinlerin glikasyonu ve polioll metabolizmasının aktivasyonu ile karakterizedir. Bu değişiklikler, çeşitli dokulardaki lipidlerin, deoksiribonükleik asit (DNA)'nın ve proteinlerin oksidatif modifikasyonlarına neden olacak reaktif oksijen türlerinin



oluşumunu hızlandırır. Oksidatif stresin diyabetle ilişkili nöronal bozukluklarda komplikasyon gelişiminde önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. Diyabetin ayrıca, serebellum, serebral korteks ve talamusu içeren somatik duyumlardaki değişikliklerle de ilişkili olduğu bulunmuştur (64, 65).

SSS'deki dopamin hem motor hem de duygusal davranışların kontrolünde rol oynar.

T Peeyush Kumar ve ark. (2010)' na göre diabetik durumlarda serebral korteks ve serebellumdaki dopaminerjik reseptörlerin gen ekspresyonunda anlamlı derecede azalma olduğu bildirilmiştir (64, 65, 68).

Rania N. Şerif (2017) yaptığı bir çalışmada; diabetik hayvan serebellumlarında uzun süreli yüksek glukoza bağlı ve özellikle SOD ve malondialdehid (MDA) düzeylerinin değişmesi ile karakterize olduğu düşünülen önemli hücresel dejenerasyonlar gözlemlenmiştir. Hiperglisemi ile hücre içi glukozun oto-oksidasyonu, serbest radikallerin fazla miktarda oluşması ve oksidatif stres artışının beyinde hasara neden olduğu bildirilmiştir (6). Uzun süreli hiperglisemi tablosunda ilk etkilenen beyin bölgelerden biri serebellumdur. Diabete bağlı serebellumun etkilenmesiyle özellikle motor faaliyetler, denge, koordinasyon, öğrenme ve hafıza gibi işlevlerde bozukluklar görülmektedir.

## **2.6. BDNF/ Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör**

Nörotrofinler nöronların büyümesini ve fonksiyonlarını düzenleyen, aynı zamanda sinaptik fonksiyonlarda ve sinaptik plastisitede görev alan polipeptid yapılı büyüme faktörleridir (70).

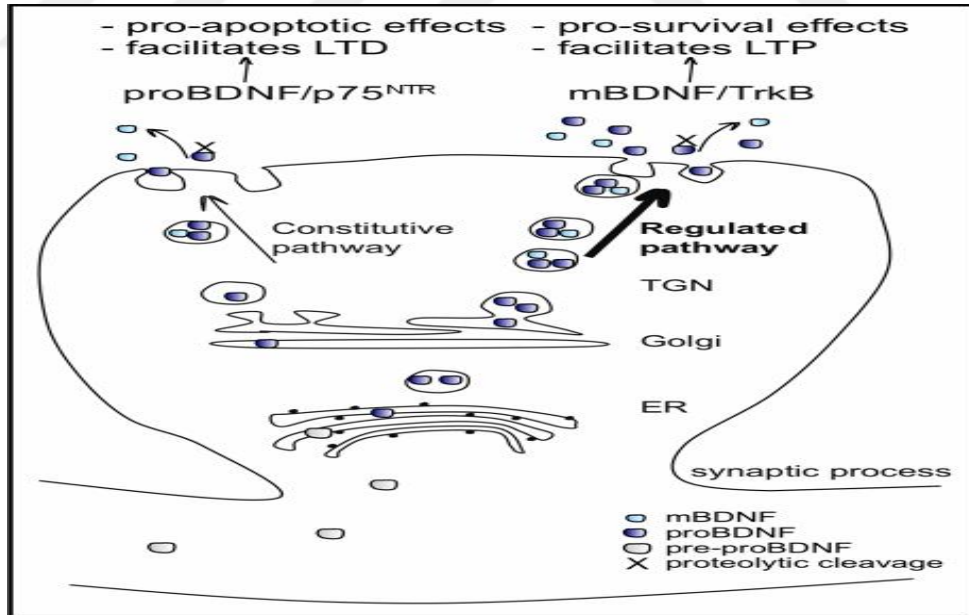
Nörotrofinler, iki farklı reseptör sınıfını, tropomyozine bağlı kinaz (Trk) reseptörü tirozin kinazları ailesini ve tümör nekroz faktörü (TNF) reseptörü süper ailesinin bir üyesi olan p75 reseptörünü aktive eder. Bu reseptörlerin nörotrofinler tarafından aktive edildiği ve bu önemli trofik faktör sınıfının sağkalımı destekleyici aktivitelerinin hemen hemen hepsine aracılık ettiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (71).

Nörotrofinler; sinir büyüme faktörü (NGF, nerve growth factor), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF, brain-derived neurotrophic factor), nörotrofin-3 (NT-3, neurotrophin-3) ve nörotrofin-4 (NT-4) olarak sınıflara ayrılmaktadır (71,72).

Reseptör tirozin kinazların (RTK)'lar Trk ailesi, sırasıyla NGF, BDNF / NT 4 ve NT 3'e yüksek afinite ile bağlanan tropomiyozine bağlı kinaz A (TrkA), tropomiyozine bağlı kinaz B (TrkB) ve tropomiyozine bağlı kinaz C (TrkC)'yi içerir. BDNF'nin yüksek affiniteli reseptörü TrkB, düşük affiniteli reseptörü ise p75'dir. ProBDNF'nin p75NTR'ye bağlanması nöronal apoptozisi teşvik eder. BDNF TrkB reseptörüne bağlandıktan sonra fosfatidil inozitol-3 kinaz (PI-3 K), fosfolipaz C gama (PLC $\gamma$ ) ve hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz (ERK) gibi büyüme ve sağkalım sinyal yollarını aktive eder (13, 72) (Şekil 3) (Şekil 4).

BDNF, SSS ve periferik sinir sistemi (PSS) içerisinde nöronların hayatta kalmasını, gelişimini ve işlevlerini etkileyerek sinapsların stabilizasyonunu gerçekleştiren, sinaps işlevini, akson ve dendrit dallanmalarını düzenleyen bir nörotrofindir (13).

BDNF, SSS'de ayrıca nörotransmitterlerin görev yaptıkları önemli sinir yollarının yapısal olarak sağlıklı kalmalarına ve görevlerini devam ettirmelerine katkı da sağlar. BDNF'nin sentezindeki aksaklıkların nörolojik ve nörodejeneratif hastalıklara yatkınlığı arttırdığı düşünülmektedir (20).



**Şekil 3.** Nöronlarda BDNF işleme, paketlenme ve sekresyon (73).

BDNF'nin nörodejeneratif ve psikiyatrik hastalıkların tedavilerinde ilerleyen dönemlerde yarar sağlayabileceğine dair çok sayıda bilimsel çalışma yapılmıştır (74, 75). BDNF, bir tirozin kinaz reseptörü olan TrkB'ye bağlanan küçük bir dimerik proteindir (74).

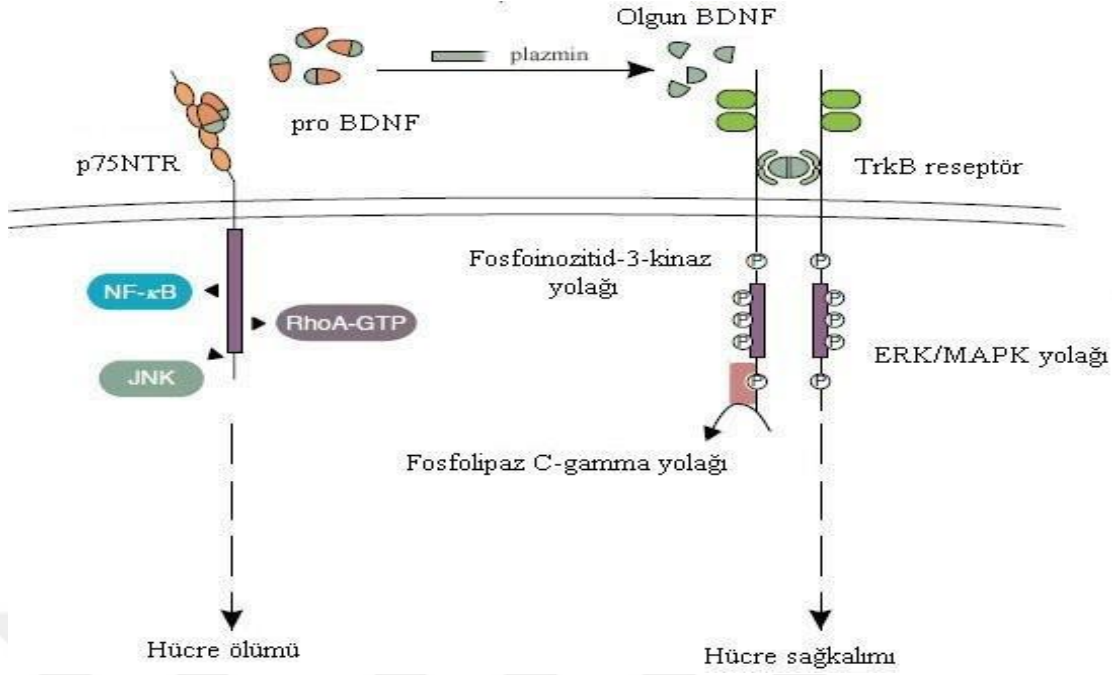
NGF'den sonra tanımlanan nörotrofin büyüme faktörü ailesinin ikinci üyesi BDNF'dir. İlk kez 1982 yılında Barde ve ark. tarafından domuz beyin dokusundan izole edilmiştir. BDNF'nin SSS'de NGF'den çok daha yüksek oranda eksprese edildiği ve geniş bir dağılıma sahip olduğu bilinmektedir (74, 75).

BDNF'nin korteks, serebellum, amigdala ve çeşitli hipotalamik çekirdeklerde ve adrenerjik beyin sapı çekirdeklerinde sentezlendiği, gliyal hücrelerde, schwann hücrelerinde, astroglialarda ve mikrogliya hücrelerinde BDNF mesajcı ribo nükleik asit (mRNA) ekspresyonu olduğu, SSS'de nöron harici hücrelerden, periferde vasküler endotel hücrelerinden, trombositlerden, lökositlerden, monositlerden, T ve B lenfositlerden sentezlendiği düşünülmektedir (76, 77).

BDNF mRNA ekspresyonunun, nöronal aktiviteyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu süreçlerdeki yükselme, kimi zaman sinaptik aktivite yükselmesine bağlı olarak veya BDNF'nin trofik fonksiyonuyla ilişkili olarak gerçekleşebilmektedir. Hipokampus, amigdala, koku sistemi bölgeleri, prefrontal serebral korteks, hipotalamus, neokorteks, serebellum, striatum, talamus ve superior kollikulus bölgelerinde BDNF mRNA ve protein düzeyleri belirlenmiştir. BDNF mRNA'sı, bulbus olfaktoriusta, medulla spinaliste ve adrenerjik beyin sapı hücrelerinde de belirlenmiştir (20, 78, 79).

BDNF'nin temel işlevinin hipokampal, kortikal ve periferik duyu nöronlarının hayatta kalmasını sağlamak olduğu düşünülmekte olup, dendrit yapısının büyümesinde, piramidal nöron gelişimi ve sinaptik plastisitede görev aldığı da bilinmektedir (20).

Presinaptik nörotransmitter salınımının yükselmesinde ve sinaptik yapılanmanın hızlanmasında, TrkB aracılığı ile dopamin salınımının artırılmasında BDNF'nin rolleri olduğu da yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Aynı zamanda retinal gangliyon hücreleri ve spinal motor hücreler gibi bazı periferik nöronların da hayatta kalmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Hipokampusta ve diğer beyin bölgelerinde, belirli bellek biçimlerinin oluşumunda rol oynayan sinaptik iletimin ve uzun süreli potansiyelin (LTP) de önemli bir düzenleyicisi BDNF'dir (20, 79).



**Şekil 4.** BDNF'nin etki mekanizması (20, 80).

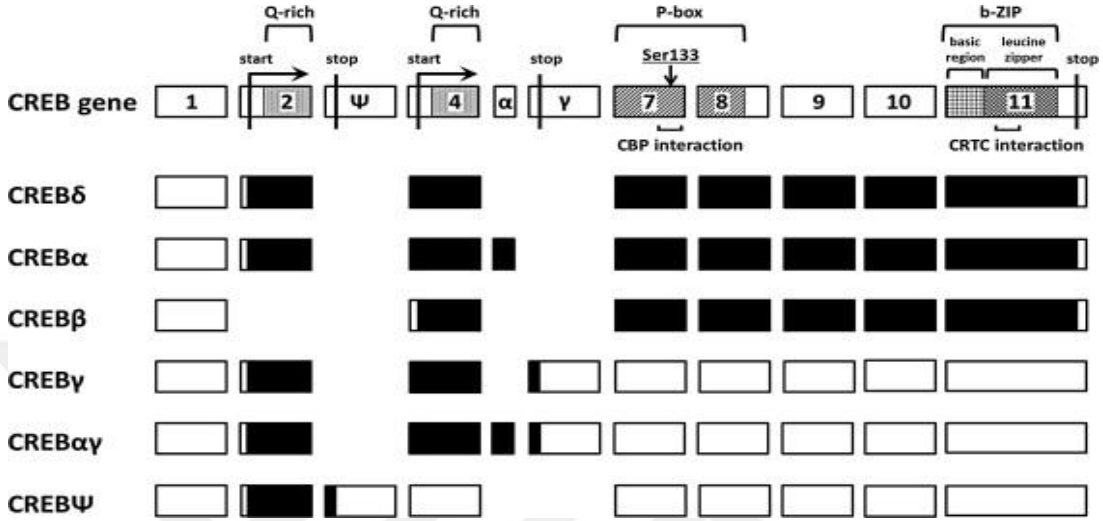
BDNF, pre-sinaptik ve post-sinaptik seviyelerde glutamaterjik iletimi düzenler. Post-sinaptik bölgede bulunan veziküllerinde tutulan BDNF, glutamat reseptörlerinin aktivasyonu ile  $Ca^{2+}$  bağımlı bir mekanizma tarafından serbest bırakılır. BDNF; TrkB reseptörleri, glutamat salınımı ve postsinaptik hücrede LTP oluşumunda etkilidir. BDNF, AMPA reseptörlerini uyarır ve NMDA reseptörlerinin aktivitesini artırır. Ayrıca BDNF, kinesin motor proteinlerinin aracılık ettiği dendritler boyunca RNA taşınımını düzenler ve gen transkripsiyonunu uyarır (81).

## 2.7. CREB/ Siklik AMP Regülatuar Eleman Bağlayıcı Protein

Transkripsiyon faktörleri hücrelerde genlerin regülasyonunda görevli proteinlerdir. Siklik AMP regülatuar eleman bağlayıcı protein (CREB), proliferasyon, hayatta kalma ve farklılaşma dahil olmak üzere çeşitli hücresel yanıtları düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Sinir sisteminin gelişimi, korunması ve nöronal plastisitenin yanı sıra öğrenme ve hafıza ile ilgilidir (82).

CREB çeşitli büyüme faktörleri ve enflamatuar sinyaller tarafından indüklenir ve daha sonra siklik adenosin monofosfat (cAMP) 'ye duyarlı bir eleman içeren genlerin transkripsiyonuna aracılık eder (83).

CREB ilk olarak 1987'de cAMP'ye duyarlı elemanlara (CREs) bağlanan bir transkripsiyon faktörü olarak sıçanlarda bulunmuştur. CREB geni, alternatif bölünme yoluyla CREB $\alpha$ , CREB $\delta$  ve CREB $\beta$  dahil olmak üzere birçok izoformu ifade eder (70) (Şekil 5).

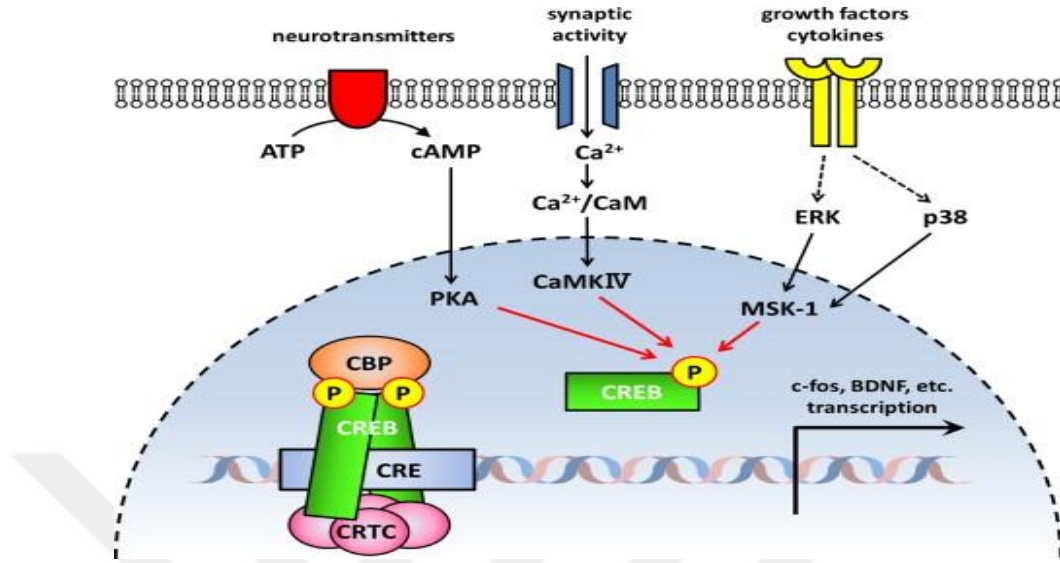


Şekil 5. CREB gen yapısı (70).

CREB, cAMP ve Ca<sup>2+</sup> sinyal transdüksiyon yollarının bir alt transkripsiyon faktörü olarak bilinmektedir. CREB tarafından transkripsiyonel aktivasyon, protein kinaz A (PKA) veya Ca<sup>2+</sup> / kalmodulin-bağımlı kinaz IV (CaMKIV) tarafından fosforile olan serin 133'de (S133) CREB'in fosforilasyonuna bağlıdır (83). Bunun yanında yapılan birçok çalışma MAP kinaz (MAPK) dahil olmak üzere çeşitli sinyal iletim yollarının, CREB'nin S133-fosforilasyonunu kontrol ettiğini göstermiştir. CREB tarafından transkripsiyonel aktivasyon S133 fosforilasyonu ile kontrol edilir. CREB'nin sadece S133-fosforile edilmiş formu, CREB-aracılı transkripsiyonun aktivasyonuna yol açan, CREB-bağlayıcı protein (CBP) ile etkileşir. Ek olarak, yeni çalışmalar CREB-regüle edilmiş transkripsiyon kofaktörlerinin (CRTC 1-3) CREB'nin CRE'ye bağlanmasına yardımcı olarak CREB tarafından transkripsiyonel aktivasyonda modülatör roller oynayan başka bir CREB ko-aktivatör tipi olarak tanımlandığını göstermiştir. CBP ve CRTC'lerin aktivasyonu ve hücre içi lokalizasyonu, sırasıyla CaMKIV, PKA ve kalsinörin de dahil olmak üzere sinyal transdüksiyon yolları ile düzenlenir (70) (Şekil 6).

Çalışmalar glukoz hemeostazisindeki değişikliklerin CREB ekspresyonlarını değiştirdiğini göstermiştir. T2DM oluşturulan ratlarda hipokampus ve frontal korteks bölgelerinde CREB ekspresyonlarının azaldığını Datusalia ve ark. bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada hipergliseminin serebellum bölgesinde CREB ekspresyonlarını etkilediği bildirilmiştir (18, 19).



Şekil 6. CREB aracılı transkripsiyonun aktivasyon mekanizması (70).

## 2.8. Diabetik Hayvan Modelleri

DeneySEL hayvan modelleri çeşitli hastalıkların tanısının konulabilmesi ve patogenezinin, hastalıktan korunma yolları ve tedavi şekillerinin de incelenebilmesi için günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu modeller kullanıcıya bazı avantajlar sağlamaktadır; örneğin elde edilen sonuçlar patogeneze ışık tutarken, patolojiyle uyumlu türlerin seçilebilmesi önemlidir. İstatistiksel değerlendirmede anlamlı sonuçlara ulaşmayı sağlayacak sayıda örnekle çalışılabilme olanağı sağlar. Araştırmaya uygun bir hayvan modeli seçildiğinde çalışmanın çok daha kısa sürede tamamlanabilmesi sağlanır. Ayrıca risk faktörleri ayırt edilerek çalışmalar planlanabilmektedir. Daha önceden denenmemiş çeşitli yaklaşımların denenmesine olanak sağlamaktadır. Unutulmamalıdır ki kullanılan değişik dENEYSel modellerin çeşitli avantajları ve dezavantajları var olmasının yanında insan diyabeti tamamen taklit edilememektedir (84, 85).

### **2.8.1. Deneysel T1DM modellerinin sınıflandırılması (86).**

1. Kimyasal olarak oluşturulan T1DM modelleri: STZ, alloksan, çinko şelatörleri (dithizone, 8-hidroksikinolin), Rodentisid-Vacor, diyet nitrozaminleri vb.
2. Spontan T1DM modelleri: BB (Bio-Breeding) sıçan, NOD (non-obese diabetic) fare ve diğerleri (Macaca nigra maymunu, Keeshand köpeği, Çin hamsteri, kobay, Yeni Zelanda beyaz tavşanı, KDP (Komedo Diabetes Prone) sıçan)
3. Virüsle oluşturulan modeller
4. Transgenik T1DM modelleri

### **2.8.2. Deneysel T2DM modellerinin sınıflandırılması (87).**

1. Spontan modeller: Yüksek düzey hiperglisemili modeller (db/db fare, Rhesus maymunu, çöl kemirgenleri) ve hafif hiperglisemili modeller (ob/ob fare)
2. Eksperimental modeller: Kimyasal modeller (STZ, alloksan), cerrahi modeller (pankreatektomi, hipotalamik lezyon), diyet (yüksek yağlı ve şekerli diyetle beslenme), hormonlar, intrauterin malnutrisyon, insülin engelleyici hormonların yüksek dozları, yüksek kan glukozuna uzun süreli maruziyet ve benzerleri
3. Transgenik modeller

### **2.8.3. BGT modelleri (87).**

1. Şişman Zucker fa/fa sıçan
2. BHE sıçan

## **2.9. Deneysel Diabet Modellerinde Cerrahi Yöntemler**

### **2.9.1. Pankreatektomi**

Pankreasın tam veya kısmen çıkarılması işlemidir. T1DM benzeri model oluşturmak için tam pankreatektomi işlemi; T2DM benzeri model ise kısmi pankreatektomide beta hücrelerinin %60 oranında çıkarılması ile meydana gelmektedir (88).

Pankreasın %90' nın çıkarılması ile orta derecede stabil bir glisemi artışı oluşturulabilir. Hayvanın öldürücü insülinopeniden korunması gerekliliği nedeniyle teknik olarak zordur (84).

### **2.9.2. Hipotalamik lezyonlar**

Hipotalamusta elektrolitik olarak lezyon oluşturulması; hiperfaji, hiperinsülinemi ve obeziteye sebep olur (84, 85).

### **2.10. Kimyasal Ajan Aracılı Deneysel Diabet**

Deneysel olarak diabet oluşturmada en sık kullanılan ajanlar STZ ile alloksandır. Bunların i.p., subkutan (sc), intravenöz (iv) veya parenteral uygulanmasıyla pankreasın langerhans adacıklarında  $\beta$  hücresi tahribatı sonucu hipoinsülinemik ve hiperglisemik duruma sebep olurlar (89).

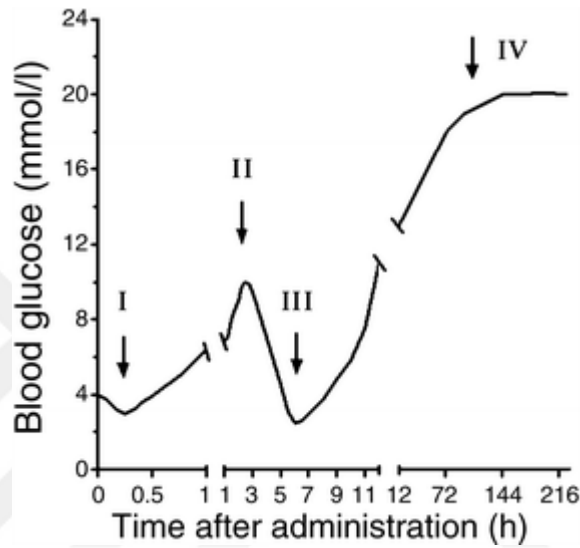
Alloksan az yüksek dozlarda bile hastalığa sebep olabilmektedir. Çünkü alloksan böbrek epitelinde toksik etkiye bağlı böbrek harabiyeti oluşturmaktadır. Sıçanlarda iv dozu 65 mg/kg olan alloksan, ip veya sc yollarla uygulandığında etkin dozu daha yüksek tutulmalıdır. Iv olarak 100-200 mg/kg alloksan fare dozudur (86, 90, 91).

STZ ile sıçanlarda diyabet oluşturabilmek için sıklıkla kullanılan doz ip yolla 60-80 mg/kg'dır. Yüksek dozlar da tercih edilebilir. Fare dozu 150 mg/kg'dır. Dişi fareler STZ'ye daha az duyarlıdır. 40 mg/kg altındaki dozlar sıçanlarda diyabet oluşturmak için yetersizdir. STZ uygulaması, pH 4.5, 0.1 mol sitrat tampon solüsyonunda çözülerek yapılmaktadır. STZ uygulamasını takiben iki gün sonra kuyruk veninden alınan kanda glukoz seviyesi ölçümü 200-300 mg/dL'den büyükse hayvanlar diyabetik kabul edilir. Erişkin sıçanlara düşük dozda STZ çoklu tipte (40 mg/kg, 5 gün) uygulanırsa inflamasyonla otoimmün T1DM modeli oluşturulabilir. Tek doz 60-100 mg/kg STZ uygulanan diyabet tipinde otoimmün tablo oluşturmaz. Bu model insülininden bağımsız DM tipidir. STZ sadece adacık hasarı yapmaz. Aynı zamanda böbrek ve endotel hücrelerde hasar da oluşturur (86, 91, 92).



### 2.10.1. Diabetik modellerde STZ

Çeşitli hayvan modelleri geliştirilerek DM ya da antidiyabetik ajanlar test edilmektedir (93). Alloxan ve STZ sitotoksik glukoz analoglarıdır.  $\beta$  hüresine olan toksik etkileri aynı olmakla birlikte sitotoksiteleri farklı yollarla elde edilmektedir. Alloxan ve STZ, GLUT2 glukoz taşıyıcı aracılığıyla pankreatik  $\beta$  hücrelerinde birikerek toksik etkilerini ortaya çıkarırlar (91).



Şekil 7. STZ ve alloxan uygulanması sonrasında elde edilen fazik kan glukoz yanıtı (91)

Şekil 8’de sırasıyla alloxan ve STZ uygulanması sonrasında elde edilen fazik kan glukoz yanıtı gösterilmektedir. Alloxan tetrafazik (I-IV) yanıt gösterirken, STZ uygulaması sonrası ilk faz gözlenmediğinden trifazik (II-IV) yanıt gözlenmektedir (91).

“Başlangıç Hipoglisemi” fazı olarak adlandırılan ve alloxan enjeksiyonundan 30 dk. sonra başlayan faz FAZ 1’dir. STZ uygulamasını takiben bu faz görülmez çünkü STZ glukokinazı inhibe etmez ve ayrıca bu fazın ATP elde etmek için gerekli glukoz fosforilasyonun blokajı, glukokinaz baskılanmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. “Geçici Hiperglisemik Faz” olarak bilinen FAZ 2, STZ ve alloxan enjeksiyonunu takiben yaklaşık bir saat sonra ortaya çıkmakta ve kan glukoz seviyesinin artışıyla 2-4 saat sürmesi beklenmektedir. “İkinci Hipoglisemi” fazı enjeksiyonu takiben 4-8 saat sonra görülen FAZ-3’dür.  $\beta$  hücre harabiyetiyle aşırı insülin miktarının kanda birikimine bağlı olarak ilk 24 saatteki ölümlerden sorumlu olduğu düşünülen fazdır. Toksin enjeksiyonundan 12-48 saat sonra

oluşacağı düşünölen ve kalıcı diyabetik hipergliseminin meydana geldiği faz FAZ 4'tür. Hiperglisemi tablosu  $\beta$  hücre kaybının ardından artan insülinin kandan temizlenmesi ile oluşur. Deneklerde diyabet belirtilerinin oluşması ve bu fazın devamlılığını sağlamak amacıyla, diyabetojenik ajanları uygulanmaktadır (91, 92) (Şekil 7).

STZ şu anda hayvanlarda insülin ve yeni antidiyabetik ilaçların test edilmesinde en çok kullanılan diabetojenik ajandır (93). Esasen antimikrobiyal bir ajan olan STZ aynı zamanda kemoterapötik alkilleyici ajan olarak da kullanılmıştır. STZ'nin diyabetojenik etkili olduğunu 1963 yılında, Rakieta ve ark. bildirmişlerdir (91, 94). STZ, "Streptomyces achromogenes" isimli gram pozitif bir bakteriden elde edilmektedir ve pankreatik  $\beta$  hücresi karsinomalarının tedavisinde kullanılmaktadır. Günümüzde piyasada çeşitli eşdeğerleriyle yaygın şekilde kullanılmaktadır. STZ molekülü nitrik oksit (NO) donorü gibi davranabilmektedir çünkü nitrozamin grubu içeren bir aminoglikozittir. İnsan vücudundaki patolojik ve fizyolojik birçok süreçte NO önemli haberci bir molekül olarak rol oynamaktadır. Genellikle, kemirgen modellerde  $\beta$  hücrelerindeki O-N-asetilglukozamin (O-GlcNAc)ı inhibe ederek STZ etki gösterir (95).

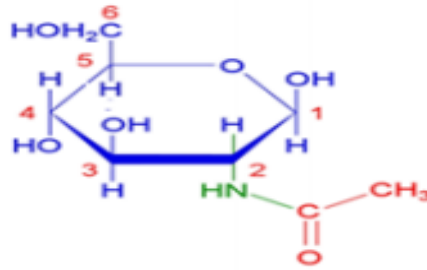
#### 2.10.1.1. STZ'nin yapısı

2-deoksi-2-[3-metil-3-nitrozoure] 1-D-glukopiranoz, STZ'ye ait kimyasal formüldür ve iki anomerik formü  $\alpha$  ve  $\beta$  olarak bilinmektedir. Anomerik şekiller kromatografi (HPLC, High Pressure Liquid Chromotography) tekniğiyle ayırt edilir. Formülü  $C_8H_{15}N_3O_7$  olan STZ'nin molekül ağırlığı 265 g/moldür ve 2-deoksi-D-glukoza STZ'nin moleküler yapısı benzerlik göstermektedir. N-metil-N-nitrozoure grubunun bu madde içindeki C2 bölgesi yerine gelmesi ile STZ oluşur. STZ'ye sitotoksik özelliği N-metil-N-nitrozoure grubu kazandırır. Uçlarına metil grubu glukoz molekülü bağlanmış glukozamin nitrozoure bileşeni olduğu bilinmektedir (95) (Şekil 8).

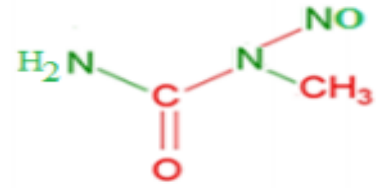
**a. ANOMERIC FORMS OF STREPTOZOTOCIN**



**b. N-ACETYL GLUCOSAMINE**



**c. METHYLNITROSOUREA**



**Şekil 8.** STZ'nin Kimyasal Yapısı. a) STZ'nin  $\alpha$  ve  $\beta$  Anomerik Formları b) STZ'nin Yapısal Analoğu- N-asetil Glukozamin c) STZ'nin Sitotoksik Kısmı N-metil-N- Nitrozoüre (95).

## 2.11. Diabetik Komplikasyon Patofizyolojisi

DM'de uzun süreli hiperglisemi maruziyetine bağlı olarak akut ve kronik komplikasyonlar gelişebilmektedir. Özellikle mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarda oksidatif stres önemli rol oynar. Diabetik komplikasyonların altında yatan patofizyolojik mekanizma, ROS üretiminin artışıyla açıklanır. Bu durum komplikasyonların patogeneğinde rol oynayan dört ana yolun aktivasyonuna neden olmaktadır; polyol yolağı aktivite artışı, glikasyon son ürünleri (AGE ) artışı, protein kinaz C (PKC) aktivasyon artışı, heksosamin yolağının aşırı aktivitesidir. Ayrıca, DM'de oksidatif stres iki kritik anti-aterosklerotik enzim olan endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve prostasiklin sentazı etkisiz hale getirir (9, 10).

### 2.11.1. Polyol yolağı aktivite artışı

Polyol yolu, glukozun sorbitol'e indirgendiğı, daha sonra fruktoza dönüştürülen iki aşamalı bir metabolik yoldur. Hücre içi glikoz seviyeleri yükseldiğinde polyol yolu aktif hale gelir. Aldoz redüktaz (AR), polyol yolağındaki ilk ve hız sınırlayıcı enzimdir ve sinir, retina, lens, glomerulus ve vasküler hücreler gibi dokularda bulunur. AR, bir kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotide fosfat (NADPH) kullanarak glukozu sorbitol'e indirger, sorbitol daha sonra kofaktör olarak nikotin adenin dinükleotid (NAD<sup>+</sup>) kullanan sorbitol dehidrogenaz (SDH) enzimi tarafından fruktoza metabolize edilir (10, 96).

AR ve SDH, glikozu fruktoza dönüştürmek için NADPH ve NAD<sup>+</sup> gerektirir. Hiperglisemik koşullar altında, polyol yolu aktivitesi artar, bunu bir hücre içi antioksidan olan GSH ve NADPH seviyelerinde bir azalma izler. Polyol yolunun aşırı aktivasyonu, hücrelerde oksidatif stresi indükleyen ROS birikimine yol açar. Fizyolojik koşullar altında, heksokinaz, fruktoz-6-fosfata fosforilasyon yapan fruktoz ile glikolitik yolağı geri döner. Bununla birlikte, yüksek serum glukoz seviyeleri, glikojenez ve glikoliz yolu arasında bir dengesizliğe yol açmakta ve sorbitol birikimini desteklemektedir (11).

### 2.11.2. AGE artışı

AGE'ler endojen veya eksojen olarak üretilmiş glikozlanmış proteinler ve lipoproteinlerin heterojen bir sınıfıdır. Endojen AGE üretimi, indirgeyici şekerlerin reaktif karbonil bileşiklerinin gelişmesine ve ardından proteinlerin, lipitlerin ve nükleik asitlerin daha sonra glikoksidasyonuna yol açan bir dizi enzimatik olmayan reaksiyona maruz kaldığı karmaşık Maillard reaksiyonu ile gerçekleşir. Glikoliz sırasındaki glikozun metabolizması, bazı AGE'lerin üretiminde bir karbonil ara maddesi olan metilglikoksal üretimine yol açar. Oksidatif stres koşulları altında, indirgen şekerler, amino asitler ve lipitler, ilave reaktif karbonil bileşikleri oluşturmak ve dokuda birikmesine yol açan AGE'lerin üretimini arttırmak için otomatik olarak oksidasyona maruz kalır. AGE birikiminin hızı yaş, hiperglisemi, oksidatif stres ve inflamasyon varlığında belirgin şekilde artar. Lisin ve arginin içeriğine sahip önemli uzun ömürlü proteinler (örneğin, kollajen ve elastin), glikasyona karşı özellikle hassastır. AGE'ler hemen hemen tüm vücut proteinlerinde

oluşabilir ve cilt, lens ve glomerüler bazal membran gibi dokularda daha yüksek seviyelerde birikebilir (97).

AGE'ler sıklıkla, glukoz türevli dikarbonil öncüllerinden üretilmelerinin bir sonucu olarak hücre içi birikirler. Bu hücre içi AGE'lerin, hücre içi proteinlerin işlevini değiştirmenin yanı sıra hücre içi sinyal yollarını aktive etmek için uyarıcı olarak önemli rol oynaması muhtemeldir (98).

AGE'ler reseptörlerine bağlanarak aşırı serbest radikal oluşumuyla karakterize hücre içi sinyal iletim ve gen ekspresyon bozuklukları ve enflamatuvar yanıtları başlatırlar. AGEler'in reseptörleri (RAGE) vasküler endotel hücreler ile düz kas hücreleri de dahil birçok hücre membranında bulunur. Uyarılan reseptörlerle hücrede NADH/NADPH oksidaz sisteminin aktivasyonu serbest radikal üretimini tetikler ve makrofaj doku faktörleri, adezyon molekül ekspresyonu artışları, endotel hücrelerde aktivasyonlar gerçekleşir ve böylece RAGE aracılığı ile enflamatuvar yanıtlar başlatırlar. AGE-RAGE etkileşimi reseptör ekspresyonunda artışa sebep olarak hücrel aktivasyonda pozitif feedback ile daha fazla artar. Endotel ve düz kas hücreleri, mononükleer fagositler ile nöronlar gibi hücrelerde sürekli olarak RAGE ekspresyonu kronik şekilde hücre aktivasyonuna ve hasarlanmaya neden olan sonuç oluşturur. Buna göre, sürekli RAGE uyarılmasının kronik hastalıkların ortaya çıkışında önemli rollere sahip olduğu düşünülmektedir (12).

### **2.11.3. PKC aktivasyon artışı**

PKC, memeli dokularında yaygın şekilde dağılmış en az 11 izoformlu ailedir. Enzim, çeşitli hedef proteinleri fosforile eder. Klasik izoformların aktivitesi hem  $Ca^{2+}$  iyonlarına hem de fosfatidilserin'e bağlıdır ve diaçilgliserol (DAG) tarafından büyük ölçüde arttırılır (10).

PKC yolunun aktivasyonunun, endotel geçirgenliğini arttırarak, NO biyoyararlanımını değiştirerek, prostaglandin üretimini azaltarak, vasküler endotelial growth faktör (VEGF) ekspresyonunu indükleyerek ve tromboksan ve endotelin-1 (ET-1) üretimini indükleyerek endotel hücrelerinin zarar görmesine neden olabileceği düşünülmektedir (11).

Hiperglisemik durum, ROS birikimini ve DAG sentezini indükleyerek PKC yolu aktivasyonuna yol açar. Hiperglisemi, PKC izoformlarını AGE yolu ve polioll yolu üzerinden ROS'u arttırarak dolaylı olarak aktive eder. DAG-PKC sinyal yolu,

vasküler hücrelerde geçirgenlik, kontraktilite, hücre dışı matriks (ECM), hücre büyümesi, anjiyogenez, sitokin eylemleri ve lökosit adezyonlarının, diyabette değiştirildiği görülen süreçlerin düzenlenmesi ile rol oynar. PKC yolu aktivasyonu, eNOS ekspresyonu yoluyla NO üretimini değiştirir, vasküler tonu ve geçirgenliği doğrudan etkiler ve sonuçta endotel disfonksiyonunu destekler (97).

#### **2.11.4. Heksosamin yolağının aşırı aktivitesi**

Hiperglisemi ve insülin direncine bağlı aşırı yağ asidi oksidasyonunun, fruktoz 6-fosfatın heksosamin yolağına akışını artırarak diyabetik komplikasyonların patogeneze katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Heksosamin yolağında, glukoz fosforile edilir ve fruktoz-6-fosfata dönüştürülür. Glutamin, fruktoz-6-fosfata bir amino grubu sağlar; bu, fruktoz-6-fosfat amidotransferaz (GFAT) ile glukozamin 6-fosfat oluşumuna yol açar (10).

GFAT, fruktoz 6-fosfatı, glukozamin 6-fosfata dönüştürür; bu daha sonra proteoglikanlar, glikolipitler ve glikoproteinler oluşturabilen, hücre içi transkripsiyon faktörlerin modifikasyonu için bir substrat olan difosfat ürasil-N-asetilglukosamin (UDP-GlcNAc) oluşumuna yol açmaktadır. Hipergliseminin neden olduğu heksosamin yolu aktivite artışı, transkripsiyon faktörü olan Sp1 etkisiyle dönüştürücü büyüme faktörü a (TGF-a), dönüştürücü büyüme faktörü beta 1 (TGF- $\beta$ 1) ve plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) gibi genlerin transkripsiyonunda artışlara sebep olmaktadır (10).

Heksosamin yolunun, hiperglisemide ROS'un toksik etkilerine aracılık ettiği bildirilmiştir. Hiperglisemi varlığında, glikolitik ürünlerin heksosamin yoluna akmasına neden olan ve gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) aktivitesini inhibe eden, büyük miktarda ROS üretilir. Hiperglisemi, aortik düz kas hücrelerinde GFAT aktivitesini de artırır; bu durum hücrelerde birçok proteinin O-GlcNAc modifikasyonunu artırır. GFAT'ın inhibisyonu, hem TGF-a hem de TGF- $\beta$  1'in transkripsiyonunda hipergliseminin neden olduğu artışları engeller (11, 99).

#### **2.11.5. Oksidatif Stres**

Oksidatif streste serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki denge serbest radikaller lehine bozulmakta olup, serbest radikallerin artışı lipid, protein ve nükleik

asitlerle etkileşime geçerek membran yapısının bozulmasına, proteinlerde yapı ve işlev değişikliklerine ve gen bozukluklarına neden olmaktadır. Zarar verici radikallerle savaşabilmek için organizmanın bazı antioksidan savunma sistemleri (enzimatik ve enzimatik olmayan) mevcuttur (100, 101).

#### 2.11.5.1. DM ve Oksidatif Stres

DM, glukoz seviyesinin yükselmesine bağlı olarak oksidatif stresin arttığı durumlardandır. Son yıllardaki çalışmalar oksidatif stres ile DM komplikasyonlarının ilişkili olduğunu kanıtlamaktadır. Hiperglisemiye bağlı ROS üretiminden sorumlu olarak polioll yolu, artmış heksozamin yolu aktivasyonu, glukozun oto-oksidasyonu, protein kinaz C aktivasyonu, ilerlemiş glikasyon sonucu üretilen AGE sayılmaktadır. Ayrıca oksidatif streste önemli bir diğer etken de süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) üretimine etkisi sebebiyle NADPH oksidaz enzimidir (100).

Biyolojik sistemler üzerinde elektron alıcı moleküller serbest radikaller olarak adlandırılırlar. Serbest radikallerin aktif oksijen türevlerine de oksidanlar denir. Bu oksidanlar hedefteki moleküller üzerinden elektron çekme yetenekleri sayesinde, molekül işlevi ve yapısını değiştirerek hücre zarını, DNA, RNA gibi yapıları ve farklı enzimatik süreçleri etkileyerek hücre hasara sebep olmaktadır. Bu oksidanlar canlı organizmalar üzerinde CAT, SOD ve GPx gibi antioksidan enzim sistemleri ile seruloplazmin, transferrin, indirgenmiş glutatyon (GSH), vitamin C ve alfa-tokoferol gibi antioksidanlar tarafından yıkıma uğrarlar (102, 103, 104).

Yapılan son çalışmalar, birçok hastalık patogenezinin altında yatan sebeplerin serbest oksijen radikal artışı ve lipid peroksidasyonlarında artış olduğunu göstermektedir. Oksidatif stres ile kardiyolojik ve nörolojik romatolojik hastalıklar, DM, astım, kanser ve yaşlanma gibi birçok hastalığın ilişkisi gösterilmiştir (103, 105, 106).

#### 2.11.6. Antioksidanlar

Antioksidanlar, koruyucu etkisini serbest radikalleri etkisiz hale getirerek gösterirler. Reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesini engellemek, ortaya çıkardıkları hasarları engellemek ve detoksifikasyonu oluşturmak üzere vücutta

görev üstlenen savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” denir (107).

İnsan vücudunun serbest radikaller tarafından oluşturulabilecek oksidatif stresi ortadan kaldırmak için en önemli silahı antioksidanlardır. Antioksidanlar serbest radikalleri temizleyebilen ve hücre hasarını engelleyebilen maddelerdir. İnsanda bulunan antioksidanlar ya vücut tarafından doğal olarak üretilirler ki bunlar endojen antioksidan olarak isimlendirilirler ya da dışarıdan ilave olarak alınır ve eksojen antioksidan olarak adlandırılırlar. Endojen ve eksojen antioksidanlar serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırmak suretiyle savunma sisteminin etkisini yükseltmek hastalık riskini de düşürürler (108, 109) (Şekil 9).

<b>Antioksidanlar</b>			
<b>Endojen</b>		<b>Eksojen</b>	
<b>Enzimatik Antioksidanlar</b>	<b>Enzimatik Olmayan Antioksidanlar</b>	<b>Vitamin Olan Eksojen Antioksidanlar</b>	<b>İlaç Etkili Kullanılan Eksojen Antioksidanlar</b>
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	$\alpha$ Tokoferol/Vitamin E	Ksantin oksidaz inhibe ediciler (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
Katalaz (CAT)	Melatonin	$\beta$ Karoten/Vitamin A	NADPH oksidaz inhibe ediciler (adenozin, lokal anestezikler, kal- siyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	Vitamin C	Rekombinant süperoksit dismutaz
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Folik asit/Vitamin B9	Trolox-C (vitamin E analogu)
	Albümin		Endojen antioksidan aktiviteyi yükseltenler (Ebselen ve asetilsistein)
	Koenzim Q 10		Ezimatik olmayan serbest radikal bağlayıcılar (mannitol ve albümin)
	Selenyum		Demir redoks döngüsü inhibe ediciler (desferroksamin)
	$\alpha$ -lipoik asit		Nötrofil adezyon inhibe ediciler
	Transferrin		Sitokinler (TNF ve IL-1)
	Seruloplazmin		Barbitürat
			Demir şelatörleri

**Şekil 9.** Antioksidanların Sınıflandırılması.



## 2.12. Beam walking test/Kiriş yürüme testi

SSS'de inme veya travmaya bağlı oluşan beyin hasarları, hareket, yürüyüş veya ince motor becerilerinde ciddi motor bozukluklarına neden olabilir. Tedavilerin geliştirilmesi ve iyileştirilmesi için klinik popülasyonla karşılaştırılabilir semptomlara sahip hayvan modelleri kullanılmaktadır. İnme veya travmaya bağlı oluşan beyin hasarları sonrası oluşan bozukluğu belirlemek için kemirgenlere uygulanan çeşitli motor testleri mevcuttur. Mevcut çalışmalar, motor testleri üç gruba ayırarak açıklamakta ve değerlendirmektedir: 1) İnce motor becerilerini ve kavrama gücünü değerlendirme testleri, 2) yürüyüş ve ekstremiteler arası koordinasyon testleri ve 3) nörolojik skorlamalar (110).

Yürüme, ilerleyebilmek için tüm ekstremitelerin koordineli hareketidir ve kemirgenlerde yürüme, rahatça gözlemlenebilen davranışlardandır. Kolayca gözlemlenebilmesi sayesinde ince motor becerilerinin aksine, çok özel testler gerektirmez. Yürüyüş ve ekstremiteler arası koordinasyon değerlendirmeleri yapmak için kolay uygulanabilir çeşitli yürüyüş testleri geliştirilmiştir (111).

'Kiriş yürüme testi' hayvanların dar çaplı ve yerden yüksek olan bir kirişi geçmeye çalışarak, dengeyi koruma yeteneğini zorlaştıran bir test ortamında kemirgen yürüyüşünü analiz etmek için kullanılır. Bu yürüme testi, kemirgenlerde hem travmaya bağlı oluşan beyin hasarları hem de felçten sonraki bozuklukları ölçmek için kullanılmıştır. Deneysel olarak inme oluşturulan yaşlı hayvanlar, benzer kontrol hayvanları ile karşılaştırıldığında, lezyonun tersine olan ekstremitede kirişten kayma sayısı artış göstermiştir (110).

'Yang Gao ve ark' yaptıkları bir çalışmada; motor koordinasyon ve dengeyi, kiriş yürüme testi kullanarak değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada yürüme aparatı, 120 cm uzunluğunda, 2 cm genişliğinde ve 50 cm yüksekliğinde ve 1,5 cm kalınlığında hazırlanıp, fareler, kirişin karşı ucunda karanlık bir hedef kutusuna girmek için dar tahta kirişin üzerinden geçerek azami 60 sn verilerek test edilmiştir. Fareler arka arkaya beş gün boyunca üç deneme / gün teste tabi tutulmuştur. Her gün için performans üç denemenin ortalama gecikme süresi olarak belirlenmiştir (112).

Kiriş yürüme testi hayvan deneylerine etik açıdan uygunluğu, kolay uygulanabilir ve gözlemlenebilir bir test olması ve özellikle beyin bölgelerinin etkilendiği birçok kronik hastalıkta komplikasyonları açıklamakta yardımcı bir test olması yönünden tercih edilmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim dalında 2017-2018 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Çalışma öncesinde Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 2017-17-07/09 tarihli oturumunda onay alınmıştır (Ek-1). Çalışmamız Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2017-26259946-02 nolu proje olarak desteklenmiştir.

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen ağırlıkları 300-350 gr. arasında değişen 24 adet yetişkin erkek Wistar-Albino cinsi sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar, deney öncesi tel kafeslerde, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık sirkadyen ritimde ve sıcaklığı 20-25°C olacak şekilde %50-60 nem ortamında odada tutuldular. Sıçanlar, standart sıçan yemiyle serbest olarak beslendi ve suluktan serbestçe su içmeleri sağlandı. Tüm sıçanların bakımları, Tıbbi Araştırmalar Ulusal Derneği tarafından biçimlendirilen 'Deney Hayvanlarının Bakım Prensipleri' ne ve Laboratuvar Hayvanı Kaynakları Enstitüsü tarafından düzenlenen 'Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı için Kılavuzu'na uygun olarak yapılmıştır.

#### 3.2. Deney Grupları ve Diabet Oluşturma

Deney hayvanları; Grup I; kontrol grubu ve Grup II; diabet grubu olmak üzere rastgele ve eşit olacak şekilde (n=12) 2 gruba ayrıldı.

Deneyssel diyabet oluşturmak için diabetik grup için ayrılan 12 sıçana 0.1 M sitrat tamponu (Ph 4.5) içinde çözdürülerek hazırlanmış olan STZ (SIGMA-ALDRICH, Co, St. Louis, MO, USA) 60mg/kg olacak şekilde her bir sıçana tek doz i.p olarak uygulandı. STZ'nin olası yan etkisi olan hipoglisemiye engel olmak için enjeksiyondan sonraki ilk 48 saatte sıçanların içme suyuna %5 oranında glukoz eklendi. Enjeksiyon uygulamasını takip eden 72. Saatten sonra bakılan kan şekeri düzeyi 250mg/dl'nin üzerinde olan hayvanlar diyabet olarak kabul edildi (4, 5, 25, 42).

STZ uygulanan deneklerden 8 tanesinde DM oluşturulmuş ancak 4 tanesinde oluşturulamamıştır.

Grup I (kontrol grubu) : Enjeksiyon uygulanmamış olan 12 adet denekten oluşmaktadır.

Grup II (diabet grubu) : STZ enjeksiyonu sonrası diabet kabul edilen 8 adet denekten oluşmaktadır.

### **3.3. Kan Şekeri ve Vücut Ağırlıkları Takibi**

Deney hayvanları 1 ay süresince yaşatılmıştır. Deney süresi boyunca hem diabet hem de kontrol grubundaki hayvanların haftalık kan glukoz düzeyleri ile vücut ağırlıkları ölçülmüştür. Kan şekeri takipleri kuyruk venlerinden alınan kan örnekleri ile glukometre (VivaChek Eco) kullanılarak yapılmıştır.

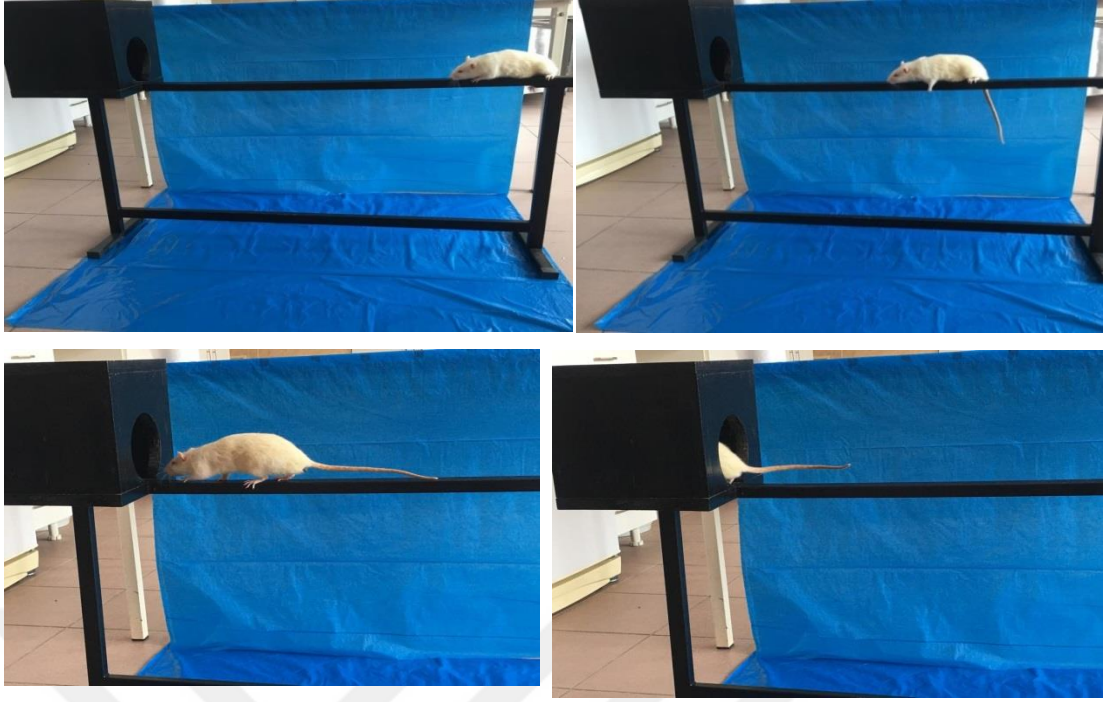
### **3.4. Davranış Testi**

Davranış testi uygun ısı, aydınlatma ve ses kontrolünün sağlandığı laboratuvar ortamında yapılmıştır.

#### **3.4.1. Beam walking test/Kiriş yürüme testi**

Hayvanlarda motor koordinasyonu değerlendirmek için giriş yürüme testi (Beam Walking test) uygulanmıştır.

Yerden 50 cm yükseklikte, 100 cm uzunluğunda ve 2.5 cm enindeki yürüme aparatında test uygulanmıştır. Hayvanların, girişin karşı ucundaki karanlık hedef kutusuna girme sürecinde test edildi. Test 3 gün boyunca 24 saat aralıklarla uygulandı. Test sürecinde kamera kaydı kullanılarak hayvanların giriş üstünde platformu tamamlama süresi değerlendirildi (Resim 1).



**Resim 1:** Beam Walking Test/Kiriş Yürüme Testi

### **3.5. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması**

Bütün hayvanların davranış testi tamamlandıktan 24 saat sonra denekler yüksek doz anestezi (sodyum tiyopental) verilerek feda edildi. Feda edilmeden önce hayvanlardan intrakardiyak 5 ml. kan alındı. Kanlar 4000 devirde 5 dk santrifüj edildi ve plazmaları ayrıldı. Plazmalar endorf tüplere konarak, -80 °C de saklandı.

Serebellum dokuları buz üstünde hızlıca çıkarıldı. Dokular iki eşit parçaya ayrıldı ve çalışma zamanına kadar -80 °C de derin dondurucuda saklandı.

### **3.6. Değerlendirilen Parametreler**

#### **3.6.1. Fosfat tampon solüsyonu hazırlanma süreci**

0,8g NaCl (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany), 0,02g KCl (Sigma Chemical Co.,St. Louis, MO, US), 0,144g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) ve 0,024g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) balon jöjeye alındı ve hacmi 100ml'ye tamamlanarak çözünmesi sağlandı. 1N HCl eklenerek pH'sı 7.2-7.4'e sabitlendi.

### **3.6.2. Doku homejanatlarının hazırlanma süreci**

Deney günü -80 °C saklanan doku örnekleri dondurucudan çıkarıldıktan sonra buz üstünde çözünmesi sağlanarak mekanik homojenizatörde PBS kullanılarak homojenize edildi. Homojenatlar 2-8°C'de 3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar analizlerde kullanıldı.

### **3.6.3. Serebellar CREB ve BDNF ölçümü**

CREB VE BDNF düzeyleri hazırlanan supernatantlarda enzyime-linked immün sorbent assay (ELISA) yöntemi ile Rat (CREB) ELISA 201-11-0040 ve Rat (BDNF) ELISA 201-11-0477 katalog nolu ticari kitleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.6.4. Oksidatif stres düzeylerinin belirlenmesi**

#### **3.6.4.1. MDA tayini**

MDA seviyesi, lipid peroksidasyon göstergesidir ve Casini ve arkadaşlarının yöntemi ile çalışılmıştır. Serebellum örnekleri -80 derecede saklanmış olup buz içinde çözünmesi beklendi ve dokular tartıldı. Tartılmış olan dokunun 1 gramına 9 ml olacak şekilde soğuk %10'luk triklorasetik asit (TCA, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) eklendi ve mekanik homojenizatörde homojenizasyon yapıldı. 18-20 °C'de 3000g'de 15 dakika homojenat santrifüj edildi. Oluşturulan 1,5 ml süpernatant mikrosantrifüj tüplerinde 18-20 °C de 3000g'de 8 dakika santrifüj edildi. 750 µl süpernatant üzerine %1'lik butilhidroksi toluenden (BHT, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 10 µl eklendi. 750 µl %0,67'lik tiyobarbitürik asit (TBA, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) eklendi ve 15 dakika kaynatma işlemi yapıldı. Oluşturulan örnekler spektrofotometrik olarak 535 nm' de okundu (113).

#### **3.6.4.2. GSH tayini**

GSH seviyesi Aykac ve arkadaşlarının metodu kullanılarak çalışıldı. GSH major endojen bir antioksidandır. MDA tayini için elde edilen süpernatantlar

kullanıldı. Mikrosantrifüj tüplerinde 1.5 ml süpernatant 18-20 °C'de 3000g'de 8 dakika santrifüj edildi. Oluşan 250 µl örnek süpernatana 1 ml 0,3M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) eklendi. 125 µl ditiobisnitrobenzoat (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) eklendi. Vorteksleme sonrası örnekler 412 nm'de spektrofotometrede okundu (114).

### **3.7. İstatistiksel Analiz**

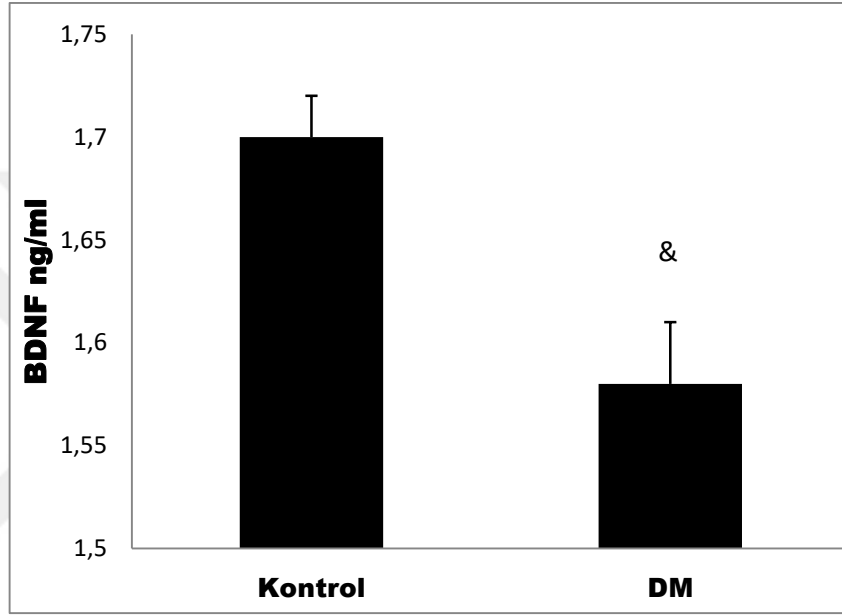
Verilerin değerlendirilmesi SPSS 22 istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  standart error of the mean (SEM) olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki fark Mann Whitney-U testi ile belirlendi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. BDNF Sonuçları

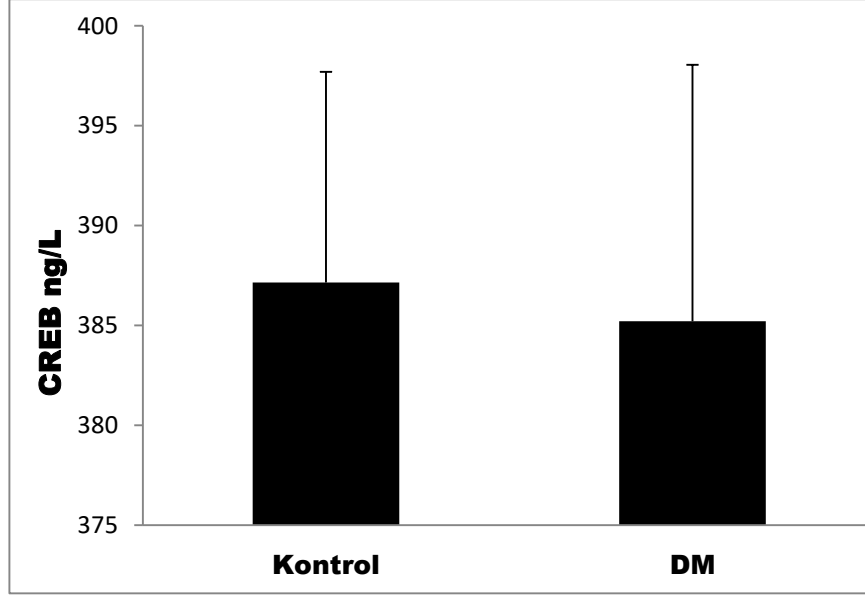
Serebellum BDNF düzeyi Grafik 1 ve Tablo 1’de verilmiştir. BDNF düzeyi diabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ), (Tablo 1), (Grafik 1).



**Grafik 1.** Serebellum BDNF düzeyleri, & kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.

### 4.2. CREB sonuçları

Serebellum CREB düzeyi Grafik 2 ve Tablo 1 de verilmiştir. Kontrol ve diabet grupları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0.05$ ), (Grafik 2), (Tablo 1).

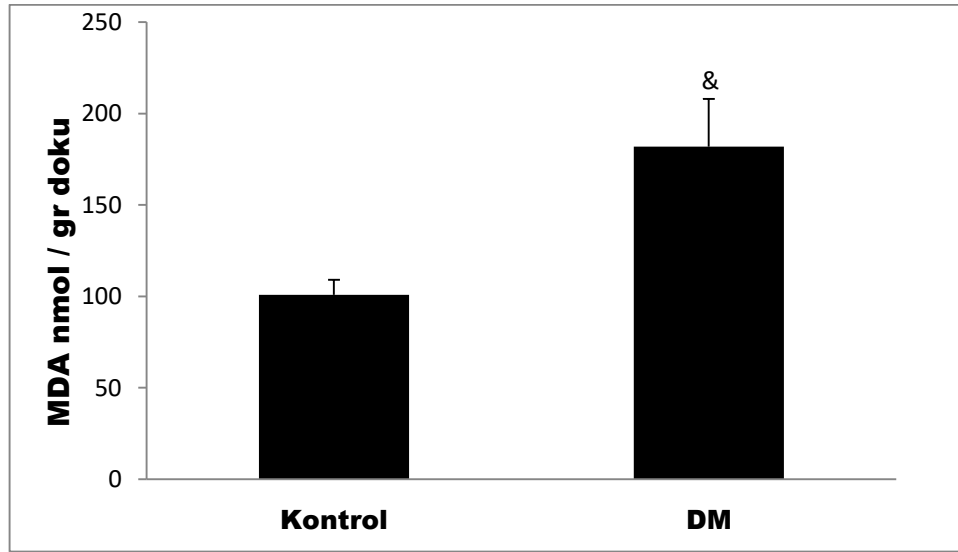


**Grafik 2.** Serebellum CREB düzeyleri.

### 4.3. Biyokimyasal Parametreler

#### 4.3.1. MDA sonuçları

Serebellum MDA düzeyleri Grafik 3 ve Tablo 1 'de verilmiştir. Diyabet grubunda kontrol grubuna göre MDA yüksek saptanmıştır ( $p < 0.05$ ), (Grafik 3), (Tablo 1).

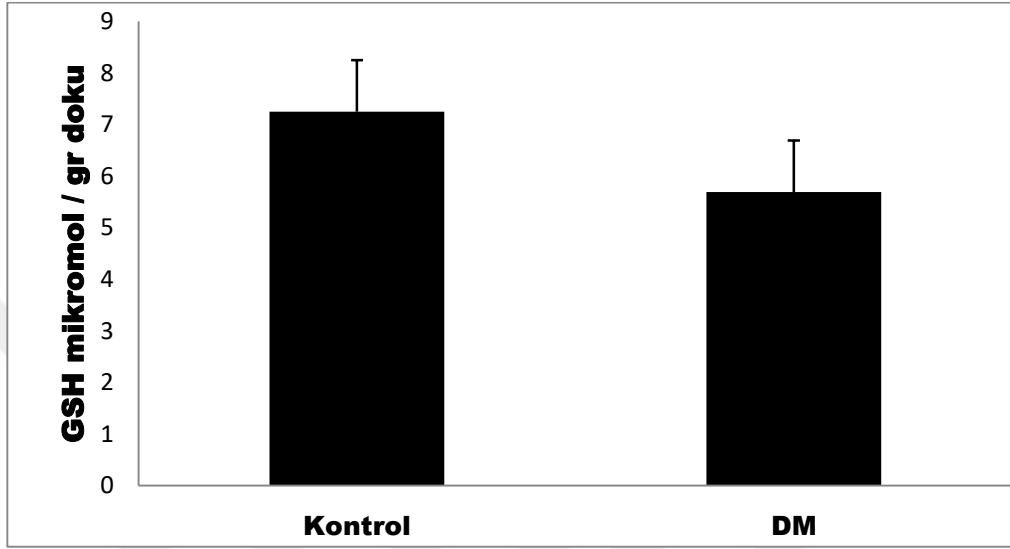


**Grafik 3.** Serebellum MDA düzeyleri, & kontrol grubuna göre farklılığı göstermektedir.



### 4.3.2. GSH düzeyleri

Serebellum GSH düzeyleri Grafik 4 ve Tablo 1’de verilmiştir. GSH düzeyleri diyabet grubunda düşük bulunmasına rağmen iki grup arasında anlamlı farklılık yoktur ( $p>0.05$ ), (Grafik 4), (Tablo 1).

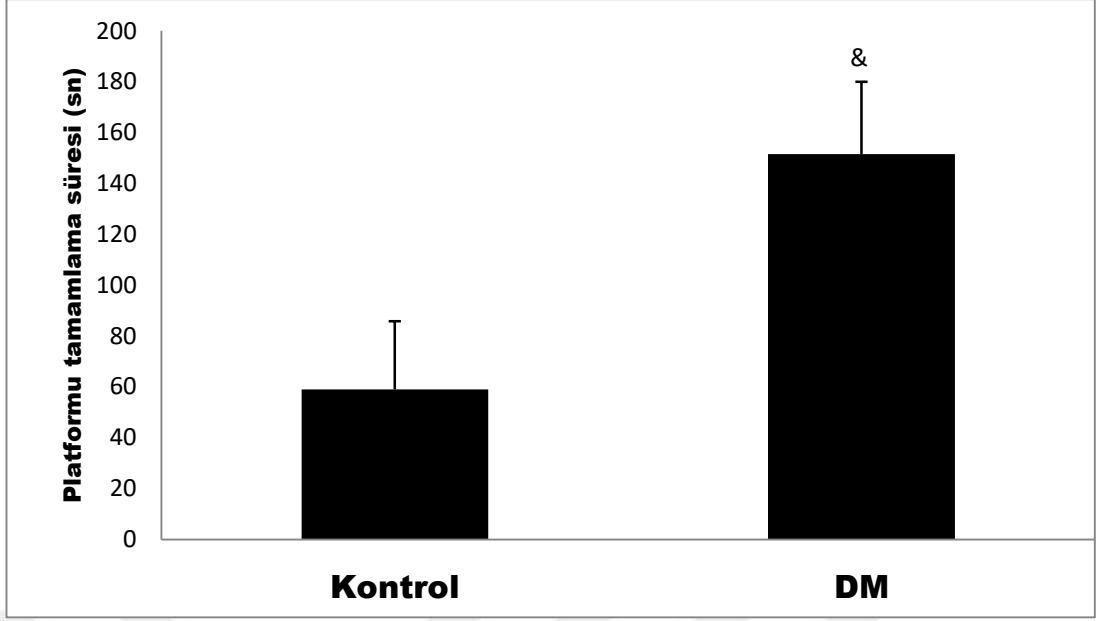


**Grafik 4.** Serebellum GSH düzeyleri.

### 4.4. Davranış Testi Sonuçları

#### 4.4.1. Beam walking test/Kiriş yürüme testi sonuçları

Kiriş yürüme testinde platformu tamamlama süresi Grafik 5 ve Tablo 1’de verilmiştir. Platformu tamamlama süresi diyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ), (Grafik 5), (Tablo 1).



**Grafik 5.** Beam walking test/Kiriş yürüme testi, & kontrol grubuna göre farklılığı göstermektedir.

**Tablo 1.** Grupların BDNF, CREB, MDA, GSH ve platformu tamamlama değerleri.

	Kontrol	Diabet
<b>BDNF</b>	1.70±0.02	0.58*±0.03
<b>CREB</b>	387.16±10.54	385.21±12.84
<b>MDA</b>	100.87±8.30	181.99*±26.00
<b>GSH</b>	7.25±0.52	5.69±0.46
<b>Platformu tamamlama süresi (sn)</b>	59±26.85	151.60*±28.40

\* kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.

## 5. TARTIŞMA

DM, hiperglisemi ile karakterize kronik endokrin bir hastalıktır. Vücutta beyinde dahil olmak üzere bir çok sistem diyabetten olumsuz yönde etkilenir. Beyindeki diyabet komplikasyonları kan-beyin bariyerinin ve bilişsel azalmanın bozulması ile beyin atrofisini içermektedir. Farklı beyin bölgelerinin diyabette gözlenen hiperglisemiye farklı yanıtlar verebileceği bildirilmiştir (115). Bu yüzden çalışmamızda diyabetin beyinde etkilediği bölgeler arasında en az çalışılan alanlardan biri olan serebelluma olan etkilerini inceledik.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar diyabetin serebellumda oksidatif strese neden olduğunu ve ortaya çıkan oksidatif stres artışının motor fonksiyonları olumsuz etkilediğini göstermiştir. Ayrıca bir antioksidan molekül olan glutasyon düzeyleri diyabetle azalmasına rağmen bu azalma anlamlı bulunamamıştır. Serebellumda diyabet BDNF düzeyini ciddi bir şekilde azaltırken, CREB düzeyi ise diyabet ile değişiklik göstermemiştir.

Serebellum, motor öğrenmenin yanı sıra kas tonusu, koordinasyon ve ince hareketler üzerinde önemli bir rol oynar. Serebellar hasar, ince hareket, denge, duruş ve motor öğrenmede bozulmaya neden olabilir (116). STZ ile diyabet oluşturulmuş rat serebellumlarında histolojik ve immünohistokimyasal olarak hücre ölümü ve hücre kaybının olduğu gösterilmiştir (117). Ayrıca diyabetli hastaların, hastalık süresinden ve glisemik kontrolden bağımsız olarak serebellumlarında atrofi tespit edilmiştir (118). Hatta maternal diyabet oluşturulan rat yavrularında serebellar kalınlık ve hacmin azaldığı, purkinje ve granüler hücre tabakalarında sayısal olarak azalma tespit edilmiştir (119). Motor koordinasyon ve denge ratlarda kiriş yürüme testi ile değerlendirilebilir (116). Çalışmamızda kiriş yürüme testinde platformu tamamlama süresi diyabet oluşturulan ratlarda daha uzundu. Bu diyabetin lökomotor aktiviteyi olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir.

DM ile oluşan hiperglisemi nöronal dehidratasyona ve asidoza yol açmaktadır. Oluşan asidoz durumu serebral kan akımını azaltmakta ve iskemiye neden olmaktadır. İskemi ile hücrelerin enerji metabolizmasında ortaya çıkan bozulmalar endotelial hücrelerde ödeme, kan beyin bariyerinin bozulmasına ve oksidan moleküllerin artışına yol açmaktadır (24). Aynı zamanda hiperglisemi nöronal myelinizasyonu bozmakta ve miyelin oluşumunu sağlayan nöronların yenilenmesini engellemektedir (24). Bu etkilerin altında yatan birçok fizyopatolojik

mekanizma bulunmaktadır. Hiperglisemi ile aktive olan inflamatuvar sitokinlerin salınması, oksidatif stresin oluşması, ileri glikozillenmiş son ürünlerin oluşumu, protein kinaz C'nin aktive olması bu mekanizmalardan bir kaçını oluşturmaktadır (120). Bu mekanizmalar diyabet sonrası beyinde gelişen hasarların birçoğundan sorumlu tutulmaktadır.

Beyin oksidatif hasara oldukça duyarlıdır. DM ile oluşan hiperglisemi hücrelerde glukozun otooksidasyonuna, mitokodriyal enerji metabolizmasının bozulmasına neden olarak serbest oksijen radikallerinin oluşumunu arttırıp oksidatif strese neden olmaktadır (6, 121). İnsülin eksikliği, insülin direnci ile gelişen hiperglisemi, hiperlipidemi ve serbest oksijen radikallerinin artışı DM'ta gelişen komplikasyonların ana nedeni olarak görülmektedir (122, 123). Asmat ve arkadaşları (2015) oksidatif stres ile diyabet arasında kalp, karaciğer, böbrek ve göz ile ilgili komplikasyonların ilişki olduğunu göstermiştir (36). Ayrıca DM ile yalnızca oksidatif stres artmaz, antioksidan savunma mekanizmalarında da bozukluklar ortaya çıkar (122). MDA oksidatif stresin ve lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir (124). GSH endojen olarak sentezlenen serbest radikal toplayıcısı olarak görev yapan bir moleküldür (116). Çalışmamızda diyabet serebellum MDA düzeylerinin artmasına neden olarak oksidatif stres meydana getirdi. Aynı zamanda diyabet serebellumda GSH seviyelerini düşürdü ancak bu düşme istatistiksel olarak anlamlı değildi. Solmaz ve arkadaşları (2017) diyabet ile oluşan hipergliseminin MDA düzeylerini arttırıp GSH düzeylerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir (122). Diyabetin birçok çalışmada ve farklı dokularda MDA içeriğinin artmasına ve GSH seviyelerinin düşmesine neden olduğu gösterilmiştir (125, 126, 127). Ixchel ve arkadaşları (2018) STZ ile diyabet oluşturulan rat beyinlerinde GSH düzeylerinde değişiklik olmayabileceğini göstermişlerdir (115). DM oluşturulan rat beyninin hipokampus, hipotalamus, serebral korteks ve serebellumunda diğer antioksidan enzimler olan CAT, SOD ve GPx aktivitelerinde kayda değer bir azalma olduğunda bildirilmiştir (56).

DM ile gelişen hiperglisemi kognitif fonksiyon bozukluklarına da yol açmaktadır. Özellikle hiperglisemi ile artan oksidan maddeler amiloid-beta birikimi, tau fosforilasyonu ve nörofibriler yumakların tetiklenmesine aracılık etmektedir. Ayrıca serbest radikaller nöronal ölüme neden olarak ve apoptozisi tetikleyerek sinaptik dejenerasyon ve sinaptik fonksiyonların bozulmasına neden olmaktadır (128). CREB nöron yenilenmesi, sinaps oluşumu, öğrenme ve hafıza ile ilgili fonksiyonel proteinleri regüle eden bir transkripsiyon faktörüdür (129). CREB'in en

önemli hedef genleri arasında BDNF bulunmaktadır (123). Sinaptik fonksiyonlarda önemli düzenleyici rolü olan BDNF nörotrofin ailesinin bir üyesidir (130, 131, 132). BDNF santral sinir sisteminde nörogenez, nöroplastisite ve nöronların korunmasında görevli bir büyüme faktörüdür (130, 132). Yüksek yağlı diyetle beslenen ve STZ uygulanan ratların hipokampüsünde CREB ve BDNF seviyelerinin azaldığı ve öğrenmeyi olumsuz etkilediği gösterilmiştir (133). Yine STZ ile oluşturulmuş diyabet modelinde CREB, sinaptofizin ve BDNF'nin hipokampüste azaldığı ve dendritik dallanmaların azalmasına yol açarak öğrenme ve hafızayı etkilediği gösterilmiştir (129).

Beyinde BDNF seviyelerinin azalması Alzheimer ve Parkinson gibi birçok nörodejeneratif hastalıkla ilişkilendirilmiştir (132). Çalışmalar motor öğrenmenin hem serebellumda hemde motor kortekste sinaps oluşumunu tetiklediğini göstermiştir (134). Özellikle BDNF seviyeleri yüksek olduğunda, iskemik inme ve beyin hasarından sonra bozulan motor aktivitelerin tekrar kazanıldığı, BDNF azlığında ise motor iyileşmenin olmadığı gözlemlenmiştir (132). BDNF insan serebellumunda erken gelişim dönemlerinden itibaren bulunur. BDNF reseptörü olan TrkB reseptörleri serebellum purkinje nöronlarında yüksek miktarda eksprese edilmektedir ve bu nöronlarda sinaptik dallanma ve sinaptik bağlantıların güçlenmesinden sorumludur (130, 131). He ve arkadaşları (2013) serebellumda BDNF eksikliğinin apoptozisi tetikleyerek nöron ölümüne neden olduğunu ve motor fonksiyonları etkilediğini göstermiştir (135). Başka bir çalışmada STZ uygulamasının serebellar ve striat kortekslerde BDNF ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir (136). Çalışmamızda diyabetli grubun serebellumlarında ölçülen BDNF düzeyleri azalmıştır. CREB seviyelerinde ise diyabetli grupta azalma olmasına rağmen anlamlılık bulunamamıştır. BDNF'nin azalmış olması diyabette gözlenen motor fonksiyonların bozulmasıyla ilişkili görünmektedir. Beam walking testte diyabetli grubun motor aktivitelerindeki azalmaya bağlı olarak platformu tamamlama sürelerini uzattığını ve bu etkinin BDNF azalmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Ayrıca pedinkülotomi yapılarak serebellum hasarı oluşturulan ratlarda intraserebellar BDNF uygulaması motor fonksiyonlarda ve uzamsal öğrenmede geliştirici etki göstermiştir (137). BDNF knock out farelerde yapılan çalışmalar farelerin hem hayatta kalma sürelerinin azaldığını hemde koordinasyon ve denge problemleri yaşadıklarını göstermiştir (134).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

DM, gelişen komplikasyonları ve diyabetli hasta sayısının hızlı bir şekilde artması nedeniyle önemli sağlık problemlerinden biridir. DM hastalığı süresince serebellum da dahil olmak üzere beyinin bir çok bölgesinde hasarlar meydana gelmektedir. Diabetin serebellum üzerindeki etkilerini araştıran çok az çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda diabetin serebellum üzerindeki etkilerine odaklandık.

Çalışmamızda diabetin motor fonksiyonları olumsuz etkilediğini ve bunun serebellumda meydana gelen oksidatif stres artışı ile CREB/BDNF yolağında BDNF düzeylerinin azalmasına bağlı olabileceğini gösterdik. Diabetin motor fonksiyonlardaki bozulmaya hangi fizyopatolojik mekanizmalarla yol açtığını net bir şekilde ortaya koyabilmek için yapılacak daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Ayrıca DM'de BDNF seviyelerini yükseltecek tedavilerin uygulanması diabetin komplikasyonlarını azaltacak bir tedavi yaklaşımı olabilecektir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Rhoades RA, Bell DR. Tıbbi Fizyoloji Klinik Tıbbın Temelleri (Çev.Ed: Ağar E) s.105-137 , İstanbul Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2017.
2. IDF Diabetic Atlas, Eighth Edition s16-84, Brüksel Belçika, 2017.
3. Atalay M, Laaksonen DE. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *J Sports Sci Med* 1(1):1-14, 2002.
4. Kaločayová B, Mézešová L, Barteková M, Vlkovičová J, Jendruchová V, Vrbjar N. Properties of Na, K-ATPase in cerebellum of male and female rats: effects of acute and prolonged diabetes. *Mol Cell Biochem* 425(1-2):25-36, 2017.
5. Motawi TK, Darwish HA, Hamed MA, El-Rigal NS, Naser AFA. A Therapeutic Insight of Niacin and Coenzyme Q10 Against Diabetic Encephalopathy in Rats. *Mol Neurobiol* 54(3):1601-1611, 2017.
6. Sherif RN. Effect of cerebrolysin on the cerebellum of diabetic rats: An imunohistochemical study. *Tissue Cell* 49(6):726-733, 2017.
7. Ahmadpour SH, Haghiri HR, Rom J. Diabetes mellitus type 1 induces dark neuron formation in the dentate gyrus: a study by Gallyas' method and transmission electron microscopy. *Morphol Embryol* 52(2):575–579 , 2011.
8. Izawa J, Criscimagna-Hemminger SE, Shadmehr R. Cerebellar contributions to reach adaptation and learning sensory consequences of action. *J Neurosci* 32(12):4230-9, 2012.
9. Folli F, Corradi D, Fanti P, Davalli A, Paez A, Giaccari A, Perego C, Muscogiuri G. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus micro- and macrovascular complications: avenues for a mechanistic-based therapeutic approach. *Curr Diabetes Rev* 7(5):313-24, 2011.
10. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* 107(9):1058-70, 2010.
11. Wu MY, Yiang GT, Lai TT, Li CJ. The Oxidative stress and mitochondrial dysfunction during the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Oxid Med Cell Longev* 3420187, 2018.
12. Demirel Y, Yıldırım H. Advanced glycation end products and kidney diseases. *Gümüşhane University Journal Of Health Sciences* 7(1): 210-217, 2018.
13. Scott-Solomon E, Kuruvilla R. Mechanisms of neurotrophin trafficking via Trk receptors. *Mol Cell Neurosci* 91:25-33, 2018.

14. Lu B, Nagappan G, Lu Y. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction. *Handb Exp Pharmacol* 220:223-50, 2014.
15. He M, Wei JX, Mao M, Zhao GY, Tang JJ, Feng S, Lu XM, Wang YT. Synaptic plasticity in PTSD and associated comorbidities: The function and mechanism for diagnostics and therapy. *Curr Pharm Des* 24(34):4051-4059, 2018.
16. Bathina S, Srinivas N, Das UN. Streptozotocin produces oxidative stress, inflammation and decreases BDNF concentrations to induce apoptosis of RIN5F cells and type 2 diabetes mellitus in Wistar rats. *Biochem Biophys Res Commun* 486(2):406-413, 2017.
17. Bathina S, Srinivas N, Das UN. BDNF protects pancreatic  $\beta$  cells (RIN5F) against cytotoxic action of alloxan, streptozotocin, doxorubicin and benzo(a)pyrene in vitro. *Metabolism* 65(5):667-84, 2016.
18. Datusalia AK, Sharma SS. Amelioration of diabetes-induced cognitive deficits by GSK-3 $\beta$  inhibition is attributed to modulation of neurotransmitters and neuroinflammation. *Mol Neurobiol* 50(2):390-405, 2014.
19. Sherin A, Peeyush KT, Najil G, Chinthu R, Paulose CS. Hypoglycemia induced behavioural deficit and decreased GABA receptor, CREB expression in the cerebellum of streptozotocin induced diabetic rats. *Brain Res Bull* 83(6):360-6, 2010.
20. Woo NH, Lu B. BDNF in synaptic plasticity and memory. *National Institutes of Health* 220:223-50, 2014.
21. IDF Diabetic Atlas, Seven Edition, s23-48, Brüksel Belçika, 2015.
22. Atlan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi* 31 (2):51-6, 2006.
23. Borges ME, Ribeiro AM, Pauli JR, Arantes LM, Luciano E, de Moura LP, de Almeida Leme JA, Medeiros A, Bertolini NO, Sibuya CY, Gomes RJ. Cerebellar insulin/IGF-1 signaling in diabetic rats: Effects of exercise training. *Neurosci Lett* 639:157-161, 2017.
24. Hernández-Fonseca JP, Rincón J, Pedreañez A, Viera N, Arcaya JL, Carrizo E, Mosquera J. Structural and ultrastructural analysis of cerebral cortex, cerebellum, and hypothalamus from diabetic rats. *Exp Diabetes Res* 2009:329632, 2009.
25. Eltony SA. Histological study on the protective role of vitamin B complex on the cerebellum of diabetic rat. *Tissue Cell* 48(4):283-96, 2016.



26. Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu. Türkiye endokrinoloji ve metabolizma derneği s25-56, 2018.
27. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 37(Supplement 1): S81-S90, 2014.
28. Barrett EK, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. Ganong'un tıbbi fizyolojisi (Çev.Ed: Gökbel H) s.449-50, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2015.
29. Koloğlu S. Endokrinoloji ve Temel Klinik. 2. Baskı, s367-499, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul , 1996.
30. Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği ISBN: 978-605-4011-26-1.9, 2017.
31. Gillespie KM. Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. CMAJ 175(2):165-70, 2006.
32. Michels AW, Eisenbarth GS. Immunologic endocrine disorders. J Allergy Clin Immunol 125(2 Suppl 2):S226-37, 2010.
33. Pociot F, Lernmark Å. Genetic risk factors for type 1 diabetes. Lancet 387(10035):2331-2339, 2016.
34. Magri CJ, Mintoff D, Camilleri L, Xuereb RG, Galea J, Fava S. Relationship of hyperglycaemia, hypoglycaemia, and glucose variability to atherosclerotic disease in type 2 diabetes. J Diabetes Res 2018:7464320, 2018.
35. Elikara Y. Birinci derece yakınlarında diabetes mellitus bulunan ve bulunmayan sağlıklı bireylerde insülin direncinin değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul 2006.
36. Asmat U, Abad K, Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. Saudi Pharm J 24(5):547-553, 2016.
37. Sequeira IR, Poppitt SD. Unfolding novel mechanisms of polyphenol flavonoids for better glycaemic control: targeting pancreatic islet amyloid polypeptide (IAPP). Nutrients 9(7). pii: E788, 2017.
38. Tong HV, Luu NK, Son HA, Hoan NV, Hung TT, Velavan TP, Toan NL. Adiponectin and pro-inflammatory cytokines are modulated in Vietnamese patients with type 2 diabetes mellitus. J Diabetes Investig 8(3):295-305, 2017.

39. Mu W, Cheng XF, Liu Y, Lv QZ, Liu GL, Zhang JG, Li XY. Potential nexus of non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus: Insulin resistance between hepatic and peripheral tissues. *Front Pharmacol* 9:1566, 2019.
40. Serin Yalçın G. Yeni tespit tip 2 diabetes mellituslu hastalarda pankreas beta hücre rezervinin değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2004.
41. Azak B. Streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçan modelinde beyin sapı ve serebellum bölgelerinin apoptotik genler açısından incelenmesi ve nörodejenerasyonla ilişkilendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, İzmir, 2016.
42. Moreira PI, Rolo AP, Sena C, Seiça R, Oliveira CR, Santos MS. Insulin attenuates diabetes-related mitochondrial alterations: a comparative study. *Med Chem* 2(3):299-308, 2006.
43. Reinehr T. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World J Diabetes* 4(6):270-81, 2013.
44. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, Peters AL, Tsapas A, Wender R, Matthews DR. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2015: A patient-centered approach: update to a position statement of the American diabetes association and the European association for the study of diabetes. *Diabetes Care* 38(1):140-9, 2015.
45. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, Peters AL, Tsapas A, Wender R, Matthews DR. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care* 35(6):1364-79, 2012.
46. Zhu WW, Yang HX, Wang C, Su RN, Feng H, Kapur A. High prevalence of Gestational diabetes mellitus in Beijing: Effect of maternal birth weight and other risk factors. *Chin Med J (Engl)* 130(9):1019-1025, 2017.
47. Aune D, Sen A, Henriksen T, Saugstad OD, Tonstad S. Physical activity and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review and dose-response meta-analysis of epidemiological studies. *Eur J Epidemiol* 31(10):967-997, 2016.
48. Mirghani Dirar A, Doupis J. Gestational diabetes from A to Z. *World J Diabetes* 8(12):489-511, 2017.

49. Abell SK, De Courten B, Boyle JA, Teede HJ. Inflammatory and other biomarkers: Role in pathophysiology and prediction of gestational diabetes mellitus. *Int J. Mol Sci* 16(6):13442-73, 2015.
50. Hoet JP, Lukens FD. Carbohydrate metabolism during pregnancy. *Diabetes* 3(1):1-12, 1954.
51. Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. *Fizyoloji*, s.174-180, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2008.
52. Widmaier EP, Raff H, Strang KT. *Vander İnsan Fizyolojisi (Çev.Ed:Özgünen T)* s.174-177 , Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2014.
53. Harvey RA. *Lippincott Görsel Anlatımlı Çalışma Kitapları: Fizyoloji (Çev.Ed: İşoğlu Alkaç E)* s.128-130, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2014.
54. Hami J, Vafaei-Nezhad S, Sadeghi A, Ghaemi K, Taheri MH, Fereidouni M, Ivar G, Hosseini M. Synaptogenesis in the cerebellum of offspring born to diabetic mothers. *J Pediatr Neurosci* 12(3):215-221, 2017.
55. Schmahmann JD, Sherman JC. Cerebellar cognitive affective syndrome. *Int Rev Neurobiol* 41:433-40, 1997.
56. Ramavat RN, Praveen KM, Turlapati N. Andrographolide reorganise hyperglycaemia and distorted antioxidant profile in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(4):1270-1279, 2017.
57. Hami J, Vafaei-Nezhad S, Ivar G, Sadeghi A, Ghaemi K, Mostafavizadeh M, Hosseini M. Altered expression and localization of synaptophysin in developing cerebellar cortex of neonatal rats due to maternal diabetes mellitus. *Metab Brain Dis* 31(6):1369-1380, 2016.
58. Haghiri H, Rezaee AA, Sankian M, Kheradmand H, Hami J. The effects of induced type-I diabetes on developmental regulation of insulin & insulin like growth factor-1 (IGF-1) receptors in the cerebellum of rat neonates. *Metab Brain Dis* 28(3):397-410, 2013.
59. Gold AK, Toomey R. The role of cerebellar impairment in emotion processing: a case study. *Cerebellum Ataxias* 12;5:11, 2018.
60. Bolceková E, Mojzeš M, Van Tran Q, Kukal J, Ostrý S, Kulišťák P, Rusina R. Cognitive impairment in cerebellar lesions: a logit model based on neuropsychological testing. *Cerebellum Ataxias* 28;4:13, 2017.

61. Schmahmann JD, Sherman JC. The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain* 121 ( Pt 4):561-79, 1998.
62. Hami J, Shojae F, Vafaee-Nezhad S, Lotfi N, Kheradmand H, Haghiri H. Some of the experimental and clinical aspects of the effects of the maternal diabetes on developing hippocampus. *World J Diabetes* 15;6(3):412-22, 2015.
63. Hami J, Sadr-Nabavi A, Sankian M, Balali-Mood M, Haghiri H. The effects of maternal diabetes on expression of insulin-like growth factor-1 and insulin receptors in male developing rat hippocampus. *Brain Struct Funct* 218(1):73-84, 2013.
64. Kumar TP, Antony S, Gireesh G, George N, Paulose CS. Curcumin modulates dopaminergic receptor, CREB and phospholipase C gene expression in the cerebral cortex and cerebellum of streptozotocin induced diabetic rats. *J Biomed Sci* 31; 17: 43, 2010.
65. Pandey SP, Singh HK, Prasad S. Alterations in hippocampal oxidative stress, expression of AMPA receptor GluR2 subunit and associated spatial memory loss by bacopa monnieri extract (CDRI-08) in streptozotocin-induced diabetes mellitus type 2 mice. *PLoS One* 10(7):e0131862, 2015.
66. Schmahmann JD. The cerebellum and cognition. *Neurosci Lett* 688:62-75, 2019.
67. Erzurumlu R, Şengül G, Ulupınar E. *Nöroanatomi*, 1. Baskı, s.186-197, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2019.
68. Jayanarayanan S, Smijin S, Peeyush KT, Anju TR, Paulose CS. NMDA and AMPA receptor mediated excitotoxicity in cerebral cortex of streptozotocin induced diabetic rat: ameliorating effects of curcumin. *Chem Biol Interact* 25;201(1-3):39-48, 2013.
69. Yano H, Chao MV. Neurotrophin receptor structure and interactions. *Pharm Acta Helv* 74(2-3):253-60, 2000.
70. Kida S, Serita T. Functional roles of CREB as a positive regulator in the formation and enhancement of memory. *Brain Res Bull* 105:17-24, 2014.
71. Patapoutian A, Reichardt LF. Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Curr Opin Neurobiol* 11(3):272-80, 2001.
72. Barford K, Deppmann C, Winckler B. The neurotrophin receptor signaling endosome: Where trafficking meets signaling. *Dev Neurobiol* 77(4):405-418, 2017.

73. Cunha C, Brambilla R, Thomas KL. A simple role for BDNF in learning and memory? *Front Mol Neurosci* 9;3:1, 2010.
74. Ozawa T, Yamada K, Ichitani Y. Hippocampal BDNF treatment facilitates consolidation of spatial memory in spontaneous place recognition in rats. *Behav Brain Res* 15;263:210-6, 2014.
75. Rosenblum S, Smith TN, Wang N, Chua JY, Westbroek E, Wang K, Guzman R. BDNF pretreatment of human embryonic-derived neural stem cells improves cell survival and functional recovery after transplantation in hypoxic-ischemic stroke. *Cell Transplant* 24(12):2449-61, 2015.
76. Sandrini L, Di Minno A, Amadio P, Ieraci A, Tremoli E, Barbieri SS. Association between obesity and circulating brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels: systematic review of literature and meta-analysis. *Int J Mol Sci* 3;19(8), 2018.
77. Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, Leal VV, Misgeld T, Klinkert WE, Kolbeck R, Hoppe E, Oropeza-Wekerle RL, Bartke I, Stadelmann C, Lassmann H, Wekerle H, Hohlfeld R. Activated human T cells, B cells and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? *J Exp Med* 1;189(5):865-70, 1999.
78. Baghel MS, Singh B, Dhuriya YK, Shukla RK, Patro N, Khanna VK, Patro IK, Thakur MK. Postnatal exposure to poly (I:C) impairs learning and memory through changes in synaptic plasticity gene expression in developing rat brain. *Neurobiol Learn Mem* 155:379-389, 2018.
79. Leal G, Comprido D, Duarte CB. BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity. *Neuropharmacology* 76 Pt C:639-56, 2014.
80. Kazak F, Yarım GF. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Dergisi* 10(2): 120-129, 2015.
81. Santos AR, Comprido D, Duarte CB. Regulation of local translation at the synapse by BDNF. *Prog Neurobiol* 92(4):505-16, 2010.
82. Wang L, Hu XH, Huang ZX, Nie Q, Chen ZG, Xiang JW, Qi RL, Yang TH, Xiao Y, Qing WJ, Gigantelli G, Nguyen QD, Li DW. Regulation of CREB Functions by phosphorylation and sumoylation in nervous and visual systems. *Curr Mol Med* 16(10):885-892, 2017.

83. Wen AY, Sakamoto KM, Miller LS. The role of the transcription factor CREB in immune function. *J Immunol* 1;185(11):6413-9, 2010.
84. İrer SV, Alper G. Experimental models of diabetes mellitus. *İzmir Türk Klinik Biyokimya Derg* 2(3): 127-136, 2004.
85. Pickup JC, Williams G. *Textbook of Diabetes* 2nd ed. Blackwell Science 978-0632059157, 2002.
86. Erbaş O. Deneysel diyabet modelleri. *FNG & Bilim Tıp Dergisi* 1(1):40-42, 2015.
87. Alaca N. Deneysel olarak tip 2 diyabet oluşturulan sıçanlarda aerobik egzersiz sıklıklarının ve hafta sonu savaşıcı egzersiz modelinin diyabet parametreleri ile kas dokusuna olan etkisi. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2015.
88. Jörgens V. Oskar Minkowski. An outstanding master of diabetes research. *Hormones (Athens)* 5(4):310-1, 2006.
89. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 50(6):537-46, 2006.
90. Federiuk IF, Casey HM, Quinn MJ, Wood MD, Ward WK. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comp Med* 54(3):252-7, 2004.
91. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51(2):216-26, 2008.
92. Furman BL. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Curr Protoc Pharmacol* 1;70:5.47.1-20, 2015.
93. Qinna NA, Badwan AA. Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Drug Des Devel Ther* 5;9:2515-25, 2015.
94. Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MV. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin. *Cancer Chemother Rep* 29:91-8, 1963.
95. Goud JY, Dwarakanath V, Chikka swamy BK. Streptozotocin - A diabetogenic agent in animal models. *Human Journals* 2349-7203, 2015.
96. Lorenzi M. The polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive, and resilient. *Exp Diabetes Res* 2007:61038, 2007.

97. Mahajan N, Arora P, Sandhir R. Perturbed biochemical pathways and associated oxidative stress lead to vascular dysfunctions in diabetic retinopathy. *Oxid Med Cell Longev* 6;2019:8458472, 2019.
98. Goh SY, Cooper ME. Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 93(4):1143-52, 2008.
99. Du XL, Edelstein D, Rossetti L, Fantus IG, Goldberg H, Ziyadeh F, Wu J, Brownlee M. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 24;97(22):12222-6, 2000.
100. Macit S, Akbulut G. Diabetes mellitus and oxidative stress. *Bes Diy Derg* 43(1):59-65, 2015.
101. İlhan D, Değer Y, Uslu S. Diyabetik ratların böbrek dokusuna likopenin oksidan ve antioksidan etkisi. *Harran Üniv Vet Fak Dergisi* 3,(1),18-23, 2014.
102. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39(1):44-84, 2007.
103. Pickering RJ, Rosado CJ, Sharma A, Buksh S, Tate M, de Haan JB. Recent novel approaches to limit oxidative stress and inflammation in diabetic complications. *Clin Transl Immunology* 18;7(4):e1016, 2018.
104. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging* 2(2):219-36, 2007.
105. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus and oxidative stress. *Türk Biyokimya Dergisi* 31 (2); 51–56, 2006.
106. Bayramoğlu M, Ekin S, Kızıltaş H, Oto G, Altındal Susen E. Antioxidant properties of *Rosa pisiformis* and its protective effect against isoproterenol-induced oxidative stress in rats. *Turkish Journal of Biochemistry. Türk Biyokimya Dergisi* 41 (4): 232-242, 2016.
107. Saikat S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy Y S R, Biplab D. Free radicals, antioxidants, diseases and phytochemicals: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 0976 – 044, 2010.
108. Shinde A, Ganu J, Naik P. Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review. *Journal of Dental & Allied Sciences* 1(2):63-66, 2012.

109. Petrou AL, Petrou PL, Ntanos T, Liapis A. A possible role for singlet oxygen in the degradation of various antioxidants. a meta-analysis and review of literature data. *Antioxidants (Basel)* 27;7(3), 2018.
110. Schönfeld LM, Dooley D, Jahanshahi A, Temel Y, Hendrix S. Evaluating rodent motor functions: Which tests to choose? *Neurosci Biobehav Rev* 83:298-312, 2017.
111. Basso DM, Fisher LC, Anderson AJ, Jakeman LB, McTigue DM, Popovich PG. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains. *J Neurotrauma* 23(5):635-59, 2006.
112. Gao Y, Xu S, Cui Z, Zhang M, Lin Y, Cai L, Wang Z, Luo X, Zheng Y, Wang Y, Luo Q, Jiang J, Neale JH, Zhong C. Mice lacking glutamate carboxypeptidase II develop normally, but are less susceptible to traumatic brain injury. *J Neurochem* 134(2):340-53, 2015.
113. Casini AF, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. *Am J Pathol* 123(3):520-31, 1986.
114. Aykaç G, Uysal M, Yalçın AS, Koçak-Toker N, Sivas A, Oz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology* 36(1):71-6, 1985.
115. Ixchel Osorio-Paz I, Ramírez-Pérez G, Hernández-Ramírez JE, Uribe Carvajal S, Salceda R. Mitochondrial activity in different regions of the brain at the onset of streptozotocin-induced diabetes in rats. *Mol Biol Rep* 45(5):871-879, 2018.
116. Rodrigues AF, Biasibetti H, Zanotto BS, Sanches EF, Schmitz F, Nunes VT, Pierozan P, Manfredini V, Magro DDD, Netto CA, Wyse ATS. D-Galactose causes motor coordination impairment, and histological and biochemical changes in the cerebellum of rats. *Mol Neurobiol* 54(6):4127-4137, 2017.
117. Nagayach A, Patro N, Patro I. Experimentally induced diabetes causes glial activation, glutamate toxicity and cellular damage leading to changes in motor function. *Front Cell Neurosci* 31;8:355, 2014.
118. M. Lunetta, A.R. Damanti, G. Fabbri, M. Lombardo, M. Di Mauro, L. Mughini Evidence by magnetic resonance imaging of cerebral alterations of atrophy type in young insulin-dependent diabetic patients *J Endocrinol Invest* pp. 241-245, 1994.



- 119.Hami J, Vafaei-Nezhad S, Ghaemi K, Sadeghi A, Ivar G, Shojae F, Hosseini M. Stereological study of the effects of maternal diabetes on cerebellar cortex development in rat. *Metab Brain Dis* 31(3):643-52, 2016.
- 120.Li R, Zhang Y, Rasool S, Geetha T, Babu JR. Effects and underlying mechanisms of bioactive compounds on type 2 diabetes mellitus and alzheimer's disease. *Oxid Med Cell Longev* 17;2019:8165707, 2019.
- 121.Muriach M, Flores-Bellver M, Romero FJ, Barcia JM. Diabetes and the brain: oxidative stress, inflammation, and autophagy. *Oxid Med Cell Longev* 2014:102158, 2014.
- 122.Solmaz V, Köse Özlece H, Eroglu HA, Aktuğ H, Erbaş O, Taşkıran D. Accumulation of  $\alpha$ -synuclein in cerebellar purkinje cells of diabetic rats and its potential relationship with inflammation and oxidative stress markers. *Neurol Res Int* 2017:5952149, 2017.
- 123.Gumuslu E, Cine N, Ertan M, Mutlu O, Komsuoglu Celikyurt I, Ulak G. Exenatide upregulates gene expression of glucagon-like peptide-1 receptor and nerve growth factor in streptozotocin/nicotinamide-induced diabetic mice. *Fundam Clin Pharmacol* 32(2):174-180, 2018.
- 124.Joudaki R, Setorki M. The protective effect of *Satureja bachtiarica* hydroalcoholic extract on streptozotocin-induced diabetes through modulating glucose transporter 2 and 4 expression and inhibiting oxidative stress. *Pharm Biol* 57(1):318-327, 2019.
- 125.Patel SN, Lau-Cam CA. The effect of taurine and its immediate homologs on diabetes-induced oxidative stress in the brain and spinal cord of rats. *Adv Exp Med Biol* 975 Pt 1: 337-351, 2017.
- 126.Catanzaro OL, Capponi JA, Di Martino I, Labal ES, Sirois P. Oxidative stress in the optic nerve and cortical visual area of streptozotocin-induced diabetic wistar rats: Blockade with a selective bradykinin B (1) receptor antagonist. *Neuropeptides* 66: 97-102, 2017.
- 127.Zhang S, Li H, Zhang L, Li J, Wang R, Wang M. Effects of troxerutin on cognitive deficits and glutamate cysteine ligase subunits in the hippocampus of streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus rats. *Brain Res* 15;1657:355-360, 2017.

128. Wang M, Yan W, Liu Y, Hu H, Sun Q, Chen X, Zang W, Chen L. Erythropoietin ameliorates diabetes-associated cognitive dysfunction in vitro and in vivo. *Sci Rep* 5;7(1):2801, 2017.
129. Xiang Q, Zhang J, Li CY, Wang Y, Zeng MJ, Cai ZX, Tian RB, Jia W, Li XH. Insulin resistance-induced hyperglycemia decreased the activation of Akt/CREB in hippocampus neurons: Molecular evidence for mechanism of diabetes-induced cognitive dysfunction. *Neuropeptides* 54: 9-15, 2015.
130. Mellesmoen A, Sheeler C, Ferro A, Rainwater O, Cvetanovic M. Brain derived neurotrophic factor (BDNF) delays onset of pathogenesis in transgenic mouse model of spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1). *Front Cell Neurosci* 21;12: 509, 2019.
131. Zhou L, Zhou W, Zhang S, Liu B, Liang P, Zhou Y, Zhou T, Zhang K, Leng Y, Kong W. BDNF signaling in the rat cerebello-vestibular pathway during vestibular compensation: BDNF signaling in vestibular compensation. *FEBS J* 282(18):3579-91, 2015.
132. Inoue T, Ninuma S, Hayashi M, Okuda A, Asaka T, Maejima H. Effects of long-term exercise and low-level inhibition of GABAergic synapses on motor control and the expression of BDNF in the motor related cortex. *Neurol Res* 40(1):18-25, 2018.
133. Zhong Y, Zhu Y, He T, Li W, Yan H, Miao Y. Rolipram-induced improvement of cognitive function correlates with changes in hippocampal CREB phosphorylation, BDNF and Arc protein levels. *Neurosci Lett* 1;610:171-6, 2016.
134. Klintsova AY, Dickson E, Yoshida R, Greenough WT. Altered expression of BDNF and its high-affinity receptor TrkB in response to complex motor learning and moderate exercise. *Brain Res* 26;1028(1):92-104, 2004.
135. He YY, Zhang XY, Yung WH, Zhu JN, Wang JJ Role of BDNF in central motor structures and motor diseases. *Mol Neurobiol* 48: 783–793, 2013.
136. Grünblatt E, Koutsilieris E, Hoyer S, Riederer P. Gene expression alterations in brain areas of intracerebroventricular streptozotocin treated rat. *J Alzheimers Dis* 9(3):261-71, 2006.
137. Willson ML, McElnea C, Mariani J, Lohof AM, Sherrard RM. BDNF increases homotypic olivocerebellar reinnervation and associated fine motor and cognitive skill. *Brain* 131(Pt 4):1099-112, 2008.

## 8. EKLER

### Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**



**TOPLANTI TARİHİ** : 07.09.2017  
**TOPLANTI NO** : 2017/05

- 3- Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2017-17-07/09 Protokol no'lu "Deneysel Diabetinserebellar CREB/BDNF Yolağı ve Motor Fonksiyona Etkisi" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

**ASLI GİBİDİR**

**Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkan Vekili**

## 9. ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Birgül ALTUĞ  
**Mail** : baltug@bartin.edu.tr  
**Doğum Tarihi** : 23.12.1985

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Hemşirelik	Ondokuz Mayıs Üniversitesi	2007
Yüksek Lisans	Fizyoloji	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi	2019
Doktora			

### **Deneyimler**

Bartın İl sağlık Müdürlüğü, Aile Sağlığı Merkezi, Hemşirelik, 2007 – 2011.

Bartın Devlet Hastanesi, Beyin Cerrahi, Üroloji ve Plastik Cerrahi Servisi, Hemşirelik, 2011-2014.

Bartın Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Dokümantasyon ve Sekreterlik Programı, Öğretim Görevlisi. 2014- Halen devam etmektedir.

### **Çalışmalar**

Bartın Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Öğrencilerinin Akılcı İlaç Kullanımı Hakkında Bilgi, Tutum Ve Davranışları, Poster Bildiri, İVEK, İstanbul, 2015.

Hastanede Çalışan Tıbbi Sekreterlerin İş Sağlığı Ve Güvenliği İle İlgili Bilgi Düzeylerinin İncelenmesi, Sözlü Sunum, Uluslararası İş Sağlığı ve Çalışan Güvenliği Kongresi, İzmit, 2016.

Bilateral Karotid Arter Oklüzyonu İle Oluşturulan Retinal Oksidatif Stresin Çevresel Zenginleştirme İle Azaltılması, Poster Bildiri, 15. Ulusal Sinirbilim Kongresi, Sakarya, 2017.

Bartın Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Öğrencilerinin Mesleki Uygulama Dersine Bakış Açılarının Değerlendirilmesi Çalışması, Sözlü Sunum, 16. Ulusal Büro Yönetimi ve Sekreterlik Kongresi, Çorum, 2018.

Deneysel Diabetin Serebellar Oksidatif Stres Ve Motor Fonksiyona Etkisi, Poster Bildiri, 17. Ulusal Sinirbilim Kongresi, Trabzon, 2019.

**Sertifikalar**

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 2017.

