

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

MELATONİNİN DİABETİK SIÇANLARDA
DEPRESYON BENZERİ DAVRANIŞ VE AGE
DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Meryem ERGENÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK

ZONGULDAK

2018

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

MELATONİNİN DİABETİK SIÇANLARDA
DEPRESYON BENZERİ DAVRANIŞ VE AGE
DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Meryem ERGENÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK

ZONGULDAK

2018

Bu çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. (BAP No: 2016-26259946-03)

KABUL ve ONAY :

“MELATONİNİN DİABETİK SIÇANLARDA DEPRESYON BENZERİ DAVRANIŞ ve AGE DÜZEYLERİNE ETKİSİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Fizyoloji Anabilim Dalı Fizyoloji Yüksek Lisans Programı yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

09.01.2018

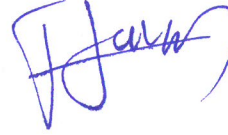
Başkan : Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK (Danışman)



Üye : Prof. Dr. Şerif DEMİR



Üye : Yrd. Doç. Dr. İnci TURAN



ONAY :

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

TARİH : 09.01.2018

Prof. Dr. Veysel Haktan ÖZAÇMAK

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm yüksek lisans eğitimim sürecinde ve tez projemin her aşamasında, bilimsel desteklerinin yanı sıra anlayışlarını, sevgilerini, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen sayın hocalarıma; başta öğrencisi olmaktan onur duyduğum çok değerli anabilim dalı başkanı ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK'a bilgi ve tecrübeleriyle her daim desteğini esirgemeyen çok kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Veysel Haktan ÖZAÇMAK'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. İnci TURAN'a en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Gerek eğitimim sürecindeki gerekse deney aşamasındaki katkılarından dolayı yüksek lisans eğitimini beraber sürdürdüğüm arkadaşlarım Fizyoterapist Salim ÖZENOĞLU'na ve Vet. Hekim Osman CENGİL'e teşekkür ederim.

Ayrıca her zaman olduğu gibi tez dönemimde de desteklerini hissettiğim anneme, babama, kayınvalideme, kayınpederime ve kardeşlerime ayrı ayrı teşekkür ederim.

Ve tüm bu süreçte anlayışıyla, sabrıyla, sevgisiyle ve saygısıyla beni her zaman motive eden, bana inanan, destekleyen sevgili eşim Op. Dr. Ekrem ERGENÇ'e, varlıklarında huzur bulduğum çocuklarım Eren ve Beren'e teşekkür ederim. İyi ki varsınız...

Meryem ERGENÇ
ZONGULDAK, 2018

ÖZET

Meryem Ergenç, Melatoninin Diabetik Sıçanlarda Depresyon Benzeri Davranış ve AGE Düzeylerine Etkisi, Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2018.

Diyabette depresyon ve anksiyete gibi nöropsikiyatrik hastalıklar sıklıkla gözlenmektedir. Çeşitli çalışmalarda depresyon ve anksiyete ile ilişkili beyin alanları olan hipokampus ve prefrontal korteks (PFC)'de advanced glycation end product (AGE) düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Amacımız diyabetik sıçanlarda antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri bilinen melatoninin anksiyete ve depresyon benzeri davranış ile hipokampus ve PFC'de AGE ve S100 kalsiyum bağlayıcı protein B (S100B) düzeyleri üzerine etkisini incelemektir. Çalışmamızda 36 adet erkek Wistar-Albino cinsi sıçan kullanıldı ve streptozotosin (STZ) (60 mg / kg) ile diyabet oluşturulduktan sonra 4 hafta süre ile melatonin (10mg/kg) uygulandı. Hayvanlar; 1) diyabet+melatonin uygulanan grup (n:10), 2) diyabetik kontrol (n:10), 3) normoglisemik kontrol (n:8), 4) normoglisemik+ melatonin uygulanan grup (n:8) olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Tüm gruplara, elevated plus maze (EPM) testi ve zorlu yüzme testi (FST) uygulanarak anksiyete ve depresyon benzeri davranışları test edildi. AGE ve S100B düzeyleri alınan hipokampus ve PFC örneklerinden ELISA ile ölçüldü. Gruplar arasındaki farklar Kruskal-Wallis ile, ardından post-hoc Bonferroni testi ile gruplar içindeki farklar değerlendirildi. Davranış testlerinin sonuçlarına göre diyabetik sıçanlarda anksiyete ve depresyon benzeri davranışların arttığı fakat melatonin uygulanan diyabetik sıçanlarda her iki davranışın da azaldığı görülmüştür. Çalışmamızda diyabetle PFC'de ve hipokampüste AGE düzeylerinin arttığı, S100B içeriğinin ise azaldığı görülmüştür. Diyabette melatonin uygulaması ile bu alanlardaki AGE düzeylerini azalttığı ve S100B seviyelerinin ise korunduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, diyabet ile ilgili davranış değişiklikleri melatonin ile engellenebilmiştir. Melatoninin antidepresan ve anksiyolitik etkilerini beyin dokularında AGE düzeylerini düşürerek ve S100B düzeylerini koruyarak oluşturduğu ilk kez çalışmamızda gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, AGE, S100B, Depresyon benzeri davranış, Anksiyete benzeri davranış, Melatonin

ABSTRACT

Meryem Ergenç, The Effect Of Melatonin on Depressive Like Behaviour and AGE Levels in Diabetic Rats, Bülent Ecevit University, Institute of Health Sciences, Department of Physiology, Master of Science Thesis, Zonguldak, 2018.

Neuropsychiatric diseases such as depression and anxiety are frequently observed in diabetes. Several studies have shown increased levels of AGE in hippocampus and prefrontal cortex, which are brain areas and associated with depression and anxiety. Our aim is to investigate the effects of melatonin, which is known with its antioxidant and anti-inflammatory effects, on anxiety and depression-like behavior and AGE and S100 calcium binding B protein (S100B) levels in hippocampus and prefrontal cortex (PFC) in diabetic rats. In our study, 36 male Wistar-Albino rats were used and after they were made diabetic by using streptozotocin (STZ) (60 mg / kg), for a period of four weeks melatonin (10 mg / kg) was administered. Animals are divided in four groups; 1) the group which are administered diabetes+ melatonin (n:10), 2) diabetic control group (n:10), 3) normoglycemic control group (n:8), 4) normoglycemic + melatonin treated group (n:8). By applying an elevated plus maze (EPM) test and a forced swimming test (FST) anxiety and depression-like behaviors were tested in all groups. AGE and S100B levels were measured from the samples taken from the hippocampus and PFC. Differences between groups were evaluated with Kruskal-Wallis followed by a post-hoc Bonferroni test to evaluate the differences within the groups. The results of the behavioral tests have shown that in diabetic rats, anxiety and depression-like behaviors increased however in diabetic rats which are administered melatonin both behaviors decreased. In our study, prefrontal cortexes and hippocampal AGE levels increased, while S100B content decreased with diabetes. It was determined that melatonin administration decreased the levels of AGE in these areas and the S100B levels were kept protected. As a result, behavioral changes associated with diabetes could be prevented by melatonin. We have shown for the first time that antidepressive and anxiolytic effects of melatonin occur by reducing brain tissue AGE levels and maintaining S100B levels.

Keywords: Diabetes, AGE, S100B, Depression-like behavior, Anxiety-like behavior, Melatonin

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ ONAY TUTANAĞI	iii
ÖNSÖZ	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
TABLO DİZİNİ	xii
ŞEKİL DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Diyabetin Tanımı ve Tarihçesi	4
2.2. Epidemiyoloji	4
2.3. Diyabetin Sınıflandırılması	5
2.3.1. Tip 1 diyabet	6
2.3.2. Tip 2 diyabet	7
2.4. Deneysel Diyabet Oluşturulması ve STZ	8
2.4.1. STZ'nin etki mekanizması.....	9
2.4.2. STZ ile indüklenen diyabet hayvan modelleri	11
2.5. Diyabetin Komplikasyonları	12
2.6. Diyabetin Nöropsikiyatrik Komplikasyonları	13
2.7. Diyabet Komplikasyonlarının Patofizyolojisi	13
2.7.1. Polyol yolağının aktivitesinin artması	14
2.7.2. Heksozamin yolağının aktivitesinin artması.....	15
2.7.3. PKC aktivasyonunun artması.....	15
2.7.4. AGE yapımının artması	16
2.7.5. Lipid peroksidasyonu.....	19
2.7.6. ROS üretiminin artması	19
2.7.7. Antioksidan mekanizmalar	20
2.8. Melatonin.....	21
2.8.1. Melatonin metabolizması, sentezi ve reseptörleri.....	22
2.8.2. Bir antioksidan olarak melatonin	25

2.8.3. Bir antiinflatuar olarak melatonin	26
2.9. Diyabette Melatonin Kullanımı	26
2.9.1. Diyabet, depresyon ve anksiyete	26
2.9.2. Diyabet ve melatonin	28
2.9.3. Depresyon ve AGE	32
2.9.4. S100B.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Deney Hayvanları.....	35
3.2. Grupların Oluşturulması.....	35
3.3. Kan Şekerlerinin ve Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi.....	36
3.4. Davranış Testleri	37
3.4.1. Elevated plus maze testi (EPM).....	37
3.4.2. Zorlu yüzme testi (FST).....	38
3.5. Doku Örneklerinin Alınması	39
3.6. AGE ve S100B Düzeylerinin Belirlenmesi.....	39
3.6.1. Fosfat tampon solüsyonun (PBS) hazırlanması	39
3.6.2. Doku homojenatlarının hazırlanması.....	40
3.6.3. AGE tayini	40
3.6.4. S100B tayini	40
3.7. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Davranış Testleri Sonuçları	41
4.1.1. EPM sonuçları.....	41
4.1.2. FST sonuçları.....	45
4.2. S100B Sonuçları	47
4.2.1. PFC S100B sonuçları.....	47
4.2.2. Hipokampus S100B sonuçları	48
4.3. AGE Sonuçları	49
4.3.1. PFC AGE sonuçları	49
4.3.2. Hipokampus AGE sonuçları	50
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
7. KAYNAKLAR	59
8. EKLER.....	74

Ek 1: Etik Kurul Onayı.....	74
9. ÖZGEÇMİŞ	75



SİMGELER VE KISALTMALAR

AANAT	Aralkilamin N-asetiltransferaz
AD	Alzheimer hastalığı
AGE	Advanced glycation end product
AMFK	N1-acetyl-N2-formyl-5 methoxykynuramine
AMK	N1-acetyl-5-methoxykynuramine
AR	Aldoz Redüktaz
ATP	Adenozin trifosfat
BDNF	Beyinden kaynaklanan nörotrofik faktör
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CAT	Katalaz
CRP	C-reaktif protein
CSF	Serebrospinal sıvıda
DAG	Diaçilgliserol
DAG	Diaçilgliserol
DM	Diyabetes Mellitus
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz
EPM	Elevated Plus Maze
FST	Zorlu yüzme testi
GABA	γ -aminobutirik asid
GAD	Glutamik asit dekarboksilaz
GFAP	Glial fibriler asidik protein
GFAT	Glukozamin-6-fosfat amidotransferaz
GPCR	G-protein bağlı reseptörler
GSH	İndirgenmiş Glutasyon
GSHPx	Glutasyon Peroksidaz
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HHA	Hipotalamo-Hipofizer-Adrenal
HIOMT	Hidroksi indol-O-metil transferaz
HPA	Hipotalamo-pitüiter-aks
ICN	İnternal koroid sinir
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IL	İnterlökin

IMLN	İntermediolateral nükleus
i.p	İntraperitoneal
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
MDA	Malondialdehid
NAD⁺	Nikotin adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotide fosfat
NE	Norepinefrin
NF-κB	Nükleer faktör-kappa B
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
Nrf2	Nükleer faktör eritroid 2-ilişkili faktör 2
O₂⁻	Süperoksit radikali
OH⁻	Hidroksil radikali
ONOO⁻	Peroksinitrit
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitör-1
PFC	Prefrontal korteks
PKC	Protein kinaz-C
RAGE	AGE'nin reseptörü
ROS	Reaktif oksijen türleri
S100B	Kalsiyum bağlayıcı protein B
SCN	Suprakiazmatik çekirdek
SF	Serum Fizyolojik
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
STZ	Streptozotosin
TGF-β	Transforming growth factor-β
TNF	Tümör nekrozis faktör
VEGF	Vasküler endotelial growth faktör
β	Beta
3-DG	3-deoksiglukozon

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1: Majör endojen ve ekzojen antioksidanlar.....	21
Tablo 2: Grupların EPM değerleri	41
Tablo 3: Grupların FST Sonuçları.....	45
Tablo 4: Grupların S100B sonuçları (ng/L).....	47
Tablo 5: Grupların AGE sonuçları (ng/L).....	49



ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1: STZ'nin kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2: Streptozotosinin etki mekanizması.....	10
Şekil 3: STZ enjeksiyonundan sonra trifazik kan şekeri ve insülin seviyeleri.....	11
Şekil 4: Aldoz Redüktaz ve Polyol Yolu	14
Şekil 5: Maillard reaksiyonu, polyol yolağı ve lipid peroksidasyonu ile AGE'lerin yapımı.	17
Şekil 6: AGE-RAGE etkileşimi çeşitli hücrelerde oksidatif stres oluşumu ve inflamatuvar, trombojenik ve fibrotik reaksiyonları uyandırır.....	18
Şekil 7: Diyabette ROS'un üretim yolları.....	20
Şekil 8: Aydınlik-karanlık siklusuna göre melatonin sentezi.....	22
Şekil 9: Melatonin üretim yolağı.....	23
Şekil 10: Melatonin sentezi ve görev alan enzimler.....	24
Şekil 11: Diyabetle ortaya çıkan hiperglisemi ve artan oksidatif stresin oluşturduğu patolojik yollar üzerine melatoninin etkisi.....	30
Şekil 12: Diyabet ve hiperglisemi ile ortaya çıkan melatonin sentezinde azalma.....	31
Şekil 13: EPM.....	37
Şekil 14: FST'de tırmanma davranışı.....	38
Şekil 15: FST'de hareketsizlik davranışı.	39
Şekil 16. Tüm grupların EPM testinde açık kola giriş sayısı.	42
Şekil 17. Tüm grupların EPM testinde kapalı kola giriş sayısı.....	43
Şekil 18. Tüm grupların EPM testinde açık kolda kalma süresi (saniye).....	44
Şekil 19. Tüm grupların EPM testinde kapalı kolda kalma süresi.....	45
Şekil 20. Tüm grupların zorlu yüzme testinde hareketsizlik süresi (saniye).....	46
Şekil 21. Tüm grupların zorlu yüzme testinde hareketsizlik süresi (saniye).....	47
Şekil 22. Tüm grupların PFC'den alınan doku örneklerinin S100B (ng/L yaş doku) düzeyleri.	48
Şekil 23. Tüm grupların hipokampüsten alınan doku örneklerinin S100B (ng/L yaş doku) düzeyleri.	49
Şekil 24. Tüm grupların PFC'den alınan doku örneklerinin AGE (ng/L yaş doku) düzeyleri.....	50
Şekil 25. Tüm grupların hipokampüsten alınan doku örneklerinin AGE (ng/L yaş doku) düzeyleri.	51

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus (DM) dünyadaki en yaygın endokrin metabolik hastalık olup pankreas, retina, periferik ve santral sinir sisteminde fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır. İnsanlarda ve hayvan çalışmalarında diyabetin santral sinir sisteminde yapısal değişikliklere neden olarak kognitif ve affektif hastalıklara neden olabileceği ve sonuçta vasküler kökenli beyin komplikasyonlarını artırdığı bildirilmektedir (1). Bu etkilenmenin sonucunda depresyon ve anksiyete diyabetik kişilerde ve deney hayvanlarında sıklıkla gözlenmektedir (2,3). Diyabet, depresyon ve anksiyete arasındaki etkileşimi ortaya çıkarmak amacıyla birçok fizyopatolojik mekanizma ortaya konmuştur. Bunlar arasında nörotansmitter salınımı ve miktarındaki değişiklikler, hipotalamo-hipofizer aksın fonksiyon bozukluğu, sinaptik plastisitede azalma, inflamatuvar cevap, mikroglial ve astrositlerin aktivasyonu, depresyon ve anksiyete ile ilişkili beyin alanları olan hipokampus ve prefrontal korteks (PFC)'te oksidatif stres artışı yer almaktadır (1,3,4).

Glukozun da aralarında bulunduğu indirgenmiş şekerler Maillard reaksiyonu ile non-enzimatik olarak protein, yağ ve nükleik asitlerin serbest amino grupları ile reaksiyona girer. Bu erken glikasyon ürünleri daha ileri reaksiyona girerek aralarında geri dönüşümsüz çapraz köprülerle heterojen makroprotein türevleri olan advanced glycation end product (AGE)'leri oluşturur. AGE'ler sadece glikoz ile değil aynı zamanda dikarbonil ile (glioksal, metilglioksal gibi) veya hidroksialdehid (glisetaldehid ve glikoaldehid) bileşikleriyle oluşur. AGE'ler oldukça reaktifirler ve çevrelerindeki amino grupları ile etkileşmeye ve çapraz köprü kurmaya devam ederler. Diyabetik hastalarda AGE'lerin birikimi ateroskleroz, miyokardiyal hipertrofi, Alzheimer hastalığı (AD), nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı ve kronik inflamasyon gibi patolojilerle ilişkili olduğu bilinmektedir (5,6). Damarlarda, nöronal ve renal dokularda AGE ve reseptörleri arasındaki etkileşim DM'nin çeşitli komplikasyonlarının oluşumunda önemli rol oynamaktadır (7). AGE birikimi yaşlanma, nörodejenerasyon ve DM ile ilişkili AD patofizyolojisinde rol alır (8). AGE ve serbest oksijen radikalleri (SOR) arasında bir döngü bulunmaktadır: AGE SOR yapımını uyarırken SOR da AGE yapımını uyarır (5,7). Oksidatif stres artışının yanı sıra AGE proapoptotik proteinlerin ve proinflamatuvar genlerin yapımını artırıcı etkiye sahiptir (9). Böylece uzun süreli oksidatif stres artışı nörodejeneratif apoptotik süreçleri başlatmada rol alır (1).

Wang ve arkadaşları (2009) diyabet ile ortaya çıkan depresyon benzeri davranış ve demanstan AGE'nin sorumlu olduğunu bildirmektedir (10). AGE'ler oksidatif stres artışına neden olmaktadır. Artan oksidatif stresin depresif durumlarda rol oynadığı klinik çalışmalarla gösterilmiştir. Depresif hastalarda plazma antioksidan seviyesinde azalma tespit edilmiştir ve bu nedenle antioksidan tedavinin diyabetle ortaya çıkan depresyonu azaltabileceği ileri sürülmektedir (1). Bu bilgileri destekler şekilde, Tang ve arkadaşları (2015) bir antioksidan olan H₂S uygulamasının diyabetik sıçanlarda depresyon benzeri davranışı oksidatif stresi azaltarak etkili olduğunu göstermişlerdir (11).

Astrositler glikojen içermektedirler ve glikojeni laktata dönüştürerek nörona verirler. Astrositlerin bu fonksiyonu diyabetin ileri aşamalarında değişebilmektedir. Astrositler hipergliseminin erken dönemlerinde aktive olarak S100 kalsiyum bağlayıcı protein B (S100B)'nin yapımını arttırdığı gösterilmiştir (12). S100B kalsiyum bağlayıcı bir proteindir ve beyinde glial hücreler tarafından yapılır. S100B salındıktan sonra AGE reseptörlerine bağlanabilir ve çeşitli hücre içi sinyal yollarını aktive edebilir (13,14). S100B özellikle astrositler ve oligodendrositler tarafından yapılır ve salgılanır. Bu nedenle glial hücre aktivasyonunda bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Kandaki S100B seviyesinin değişimi çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda bir belirteç olabileceği bildirilmektedir (15). Majör depresif ve bipolar hasta plazmalarında S100B miktarının arttığı gösterilmiştir (14). Aynı zamanda sıçan depresyon modelinde ve majör depresif insan astrositlerinde S100B immunoreaktivitesinin salgılanmanın artması nedeniyle azaldığı saptanmıştır (15). Diyabetik hayvanlarda astrositlerin reaktivitesini gösteren Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP) ve S100B'nin arttığı gösterilmiştir. Bu reaktif proteinlerin yapımında diyabetle artan SOR'un etkili olduğu ileri sürülmüştür (16).

Melatonin hormonu (N-acetyl-5-methoxytryptamine) pineal bezden sirkadyen ritme bağlı olarak salgılanmaktadır. Melatonin pek çok fizyolojik fonksiyonu ışık-karanlık siklusuna göre kontrol etmektedir. Melatoninin bu siklik salınımının aynı zamanda antioksidan enzimlerin aktivite ve gen yapımlarını kontrol ettiği bildirilmektedir. Melatoninin metabolitleri olan N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AMFK) ve N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK)'nin peroksinitrit (ONOO⁻), nitrik oksit (NO) ve hidroksil (OH⁻) radikallerini ortadan kaldırarak SOR temizleyicileri olduğu bildirilmektedir (9). Melatoninin sıçanlarda pankreas, nöral, renal ve retina gibi dokularda diyabetle ortaya çıkan

komplasyonları azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir. Melatoninin çeşitli deneysel çalışmalarda antioksidan (17-20) ve antiinflamatuvar (21) özellikler gösterdiği saptanmıştır. Melatoninin aynı zamanda mitokondrial elektron sızıntısını engelleyerek mitokondri seviyesinde SOR'un oluşumunu engelleyebilmektedir. Diyabetik hayvanlarda melatonin uygulamasının plazma ve dokularda lipid peroksidasyon düzeylerini azalttığı bildirilmektedir (22,23,24).

DM'de oksidatif stres artışı ve antioksidan defans mekanizmalarının azalması gözlenmektedir. Ayrıca hipergliseminin SOR'u artırarak lipid peroksidasyonuna neden olduğu da bildirilmektedir. Artmış lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitesi depresyonda gözlenen bir durumdur (11,25). Melatoninin bu etkilerinin yanı sıra stres modellerinde antidepresan etkili olduğu da gösterilmiştir (26,27). Bu bulguları destekleyecek şekilde depresyon hastalarının gece melatonin salınımlarının azaldığı da gösterilmiştir (28). Bu çalışmanın amacı diyabetik sıçanlarda antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri bilinen melatonin uygulamasının depresyon ve anksiyete benzeri davranış ile hipokampus ve PFC'de AGE ve S100B protein düzeyleri üzerine etkisini incelemektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Diyabetin Tanımı ve Tarihçesi

DM, insülin salgısı yokluğuna ve/veya hedef dokularda insüline olan duyarlılığın azalmasına bağlı olarak ortaya çıkan karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluklarıyla karakterize bir sendromdur (29).

Diyabet M.Ö.1500'lü yıllarda eski Mısırlılar tarafından fazla idrar yapmakla karakterize bir hastalık olarak tarif edilmiştir (30). Kapadokyalı hekim Aretaeus (M.S. 81-133) hastalığın bazı belirtilerini tanımış ve hastaların kilo kaybetmesini de dikkate alarak '*diabetes*' adını kullanmıştır (31). Yine antik çağ hekimlerinden olan İbn-i Sina (M.S. 980-1037) damar komplikasyonlarından bahsetmiş ve ayaklarda oluşan diyabetik gangreni tanımlamıştır (32). 17.yy'da İngiliz Doktor Thomas Willis hastaların idrarının tadına bakarak tatlı olduğunu tespit etmiş ve idrardaki tatlılığı anlatmak için de '*mellitus*' kelimesini eklemiştir (33). 19.yy'da Fransız fizyolog Claude-Bernard glikozun karaciğerde glikojen olarak depolandığını bulmuştur (34). 1869'da Paul Langerhans, langerhans adacıklarını tanımlamış ve 1889'da Mering ve Minkowski yaptıkları köpek deneyiyle hastalığın pankreasla ilgili olduğunu kanıtlamışlardır (35,36).

Yapılan çalışmaların hepsi hastalığın patogenezinin aydınlatılmasında önemli rol oynamıştır. Fakat etkili bir tedavi yönteminin geliştirilebilmesi 1921 yılında Dr. Frederick Banting ve asistanı Charles Best'in insülini keşfetmesiyle gerçekleşmiştir (31). Yine o yıllarda sığır ve domuz pankreaslarından elde edilen izole insülin ticari olarak satılmaya başlanmıştır. İnsülinin etkinliğinin artırılabilmesi ve toksik etkilerinin azaltılabilmesi için farmakokinetiği değiştirilmiş ve farklı katkı maddeler eklenerek modifiye edilmiştir. 1978 yılında domuz insülininin insan insülinine benzerliği ortaya konulduktan sonra 1982 yılında rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen insan insülini kullanılmaya başlanmıştır (35,37).

2.2.Epidemiyoloji

DM dünyadaki en yaygın endokrin metabolik hastalıktır (1) ve sıklığı tüm ülkelerde artarak devam etmektedir (38). Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) Diyabet Atlası'nın 7. baskısında diyabet prevalansının 2015'ten bu yana dünya

nüfusunun %7.6'sına ulaştığını ve bu değerin özellikle Asya popülasyonlarında yükselmekte olduğu bildirildi (39). IDF tahminlerine dayanarak, diyabet vakalarının %70'inden fazlası gelişmekte olan ülkelerde yaşamaktadır (40). Özellikle son yıllarda hızla gelişmekte olan Çin'in Hindistan'ı da geride bırakarak en çok diyabet hastası olan ülke haline geldiği bildirilmektedir (41).

Ayrıca diyabet prevalansı yaşla birlikte artmaktadır. Diyabet en yoğun 40-59 yaşları arasında görülürken, en yüksek yaşa özgü prevalansın 60-79 yaş arasındaki kişilerde olduğu bildirilmektedir (42). 65 yaş ve üstü bireylerde 2005 ve 2050 yılları arasında diyabet vakalarının 4.5 kat artması öngörülmektedir (43). Gelişmiş ülkelerde diyabet en sık 65 yaş üzeri bireylerde görülürken, gelişmekte olan ülkelerde 45-65 yaş arasında görülmektedir (44).

Diyabet ve komplikasyonları birçok ülkede başlıca mortalite nedenleridir (39). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2015 verilerine göre dünyadaki ölüm nedenleri arasında diyabet 6. sırada yer almaktadır (45). IDF'nin 7. Diyabet atlasına göre her 6 saniye de bir kişi diyabete bağlı hayatını kaybetmektedir ve bu rakam 2015 yılında yaklaşık 5 milyon insan olarak tahmin edilmiştir (39). Diyabete atfedilebilecek mortalitenin en yüksek oranı %25.7 ile 50-59 yaş arasındaki Güneydoğu Asya kadınlarında olduğu bildirilmiştir (46). Ayrıca diyabet 20-79 yaş aralığında yetişkinlerde küresel nedenli tüm mortalitenin %12.8'ini oluşturduğu ve bu ölümlerin 4 milyondan fazlası düşük ve orta gelirli ülkelerde gerçekleştiği bildirilmiştir (47).

IDF'nin verilerine göre Avrupa'da Almanya ve Rusya'dan sonra diyabet prevalansı açısından %12.5 ile 3.sırada Türkiye yer almaktadır ve 6,5 milyon kadar diyabet hastası olduğu bildirilmektedir (39).

2.3.Diyabetin Sınıflandırılması

Hastalıkta izlenecek tedavi yöntemi açısından hipergliseminin patogenezini anlamak oldukça önemlidir. Diyabet vakalarının büyük çoğunluğu tip 1 diyabet ve tip 2 diyabet olarak adlandırılan iki etyopatogenetik kategoriye girmektedir (48). Bu iki tip şeker hastalığının yanı sıra gebe kadınlarda ortaya çıkan ve gestasyonel diyabet olarak adlandırılan diyabet türü de vardır. Gestasyonel diyabet sıklıkla tip 2 diyabet gelişiminden önce gelişmesi nedeniyle önemli olarak görülmektedir (49). Ayrıca genellikle 25 yaşından önce gelişen hiperglisemi ile karakterize, β hücresi işlevinde monogenetik bozukluklarla ilişkili diyabetin diğer spesifik tipleri de tanımlanmıştır (48).

2.3.1. Tip 1 diyabet

Tip 1 Diyabetes Mellitus (Tip 1 DM) pankreasın β hücrelerinin yıkımına bağlı insülin yetersizliği sonucu ortaya çıkan hiperglisemi ve insülinopeni ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır ve tüm diyabetli olguların yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (48). Tip 1 diyabet genellikle 30 yaşın altında ortaya çıkmasından dolayı genç tipi (juvenile onset) diyabet şeklinde tanımlanır (29). IDF'nin 7. Diyabet Atlası'nda dünya çapında 542 bin çocuğun tip 1 diyabetli olduğu ve her yıl 86 bin yeni vakanın teşhis edildiği tahmin edilmiştir (39). Tip 1 diyabette pankreas insülin üretmede başarısız olur, kandaki insülin düzeyi düşer ve sonuçta hiperglisemi oluşur. Bu tip diyabetli kişilerin düzenli insülin enjeksiyonu yapması gerekir, bu nedenle insüline bağımlı DM olarak da adlandırılmaktadır (49). Tip 1 DM'nin kesin nedeni bilinmemekle birlikte, başlıca semptomları sık idrara çıkma, susama, kilo kaybı, ekstremitelerde yorgunluk ve zamanla görme, böbrek fonksiyonu ve duyu/motor sinir fonksiyonlarındaki değişikliklerdir (50).

ADA tarafından yapılan etiyolojik sınıflamada tip 1 diyabetli olguların çoğunluğunu (%90) oluşturan Tip1A formu otoimmün bozukluklarla ilişkilidir (48). Tip1A diyabete sahip hastaların plazmalarında, çoğu β hücreleri tarafından üretilen, Glutamik Asit Dekarboksilaz (GAD), protein tirozin fosfataz benzeri molekül IA-2, insülin, karboksipeptidaz-H, osteopontin, glima 38, Çinko transporter (ZnT8) gibi otoantijenleri yabancı olarak algılayan ve immün yanıt oluşturan otoantikolar mevcuttur (51). Yaygın olarak kabul edilen görüşe göre bu otoantikolar T hücreleri (CD4 + ve CD8+) makrofajlar aracılığıyla hücre sel bağışıklık anormalliklerini oluşturmaktadır (52). Ayrıca otoimmün prosesin potansiyel tetikleyicileri genetik ve çevresel faktörleri içerebilmektedir (53).

Tip 1 diyabette genetik yatkınlık gözlenmektedir (29). Genetik anormallikte farklı farklı genlerin rol oynadığı bilinmesine rağmen esas olarak 6.kromozomun kısa kolunda yer alan MHC (Major Histocompatibility Complex)'deki insan lökosit antijeni (HLA) önemlidir (54). Otoimmünite ve genetik faktörlerin dışında üzerinde durulan bir diğer önemli konu ise çevresel faktörlerdir (53,55). Çevresel faktörlerin genetik yatkınlığı bulunan bireylerde anormal otoimmün yanıtın başlamasında tetikleyici, bazense baskılayıcı rol oynadığı düşünülmektedir (56). Tip 1 DM ile ilişkisi olduğu bilinen çevresel faktörlerin başında viral enfeksiyonlar, toksinler, diyet ve stres gelmektedir (57). Ayrıca bazı kimyasal ajanların ve ilaçların da

pankreasın β hücrelerinde haraplanma yaparak Tip 1 DM gelişimini kolaylaştırdığı saptanmıştır (48,58). Özellikle kemirgenlerde tek doz streptozotosin (STZ) enjeksiyonu ile tip 1 diyabet oluşturulabilmektedir (58).

2.3.2. Tip 2 diyabet

Tip 2 Diabetes Mellitus (Tip 2 DM), insülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisindeki kusurlardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize edilen metabolik bir hastalıktır (53). Tüm diyabetli olguların yaklaşık %90'ını oluşturan tip 2 diyabet (48), sıklıkla 40 yaşından sonra gelişir ve bu nedenle yetişkin başlangıçlı diyabet olarak da adlandırılmaktadır (29,48). Sık idrara çıkma, susuzluk hissi ve kilo kaybı gibi semptomları olmakla birlikte bu semptomlar çok şiddetli değildir. Bu yüzden hastalığın teşhisi zaman alabilir (50). Tip 2 diyabetli bireyler genellikle yaşamlarını devam ettirebilmek için insülin tedavisine ihtiyaç duymazlar ve çoğunlukla oral alınan antidiyabetik ilaçlar kan şekeri seviyesini kontrol etmeye yardımcı olur (48).

IDF'nin 7. Diyabet Atlası'nda dünya çapında 20-79 yaş aralığındaki yaklaşık 415 milyon yetişkinin diyabetli olduğu ve artan şehirleşme, nüfusun yaşlanması, ekonomik kalkınma, sağlıksız beslenme alışkanlıkları, yetersiz fiziksel aktivite gibi faktörler göz önünde bulundurularak bu rakamların daha da yükselebileceği tahmin edilmektedir (39).

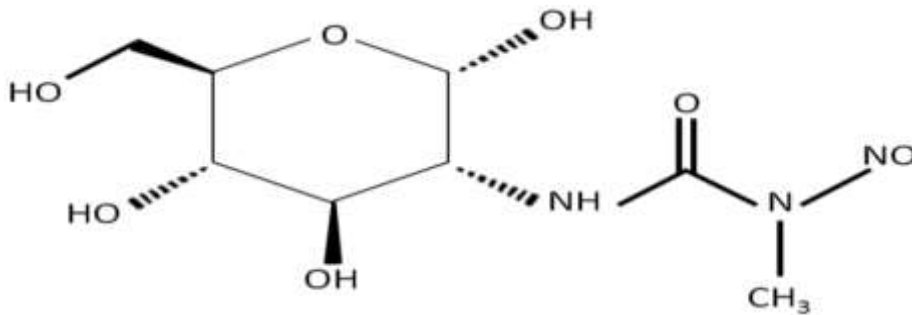
İnsülin direnci ve pankreatik β hücrelerinden yetersiz insülin sekresyonu gibi altta yatan mekanizmalar hastalığın seyrini belirler (53). Başlangıçta, pankreatik β hücreleri insülin direncine cevap olarak insülin sekresyonunu arttırarak hiperinsülinemi ortaya çıkar. İlerleyen zamanlarda β hücre morfolojisi bozulmaya başlarsa insülin üretimi insülin direncinin üstesinden gelmek için yetersiz kalır ve kan şekeri seviyeleri yükselebilir (59). Hiperglisemiye uzun süre maruziyet ise mikro ve makrovasküler kökenli diyabetik komplikasyonların oluşmasında önemli rol oynar (50).

Obez ya da aşırı kilolu olmak bir miktar insülin direncinin oluşmasına neden olduğundan obezite tip 2 diyabet için önemli bir risk faktörüdür. Bu tip diyabette tip 1 diyabette olduğu gibi otoimmünite bulguları yoktur (48). Fakat genetiğin önemli rol oynadığı düşünülmektedir (29). Obezite ve genetiğin yanı sıra artan yaş, sedanter yaşam, polikistik over sendromu, gebelik sırasında diyabet öyküsü, hipertansiyon, dislipidemi, mevcut veya geçmişte kardiyovasküler hastalık (KVH)'lar tip 2 diyabet için tanımlanmış diğer risk faktörleridir (50).

2.4.Deneysel Diyabet Oluşturulması ve STZ

Diyabet araştırmalarında, deneysel diyabet hayvan modellerinin oluşturulabilmesi, insan deneklerinde gereksiz ve etik açıdan zorlayıcı araştırmalardan kaçınmaya ve bu hastalığın kapsamlı bir bilimsel görüşünü elde etmeye yardımcı olan önemli bir araçtır (49). Fare, sıçan, maymun ve tavşan gibi birçok hayvan türü ile deneysel diyabet modelleri oluşturulabilmektedir (60). Ayrıca kimyasal ya da cerrahi olarak indüklenen, diyetle indüklenen ve şimdi transjenik veya knock-out türevli DM modelleri gibi çeşitli yöntemler olmasına rağmen, bu teknikler için gereken süre ve önemli kaynaklardan dolayı, kimyasal olarak üretilen DM, en hızlı ve en uygun maliyetli seçenektir (61,62). Bu patolojik durum için sıklıkla tercih edilen diyabetojenikler ise; alloxan ve STZ'dir (49). 1963'te ilk defa diyabet oluşturduğu tespit edildikten sonra STZ, deneysel diyabet oluşturmasının yanısıra hastalık patolojisini ve hastalığa bağlı komplikasyonları anlamada ayrıca yeni antidiyabetik ilaçları geliştirebilmek için planlanan araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (63).

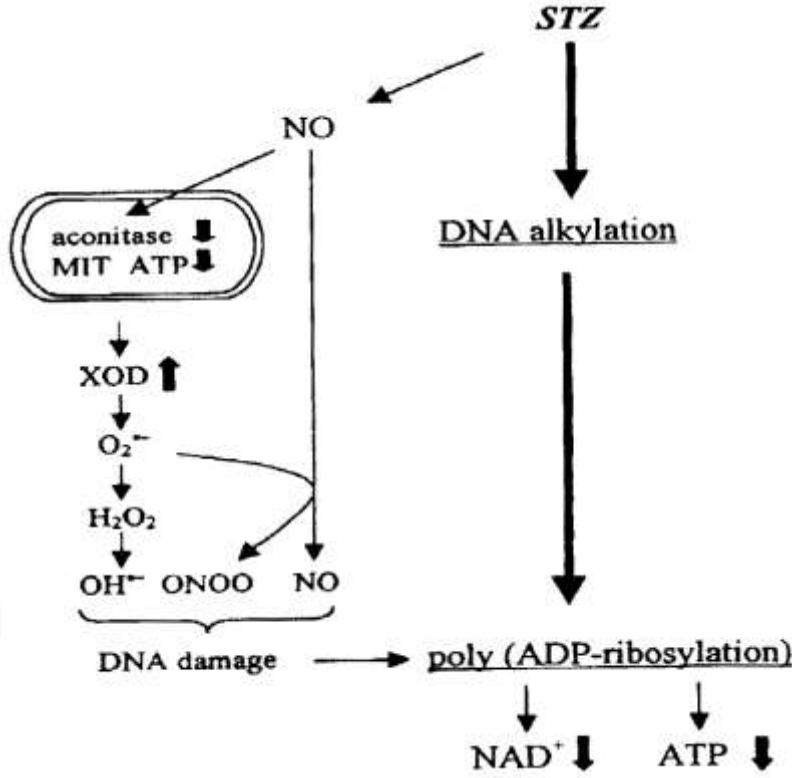
Temelde antimikrobiyal bir ajan olan STZ hala klinik olarak pankreastaki metastatik adacık hücreli karsinomanın tedavisi için kullanılmaktadır (63) ve kimyasal formülü 2-deoksi-2-[3-metil-3-nitrozoure] 1-D-glukopiranoz olarak bilinir (58) (Şekil 1). Kimyasal yapısında glukoz ihtiva eden STZ pankreasın β hücreleri içerisine GLUT-2 glukoz taşıyıcıları tarafından alınmaktadır ve burada spesifik kimyasal özellikleri, yani alkilendirme potansiyeline bağlı olarak sitotoksositeye neden olmaktadır (61). Fakat bu sitotoksosite sadece β hücreleriyle sınırlı değildir. GLUT-2 taşıyıcıları pankreas dışında böbrek ve karaciğerde de bulunmaktadır ve bu nedenle yüksek doz STZ bu organlarda da haraplanmaya neden olabilmektedir (63).



Şekil 1: STZ'nin kimyasal yapısı (61).

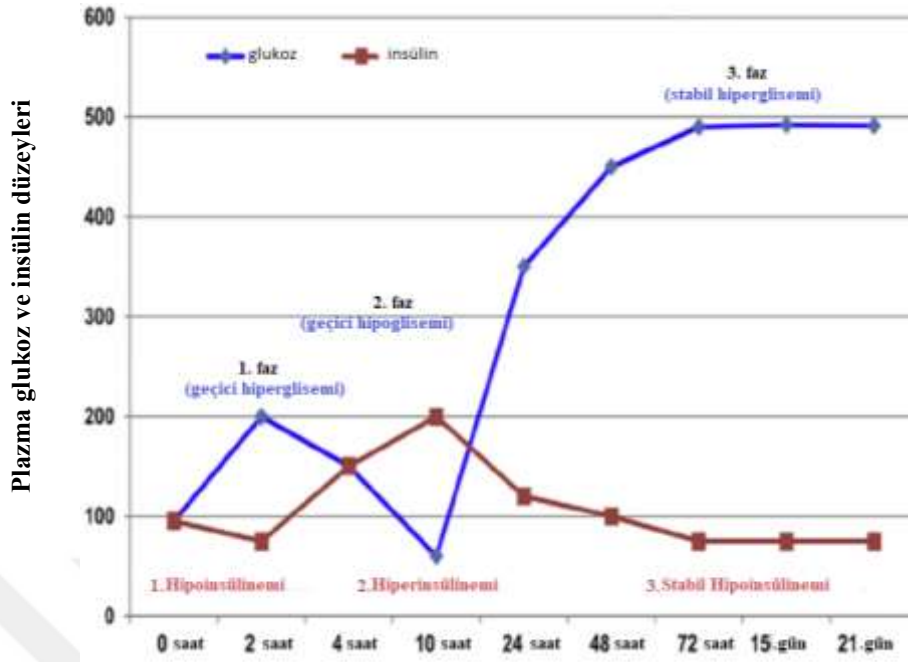
2.4.1.STZ'nin etki mekanizması

STZ uygulamasından sonra insüline bağımlı diyabet, en az üç mekanizma aracılığıyla oluştuğu varsayılmaktadır. Bu mekanizmalardan birincisi ve en muhtemel mekanizması olarak kabul edilen STZ, GLUT-2 taşıyıcıları ile β hücreleri içine alındıktan sonra kimyasal yapısındaki nitrozüre gruplarının dekompozisyonu ile DNA bazlarında alkilasyona neden olur (49). DNA'nın tahrip edilmesi, aşırı uyarılmış olan poli (ADP-riboz) polimeraz-1'i (PARP-1) aktive eder ve hücrenel nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺) ve adenzin trifosfat (ATP) depolarını azaltır. β hücrelerinin ATP'sinin azaltılması ise β hücresi nekrozuyla sonuçlanır (58). STZ'ye bağılı oluşan DNA hasarında rol oynadığı düşünölen bir diğer mekanizma ise hücre içine alınan STZ'nin NO yapımını artırması sonrasında NO'nun süperoksit anyonu (O₂⁻) ile etkileşime girerek peroksinitrit oluşturmasıyla gerçekleşir (64). NO'nun toksik miktarlarda açığa çıkması, mitokondriyal DNA'yı koruyucu enzim olan akonitazı inhibe eder. (61). Son olarak da, STZ, DNA fragmantasyonuna katkıda bulunan reaktif oksijen türleri (ROS)'ni de oluşturmaktadır (65). NO ve ROS ayrı ayrı hareket ederek ya da oldukça toksik peroksinitrit oluşturarak DNA parçalanmasına ve STZ'nin neden olduğu diğer zararlı değişikliklere katkıda bulunabilir. Akonitaz, peroksinitrit içeren reaktif azot türleri ile birlikte süperoksit ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi ROS tarafından engellenmektedir (64). Süperoksit oluşumu, STZ'nin mitokondri üzerindeki etkisinden ve artmış ksantin oksidaz aktivitesinden kaynaklandığı düşünölmektedir (62). Tüm bu üç patolojik mekanizma da esas hedef β hücrelerindeki DNA alkilasyonudur (60) (Şekil 2).



Şekil 2: Streptozotosinin etki mekanizması. (MIT: mitokondri, XOD: ksantin oksidaz) (62).

STZ ilk olarak β hücrelerinin glukozaya yanıtını ortadan kaldırarak devamında kalıcı β hücre hasarı ve kaybına yol açtığı düşünülmektedir (61). β hücrelerindeki STZ etkisine, kandaki insülin ve glukoz düzeylerindeki değişiklikler eşlik eder (62). Aç bırakılan sıçanlara STZ uygulamasından 2 saat sonra kandaki insülin düzeyinde düşüşe bağlı hiperglisemi, yaklaşık 6 saat sonrasında ise kandaki insülin düzeyindeki yükselmeye bağlı hipoglisemi gözlenir (62,65) (Şekil 3). Sonuçta STZ ile indüklenen hayvanlarda insan Tip 1 DM'nin karakteristik özellikleri olan insülin eksikliği, hiperglisemi, polidipsi ve poliüri gözlenir (60).



Şekil 3: STZ enjeksiyonundan sonra trifazik kan şekeri ve insülin seviyeleri (64).

2.4.2. STZ ile indüklenen diyabet hayvan modelleri

STZ ile hem deneysel tip 1 diyabet hem de tip 2 diyabet modelleri oluşturulabilmektedir (60). Tip 1 diyabet, kemirgenlerde tek bir STZ enjeksiyonu ile indüklenebilirken, tip 2 diyabet için kemirgen diyetinde değişiklik ya da farklı bir ilaçla kombinasyon yapılması gerekmektedir (49,58). Bununla ilgili literatürde tanımlanmış 3 farklı yaklaşım vardır ve bunlar; ‘yağlı beslenme ve STZ’, ‘nicotinamide-STZ’ ve ‘fruktozdan zengin beslenme ve STZ’ modelleridir (63). STZ diğer bir diyabetojenik ajan olan alloxana kıyasla daha geniş doz aralığına sahiptir ve hem sıçanlarda hem de farelerde tercih edilebilmektedir (62). Genel olarak sıçanlarda Tip I diyabet oluşturmak için 40-60 mg/kg doz aralığı intravenöz veya intraperitoneal (i.p) olarak tek bir doz uygulanması yeterli olmaktadır 40 mg/kg’ın altındaki dozlarda etkinlik göstermeyebilmektedir (61). Fakat β hücrelerine doğrudan toksik etki ile şiddetli tip 1 DM oluşturulmak istenen deneylerde yüksek tek doz STZ dozu tercih edilmektedir (63).

2.5.Diyabetin Komplikasyonları

DM akut ve kronik komplikasyonlara neden olabilen morbidite ve mortalitesi yüksek bir hastalıktır (66). Bu komplikasyonların gelişimi kronik hiperglisemi, dislipidemi ve oksidatif stresin neden olduğu bir dizi pro-inflamatuar ve pro-fibrotik yolağın aktivasyonu ile ilişkilidir (67).

Diyabetik ketoasidoz (DKA), hiperglisemik hiperosmolar sendrom (HHS), hipoglisemik koma başlıca akut komplikasyonlarıdır. DKA, diyabetin en sık görülen akut hiperglisemik komplikasyonudur ve hiperglisemi, asidoz ve ketonüri triadından oluşur (68). HHS ise DKA'ya kıyasla daha nadir gelişen ve daha yüksek hiperglisemi, ozmotik diürez, düşük ketoasidoz ve daha ağır dehidratasyona neden olan fatal bir akut komplikasyonudur (69).

Kronik komplikasyonları mikrovasküler ve makrovasküler patolojiler olmak üzere iki grupta incelenmektedir (70). Kronik komplikasyonların gelişmesi hiperglisemiye maruziyet süresiyle doğrudan ilişkilidir. Diyabete özgün mikrovasküler patolojiler sıklıkla retina, renal glomerül ve periferik sinirlerde gelişmektedir. Hiperglisemi kontrol altına alınmadığında körlüğe, son dönem böbrek yetmezliğine ve nöropatiye yol açmaktadır. Makrovasküler komplikasyonlar ise; KVH, serebrovasküler hastalıklar, periferik damar hastalığı ve diyabetik ayak olarak gruplandırılmaktadır ayrıca miyokard infarktüsü, inme ve ekstremitte amputasyonları gözlenen bu komplikasyonlar arasındadır (71).

Diyabette makrovasküler kaynaklı hastalıklar daha erken gelişir. Bunun en önemli nedeni ve ilk adımı olarak ateroskleroz gösterilmektedir. Yapılan araştırmalar, diyabetin hem insanlarda hem de hayvan modellerinde aterosklerozu hızlandırdığı görüşündedir (72). Ateroskleroz dünyadaki yetişkinlerde görülen en yaygın morbitide ve mortalite nedenidir. Diyabette ateroskleroza bağlı olarak %55 ölümlerden koroner arter hastalığı sorumludur. Son yıllarda yapılan çalışmalar, aterosklerozun inflammatuar bir hastalık olduğunu ve yüksek duyarlı C-reaktif protein (hsCRP)'in serumdaki yükselmesini bu inflamasyonun bir göstergesi olarak kabul etmektedir (73). Shin ve arkadaşlarının (2013) yaptığı çalışmada vasküler kökenli komplikasyonlarla ilişkili olarak özellikle diyabetli hastalarda hsCRP düzeyleri hipertansif gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bunun sonucunda ise diyabetik grupta, hipertansif gruba kıyasla endotel disfonksiyonunun daha hızlı ilerlediği bildirilmiştir (74). Aterosklerozun patogenezinde AGE'lerin, endotel ve

endotel öncü hücreler üzerinde pro-apoptotik etki ile endotel disfonksiyonunda rol oynadığı bildirilmektedir. Ayrıca endotel yenilenmesi, vazodilatasyon, trombosit agregasyonu ve lökosit kemotaksisinin inhibisyonunda rol oynayan NO'nun üretimi ve aktivasyonu yine AGE'ler tarafından bozulabilmektedir (75).

2.6.Diyabetin Nöropsikiyatrik Komplikasyonları

Diyabet birçok sistem ve organı etkileyen kronik bir hastalık olmasına rağmen genellikle gözler, böbrekler ve periferik sinir sisteminde oluşturduğu bozukluklar üzerinde durulmaktadır. Aslında diyabet serebral metabolizma için sürekli glikoza ihtiyaç duyan beyni de önemli ölçüde etkileyebilir, geçici veya kalıcı bilişsel anormallikleri indükleyebilir (76). İnsanlarda ve hayvan çalışmalarında diyabetin santral sinir sisteminde yapısal değişikliklere yol açarak kognitif ve affektif hastalıklara neden olabileceği ve sonuçta vasküler kökenli beyin komplikasyonlarını artırdığı bildirilmektedir (1,19,25).

Diyabette depresyon ve anksiyete gibi nöropsikiyatrik hastalıklar sıklıkla gözlenmektedir. Diyabet ile karakterize edilen vasküler endotel disfonksiyonu özellikle de majör depresyon gibi nörolojik bozukluklarda önemli rol oynamaktadır. Beyinde oluşacak nöroinflamasyon ve oksidatif stres, kan beyin bariyerinin yüksek geçirgenliği ile nörovasküler disfonksiyona mekaniksel olarak bağlıdır (77). Ayrıca uzun süreli yapılan epidemiyolojik araştırmalara göre diyabetli bireylerde AD ve vasküler demansın görülme sıklığı diyabetli olmayan bireylere göre daha yüksektir (78). Diyabet, AD'nin gelişmesini, kronik hiperglisemiye bağlı AGE'lerin artması, beyindeki anormal insülin sinyali, tekrarlayan hipoglisemi, oksidatif stres, ateroskleroz ve vasküler lezyonlar yoluyla kolaylaştırabilmektedir (79).

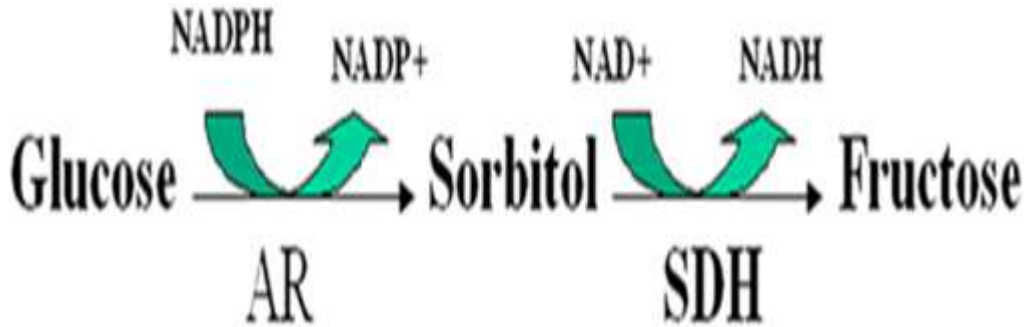
2.7.Diyabet Komplikasyonlarının Patofizyolojisi

Diyabetin kronik komplikasyonlarının gelişiminde hipergliseminin indüklediği hemodinamik ve metabolik yolların aktivasyonu önemli rol oynamaktadır. En iyi tanımlanmış hipergliseminin neden olduğu hasar mekanizmaları; polyol yolağının aktivitesinin artması, heksozamin yolağının aktivitesinin artması, diaçilgliserol-protein kinaz C (PKC) aktivasyonunun artması, AGE yapımının artmasıdır (80). Fakat bu yolların aktivasyonu için sadece

hipergliseminin etkisi yeterli olmayabilir (81). Yine diyabette gelişen dislipidemi, artmış oksidatif stres ve antioksidan kapasitesindeki düşüşler, inflamatuvar hadiseler ve diyabette vasküler komplikasyonlar ile ilişkili sinyal yollarını etkileyen ekstrasellüler değişiklikler fizyopatolojik sürecin temel mekanizmalarından olduğu kabul edilmektedir (66). Ayrıca ROS bu yollarda ortak bir alt akış aracı olduğu da bilinmektedir (67).

2.7.1. Polyol yolağının aktivitesinin artması

Aldoz Redüktaz (AR); polyol yolağın birinci ve hız sınırlayıcı aşamasını oluşturur. AR nikotinamid adenin dinükleotide fosfat (NADPH) bağımlı, monomerik bir enzimdir. Hiperglisemik ortamda, yüksek glukoz seviyesi polyol yolağı aktive eder ve NADPH'nin kofaktörlüğü sayesinde glukoz enzimatik konversiyon ile sorbitole dönüşür. Daha sonra NAD⁺'nin NADH'e indirgenmesi ve sorbitol dehidrogenaz enzimi (SDH) aracılığıyla fruktoz oluşur (82) (Şekil 4). Kronik hiperglisemiye bağlı polyol yolağın aktivitesinin artması, NADPH / NADP oranını değiştirir; glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GPx) sistemini zayıflatır; indirgenmiş glutatyon / oksitlenmiş glutatyon (GSH / GSSG) oranını düşürür (83). GSH düzeyi düşünce hücresel antioksidan seviyesi düşer, ROS üretimi artar ve oksidatif stres oluşur. Bu nedenle, polyol yolu aynı zamanda bir oksidatif stres kaynağıdır (84). Ayrıca glukozun sorbitole dönüşmesinde bir AGE öncülü olan 3-deoksiglukozon (3-DG) oluşur. Bu reaktif dikarbonil bileşiği daha sonra non-enzimatik reaksiyonlara girerek AGE'leri oluşturur. Dolayısıyla polyol yolağı AGE'lerin oluşumunu kolaylaştırarak da diyabetik komplikasyonların patofizyolojisinde önemli rol oynar (85).



Şekil 4: Aldoz Redüktaz ve Polyol Yolu (82).

2.7.2.Heksozamin yolağının aktivitesinin artması

Hiperglisemi ve/veya insülin direnci bu yolağın aktivasyonunu tetikler ve burada hız sınırlayıcı enzim glukozamin-6-fosfat amidotransferaz (GFAT)'tır. GFAT glikoliz yolağındaki aşırı birikmiş fruktoz-6- fosfatı glukozamin-6-fosfata yönlendirir (80). Yolu ana ürünü uridin difosfo-N-asetil glukozamin (UDP-GlcNAc) 'dir. O-GlcNAc artışı, sıklıkla serin fosforilasyonuna ve vasküler düz kas hücrelerinde transkripsiyon faktörü Sp1 etkisiyle plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), transforming growth factor- β (TGF- β 1) gibi faktörlerinde artışına yol açar. Bu yolun da ROS üretimi ve oksidatif stres ile ilgili olduğu ve diyabetik komplikasyonlarda rol oynadığı bilinmektedir (84).

2.7.3.PKC aktivasyonunun artması

Memeli dokularında yaygın olarak bulunan PKC en az 12 izoformlu serin / treonin kinaz ailesinden oluşur. Hipergliseminin yol açtığı diaçilgliserol (DAG) artışı bu izoformların çoğunu aktive eder. Ayrıca bu izoformların aktivitesi Ca^{+2} iyonuna ve fosfotidilserine bağlıdır. PKC, vasküler hücrelerin geçirgenliğinin düzenlenmesi, hücre dışı matris sentezi, hücre büyümesi, anjiyogenez ve vasküler düz kas kontraktilesinin regülasyonu gibi çeşitli vasküler fonksiyonların sinyal iletiminde rol oynayan düzenleyici bir enzimdir (81). Ayrıca PKC hedef proteinleri fosforile eder, çeşitli sitokinlerin yapımında da artışa neden olur. Örneğin, PKC aktivasyonu ile endotelin 1, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS), vasküler endotelial growth faktör (VEGF), transforming growth factor- β (TGF- β), PAI-1 gibi mediatörlerin sentezi artar. Bunlar vasküler geçirgenlikte artış, kollagen ve fibronektin birikimine bağlı damar yapısında ve kan akımında bozulmalara neden olur. Ayrıca PKC, mitokondriyal NADPH oksidazı aktive ederek oksidatif stres oluşturur. Bazı PKC izoformlarının hiperglisemi sonucu gelişen SOR ile indüklenen doku hasarına neden olduğu bilinmektedir (80). Yapılan çalışmalarda AGE'lerin ve oksidanların DAG düzeylerini artırarak PKC'yi aktive edebileceği yönünde sonuçlara ulaşılmıştır (86).

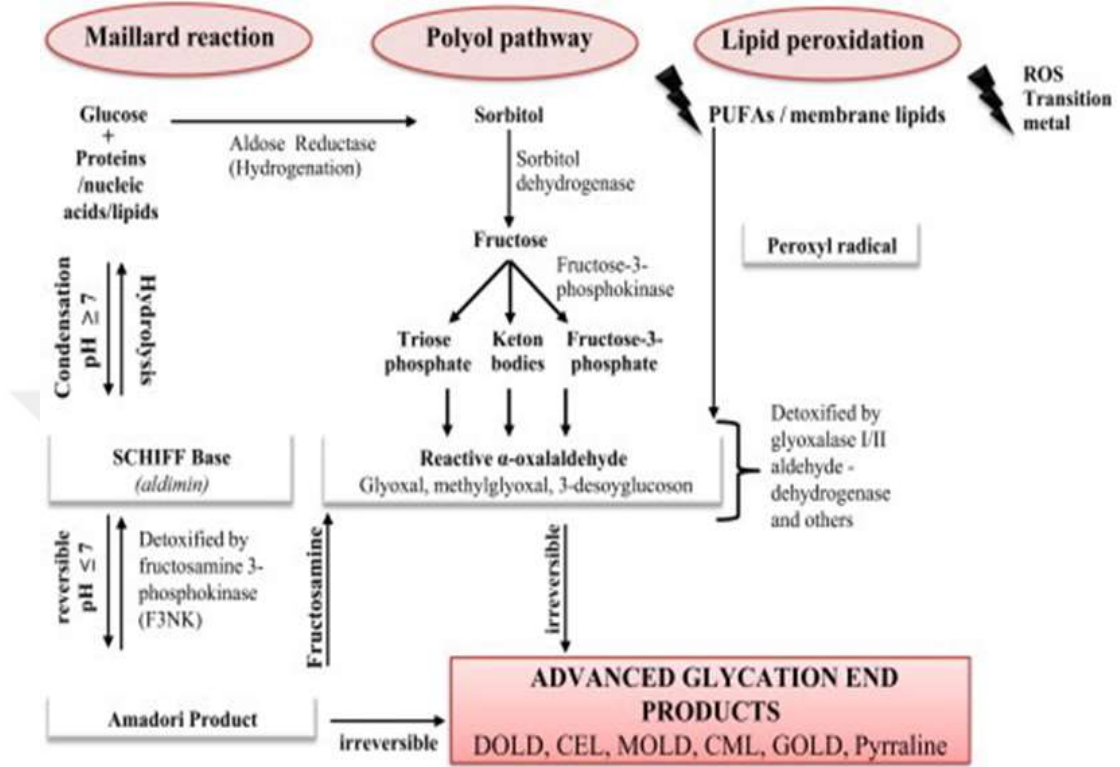
2.7.4.AGE yapımının artması

AGE'ler sarı-kahverengi renge sahip bir otofloresanstır ve intra-intermoleküler çapraz bağlar ile karakterize heterojen bileşiklerdir (87). AGE oluşumu esasında glukozunda aralarında bulunduğu indirgen şekerler protein, yağ ve nükleik asitlerin serbest amino grupları ile reaksiyona girer. Bu bileşikler arasında spontan ve non-enzimatik olarak gerçekleşen biyokimyasal tepkime glikasyon ya da Maillard reaksiyonu olarak adlandırılır (88). Bu reaksiyonda saatler içerisinde indirgen şekerlerin karbonil grubu ile proteinlerin serbest amino grubu arasında geri dönüşümlü Schiff bazı oluşur ve daha sonra günler içerisinde HgA1c gibi erken glikasyon ürünleri yani amadori ürünleri oluşur. Schiff bazının yeniden düzenlenmesi, proteinlerin serbest amino gruplarına, glikoz miktarına ve bir alkalın pH değerine bağlıdır (85). Bu erken glikasyon ürünleri daha ileri reaksiyona girerek aralarında geri dönüşümsüz çapraz köprülerle heterojen makroprotein türevleri olan AGE'leri oluşturur. AGE'ler oldukça reaktiftirler ve çevrelerindeki amino grupları ile etkileşmeye ve çapraz köprü kurmaya devam ederler (5,6). Normalde AGE'lerin oluşum süreci yavaş ilerlerken diyabette kronik hiperglisemiye bağlı olarak oluşumları daha hızlıdır ve hücre dışı matrikste artış gösterir (80). AGE'ler sadece glukoz ile değil aynı zamanda dikarbonil (glioksal, metilglioksal gibi) veya hidroksialdehid (glisetaldehid ve glikoaldehid) bileşikleriyle lipit peroksidasyonu ve inflamatuvar cevap yoluyla da üretilebilir (5,6) (Şekil 5).

Hiperglisemide artmış ROS lipit peroksidasyonuna neden olduğu bildirilmektedir. Biyolojik zarların ana bileşenleri olan çoklu doymamış yağ asitleri ROS tarafından saldırıya uğradığında gelişen bir dizi reaksiyon zinciri sonrasında lipit peroksidasyonu meydana gelir. Lipit peroksidasyonu ile oluşan glioksal, metilglioksal ve 3-deoksiglukoson gibi reaktif dikarbonil bileşikleriyle AGE öncülleri olarak kabul edilir. Dikarbonil bileşiklerin reaktivite derecesi oldukça yüksektir ve proteinlerin terminal aminoasit rezidüsüyle non-enzimatik reaksiyona girerek AGE oluşumuna yol açabilmektedir (85).

Son dönemlerde hipergliseminin indüklediği hasar mekanizmaları arasında etkileşim olduğunu kabul eden çalışmaların sayısı giderek artmaktadır ve özellikle AGE'nin hızlandırılmış oluşumu ve AGE'nin reseptörü (RAGE) ile olan etkileşimi üzerinde durulmaktadır. Diyabetli bireylerde kronik hiperglisemi ve oksidatif stres etkileri ile serum ve doku düzeyi AGE seviyeleri sağlıklı bireylere nispeten daha

yüksek bulunmuştur (67). Ayrıca birçok araştırmacı, AGE'nin reseptörüne bağlanması in vitro modellerde ROS ürettiğini ve çeşitli hücre tiplerinde apoptozu indüklediğini bildirmiştir (89).

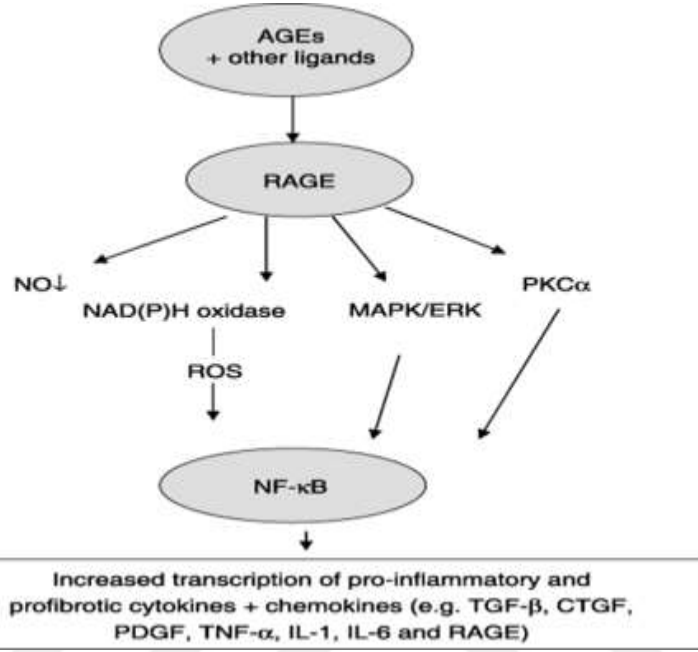


Şekil 5: Maillard reaksiyonu, polyol yolağı ve lipid peroksidasyonu ile AGE'lerin yapımı (85).

2.7.4.1. AGE reseptörleri

AGE ve AGE tarafından yapısal değişikliğe uğramış proteinleri bağlayabilen RAGE, AGE-R1, AGE-R2, AGE-R3 gibi reseptörler ve hücre yüzeyi molekülleri tespit edilmiştir. AGE'nin RAGE ile etkileşimi diyabet, inflamasyon, nörodejenerasyon gibi çeşitli hastalıkların gelişimde rol oynadığı bilinmektedir (14). RAGE immüno globülin süper ailesinin çok ligandlı bir sinyal iletim reseptörüdür (90). RAGE vasküler hücreler, inflamatuvar hücreler, glomerüler epitel hücreleri, santral ve periferik sinir sistemi nöronları, kardiomyositler gibi çeşitli hücre tiplerinde eksprese edilirler (91). AGE-RAGE etkileşiminin, çeşitli hücrelerde oksidatif stres oluşumu ve inflamatuvar, trombojenik ve fibrotik reaksiyonları uyardığını ve dolayısıyla diyabetin vasküler komplikasyonlarında merkezi bir rol oynadığı bildirilmiştir (7) (şekil 6). Ayrıca RAGE'ye bağlanan ligandlar; RAGE'nin

ekspresyonunu artırır. Yapılan deneylerde RAGE'nin ekspresyonu sağlıklı insanlarda ve hayvan modellerinde düşük seviyelerdeyken, KVVH, diyabet, inflamasyon, tümörler ve nörodejenerasyon gibi hastalıkların varlığında daha yüksek seviyelerde olduğu bildirilmektedir (91).



Şekil 6: AGE-RAGE etkileşimi çeşitli hücrelerde oksidatif stres oluşumu ve inflamatuvar, trombojenik ve fibrotik reaksiyonları uyandırır (72).

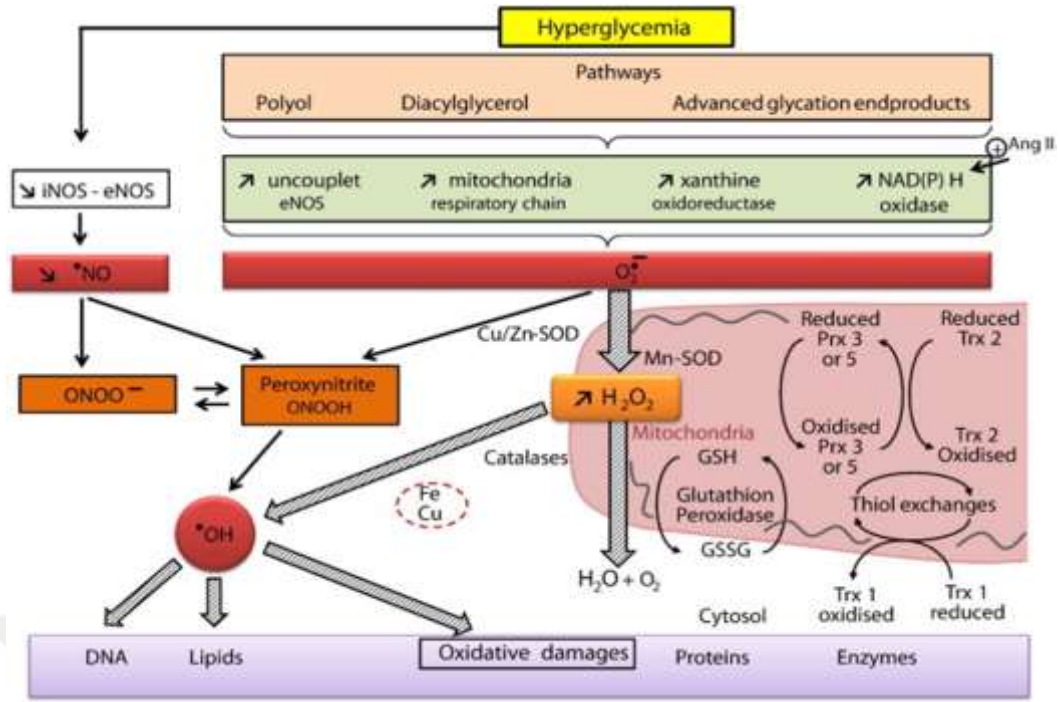
RAGE'ler AGE dışında farklı ligandları da bağlayabilir ve bunlardan bazıları S100 / kalgranulin familyasının birçok üyesi, yüksek mobilite grup kutusu 1 (HMGB1), amiloid β -peptid ve β -tabakalı fibriller, lizofosfatidik asit (LPA), membran atak kompleksi 1 (Mac1) ve kompleman komponent (C1q)'dir (91). S100 proteinlerinin tanımlanmış en az 25 üyesi vardır ve hücrel kalsiyum homeostazını düzenleyen, hücrel fonksiyonlarla ilgili çeşitli enzimleri modüle edebilen kalsiyum bağlayıcı proteinlerdir (92). Bu üyelerden S100B, S100A4, S100A6, S100A11, S100A12, S100A13 ve S100P'nin RAGE ile hücre dışı özelliklerinin değişebileceği gösterilmiştir(93). S100B'nin AGE'ye nispeten daha düşük konsantrasyonlarda bile RAGE'yi aktive edebileceği bildirilmiştir (6,14,80,91). S100B salındıktan sonra AGE reseptörlerine bağlanabilir ve çeşitli hücre içi sinyal yollarını aktive edebilir (13,14).

2.7.5.Lipid peroksidasyonu

Hipergliseminin ROS'u artırarak lipid peroksidasyonuna neden olduğu da bildirilmektedir (11,25). Biyolojik zararın ana bileşenleri olan çoklu doymamış yağ asitleri ROS tarafından saldırıya uğradığında lipid peroksidasyonu gerçekleşir. İlk olarak peroksil radikali gibi oldukça reaktif ürünler oluşur ve daha sonra lipid hidroperoksitler ve hidrojen peroksit üreten daha ileri oksidasyona neden olur. En nihayetinde ise malondialdehit (MDA), 4-hidroksi-trans-2-nonenal (HNE) ve a-oksoaldehidler (glioksal, metilglioksal, 3-deoksiglokson ve akrolein) gibi reaktif karbonil türleri oluşur. (85). Diyabette enzimatik ve enzimatik olmayan oksidatif stres belirteçlerini değerlendiren çalışmalarda, toplam süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ve lipid peroksidasyonu diyabetiklerde sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğunu gösterilmiştir. Dahası lipid peroksidasyonu hem hipertansif-diyabetik hem de diyabetik-normotensif gruplarda sadece hipertansif ya da normotensif olan kontrollere kıyasla belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir (94).

2.7.6.ROS üretiminin artması

ROS, normal hücre metabolizmasının yan ürünüdür ve süperoksit, peroksinitrit, hidroksil, NO gibi serbest radikalleri ve hidrojen peroksit gibi radikal olmayan bir dizi molekül ailesini temsil eder (95). Memeli hücrelerinde ROS üretiminin ana kaynağı mitokondrilerdir (83). Mitokondriyal elektron taşıma zinciri ile süperoksidin aşırı üretilmesi ise diyabetik komplikasyonların patolojisinde rol oynayan AGE yolağının, polyol yolağının, heksozamin yolağının, PKC aktivasyonunun artmasına neden olur (80). Ayrıca ROS ile AGE'ler arasında pozitif geri besleme döngüsü bulunmaktadır. Hiperglisemide artmış ROS, lipidlerin ve glukozun oksidasyonunu hızlandırarak AGE'lerin hızlandırılmış oluşumuna neden olurken, AGE-RAGE etkileşimi sitozolik NADPH oksidaz bağımlı mekanizmalar yoluyla ROS oluşumunu başlatabilir ya da bazı hücre tiplerinde mitokondriyal süperoksidin indüksiyonu yoluyla oksidatif stresin aşağı doğru amplifiye edilmesine katkıda bulunabilir (91) (Şekil 7).



Şekil 7: Diyabette ROS'un üretim yolları (83).

2.7.7. Antioksidan mekanizmalar

Antioksidanlar, okside edilebilir bir substrata göre daha düşük konsantrasyonda bulunması durumunda, o substratın oksidasyonunu geciktirme veya önleme yeteneğine sahip olan maddelerdir (53). Antioksidan fonksiyonlar, oluşumlarında ROS'un rol oynadığı; oksidatif stres, DNA mutasyonları ve diğer hücre hasar parametrelerini düşürerek, kanser, otoimmün hastalıklar ve diğer dejeneratif hastalıkların görülme sıklığını azaltabilmektedir (94). Antioksidan enzimlerin gen ekspresyonunu ve aktivitesini düzenleyen birden fazla faktör vardır ve hücrenin oksidatif durumu birincil faktördür. Hem endojen hem de ekzojen ajanlar oksidanlar gibi davranarak hücrenin oksidatif dengesini değiştirirler. Bunların yanı sıra farklılaşma ve yaşlanma gibi gelişimsel değişiklikler, inflamasyon ve antioksidan enzimlerin hormonal regülasyonu da antioksidan enzimlerin gen ekspresyonunu ve aktivitesini etkileyebilmektedir (17).

Antioksidan savunma sisteminin ilk hattını, vitamin C, vitamin E, GSH, karotenoidler gibi düşük moleküllü süpürücüler ve ROS'un reaktivite derecesini düşürebilen SOD, katalaz, GPx gibi endojen enzimatik antioksidanlar oluşturur (17). En önemli ve bol miktarda bulunan süpürücü GSH'dır ve oksitlenmiş formu

GSSG'dir. GSSG/GSH oranı hücrel redoks-durumunu belirler (75). Majör endojen ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1: Majör endojen ve ekzojen antioksidanlar (94).

ENDOJEN ANTIOKSİDANLAR	EKZOJEN ANTIOKSİDANLAR
➤ Süperoksit dismutaz	➤ C vitamini (askorbik asit)
➤ Katalaz	➤ E vitamini (α tokoferol)
➤ Glutasyon peroksidaz	➤ A vitamini (β karoten)
➤ Tiyoller	➤ Fenolik antioksidanlar
➤ Ürikasit	➤ Lesitinler
➤ Bilurubin	➤ Asetilsistein
➤ Melatonin	➤ Ekzojen selenyum
➤ Metal bağlayıcı proteinler	➤ Çinko
➤ İndirgenmiş Koenzim Q	
➤ Alfa lipoik asit	
➤ Endojen organik selenyum	

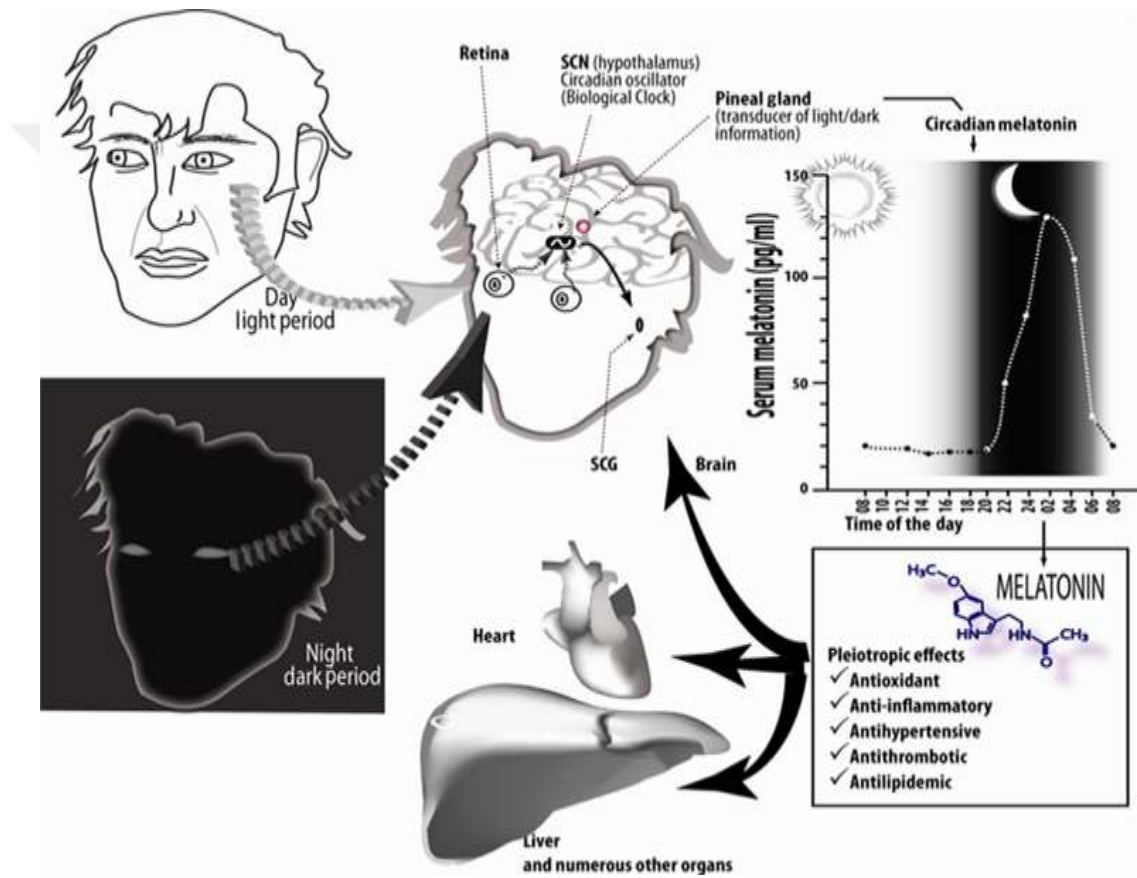
Diyabette oksitatif stres artışı ve antioksidan defans mekanizmalarının azalması gözlenmektedir (11,25). Diyabette ROS seviyesi katalaz (CAT enzimatik / enzimatik olmayan), SOD ve GSH-Px gibi antioksidanlar tarafından yıkımının azalması veya üretimindeki artışa bağlı yükselir ve bu enzimlerin seviyelerindeki değişiklikler diyabetik komplikasyonların oluşumuyla yakından ilişkilidir (53).

2.8.Melatonin

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) hormonu pineal bezden sirkadyen ritme bağlı olarak salgılanmaktadır. Fakat bunun yanı sıra harder bezi, deri, bağırsaklar ve immun sistem gibi nonendokrin organlar tarafından da üretildiği bilinmektedir (96). Melatonin pek çok fonksiyonunu ışık-karanlık siklusuna göre kontrol etmektedir (9). Uyku uyanıklık döngüsü, pubertal gelişme, lokomotor aktivite ve mevsimsel adaptasyonun düzenlenmesinde rol oynayan melatonin aynı zamanda antinosiseptif, antidepresan, anksiyolitik, antineofobik, nöroprotektif, antiinflamatuvar, ağrı düzenleyici, kan basıncını düşürücü, anti-tümör ve antioksidan gibi çeşitli fizyolojik ve biyolojik fonksiyonlara da sahiptir (97).

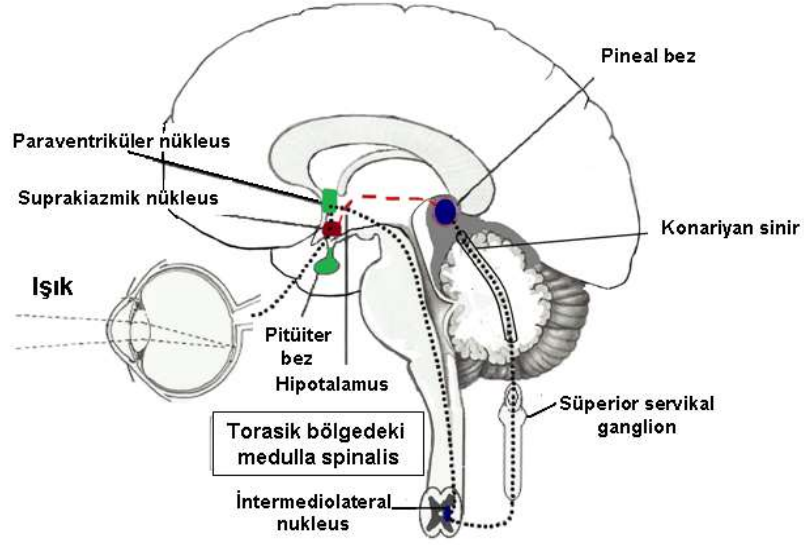
2.8.1.Melatonin metabolizması, sentezi ve reseptörleri

Melatonin salınımı ve sentezini etkileyen en önemli faktör ışıktır. Pinealosit hücreleri ışığa duyarlıdır ve süperior servikal gangliyondan çıkan sinyallerin pinealositleri uyarıcı etkisi karanlıkta artar. Buna bağlı olarak gündüz saatlerinde yaklaşık 0-20 pg/dl olan melatoninin kan konsantrasyonu, gece saatlerinde 50-200 pg/dl düzeyine çıkar ve gece saat 02-04 arasında bu konsantrasyon pik yapar (98) (Şekil 8).



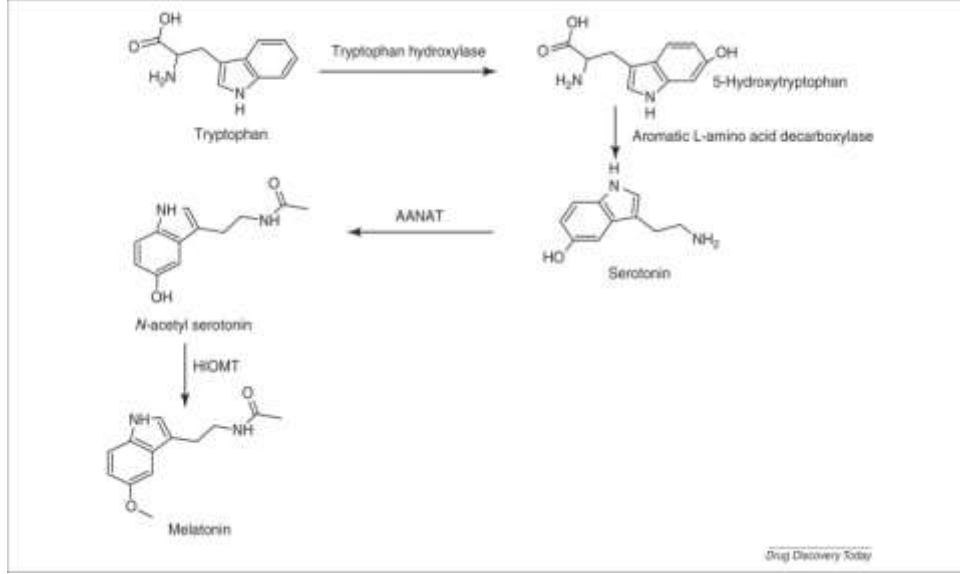
Şekil 8: Aydınlik-karanlık siklusuna göre melatonin sentezi (99).

Retinohipotalamik yollarla alınan ışık bilgileri vücudun sirkadiyen ritmini düzenleyen suprakiazmatik çekirdek (SCN)'e ulaştıktan sonra paraventricüler nükleusa geçer ve burdan spinal kordun üst torasik segmentindeki intermediolateral nükleus (IMLN)'a ve daha sonra süperior servikal gangliyona (SCG) iletilir. Bu SCG hücreleri internal koroid sinir (ICN) ve konarian sinirler aracılığıyla pineal beze ulaşır (98) (Şekil 9).



Şekil 9: Melatonin üretim yolağı (98).

SCN'den gelen karanlık bilgisi, SCG'dan uzanan post ganglionik sinir terminallerinden norepinefrin (NE) salınmasına neden olur. Salınan NE pinealosit hücre membranındaki reseptörlerine bağlanır. Adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu sonucunda melatonin sentezinde hız sınırlayıcı enzim olan aralkilamin N-asetiltransferaz (AANAT)'ın aktivitesini artıran cAMP sentezi artar. Daha sonra Serotonin AANAT ile asetillenerek N-asetilserotonin'e dönüştürülür. Son olarak, hidroksi indol-O-metil transferaz (HIOMT) yardımı ile melatoninin biyosentezi oluşur (98,99,100) (Şekil 10). Hayvan deneylerinde AANAT enzimi aktivitesinin insanlara benzerlik gösterdiği, dolayısıyla melatoninin kan düzeyinin karanlıkta arttığı gösterilmiştir, yine insanlarla paralel olarak ışığa maruz kalındığı diğer bir ifadeyle gündüz saatlerinde melatonin kan konsantrasyonu hızla azalmaktadır (98).



Şekil 10: Melatonin sentezi ve görev alan enzimler. Melatonin, triptofan türevi bir indoldür ve pinealositlerde triptofan, triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptofana dönüştürülür. 5-hidroksitriptofan aromatik bir L-amino asit dekarboksilaz enzimini kullanarak 5-hidroksitriptamin (serotonin)'e dönüşür. Serotonin AANAT ile asetillenerek N-asetilserotonin'e dönüştürülür. Son olarak, HIOMT yardımı ile melatoninin biyosentezi oluşur (99).

Melatoninin büyük bir oranda üretildiği pineal bezde depolanması söz konusu değildir. Ayrıca hem suda hem lipitte çözünürlük özellikleri; salınan melatoninin, hücre membranlarından kolayca geçerek beyin omurilik sıvısı (BOS) da dahil birçok vücut bölmesine ulaşmasına olanak sağlar. Dolayısıyla kandaki melatonin konsantrasyonu pineal aktiviteyi sadakatle yansıtır. Melatoninin büyük çoğunluğu hidroksilasyon yoluyla karaciğerde metabolize olur ve metaboliti 6-hidroksimelatonin (sülfat ya da glukuronid formda) idrar yoluyla atılır. Ayrıca pineal bez ve retinada melatonin deasetilaz ile deasetilize edilirken, diğer hücrelerde serbest radikaller tarafından metabolize edilebilir (100).

Melatonin aktivitesini ya direkt radikal süpürücü olarak ya da reseptör bağımlı süreçler veya bağımsız yollar vasıtasıyla gerçekleştirir (96). Melatonin beyindeki etkilerinin çoğunu G-protein bağlı reseptörler (GPCR)'i aracılığıyla yapmaktadır. Memelilerde 7-transmembran GPCR ailesi üyelerinin iki alt tipi tanımlandı ve bunlar MT1 ve MT2'dir. MT1 reseptörleri, retina, yumurtalık, testis,

meme bezi, koroner arterler, safra kesesi, aorta, karaciğer, böbrek, deri ve kardiyovasküler sistemde ifade edilirken (101), MT2 reseptörlerinin serebellumda, retinal yollarda ve ganglion hücrelerinde bulunduğu bildirilmiştir (98). MT1 ve MT2 reseptörleri benzer etkiler gösterebileceği gibi aynı beyin bölgesinde ya da vasküler sistemde ters etki de yapabileceği düşünülmektedir (101).

2.8.2. Bir antioksidan olarak melatonin

Melatonin iki yan zincire, bir 5-metoksi ve 3-amid grubuna sahip bir indolamindir. Molekül ağırlığı ve boyutu, kısmi hidrofilik ve güçlü lipofilik özellikleri fizyolojik bariyerleri kolayca geçmesine yardımcı olur (102). Ayrıca bu yüksek lipofilik özellik hücre membranlarını kolayca geçebilmesine, mitokondriye ulaşım orda birikebilmesine olanak sağlar. Melatonin, mitokondriyal solunum zincirinden elektron sızıntısını sınırlar ve daha az oksijen molekülünün süperoksit anyon radikaline indirgenmesini sağlayarak daha fazla ROS üretimini engeller (22,24). Bilinen antioksidanların ROS'un zararlı etkilerini iyileştirmede yetersiz kalmasındaki nedenlerden birisi; mitokondri hedefli olmamasıdır. Melatoninin oksidatif hasarı ve iltihabı azaltmada mitokondride birikebilir antioksidanlar kadar etkili hatta bazı durumlarda daha etkili olduğu gösterilmiştir ve bu anlamda melatoninin mitokondri hedefli bir antioksidan olarak sınıflandırılması gerektiğine inanılmaktadır (99). Önceki çalışmalar, melatoninin, en güçlü lipofilik antioksidan olarak sınıflandırılan E vitaminden iki kat daha etkili olarak karakterize etmiştir (94).

Melatonin antioksidan etkisini direkt ya da indirekt şekilde gösterebilir. Melatoninin hem in vivo hem vitro çalışmalarda, çeşitli radikal ve radikal olmayan reaktif maddelerin etkili bir oksidan süpürücüsü olduğu ispatlanmıştır (17,20). Yani bu amfifilik antioksidan hidroksil radikali, süperoksit anyonu veya NO gibi oksijenlenmiş veya azotlu türlerin tümünü süpürebilir. Ayrıca melatoninin sekonder, üçüncül ve kuaterner metabolitleri de serbest oksijen radikal temizleyici aktivitesi gösterebilir (94). Öte yandan antioksidan enzimlerin aktivitelerini düzenlenmesinin yanı sıra antioksidan enzimlere bağlı çeşitli genlerin yapımının düzenlenmesinde rol oynadığı da ileri sürülmektedir (17).

Sonuç olarak; melatonin hem direkt serbest radikal temizleyici aktivitesi hem de antioksidan savunma sistemine dolaylı katkıları nedeniyle protein oksidasyonunu, lipit peroksidasyonunu, mitokondriyal hasarı ve DNA yıkımını inhibe eder ve

dolayısıyla oksidatif stresin indüklediği zararlı durumların ortadan kaldırılmasına yardımcı olur. Bu nedenle, melatonin uygulamasının sağlıklı bir redoks durumunun idame ettirilmesinde etkili olması beklenmektedir (102).

2.8.3. Bir antiinflatuar olarak melatonin

Melatonin; ROS üretilmesine ve pro-oksidan enzimlerin aktivasyonuna yol açan inflamasyonun başlangıcı ve ilerleyişi ile savaşılabılır (96). Melatonin, inflamasyon reaksiyonları sırasında farklı yollarla doku hasarını azaltıcı etkiler gösterir. Öte yandan melatonin nükleer faktör-kappa B (NF-κB)'nin çekirdeğe translokasyonunu ve DNA'ya bağlanmasını engeller. Bu sayede interlökinler (IL-2, IL-6) ve tümör nevroz faktörü-alfa (TNF-α) gibi çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin yukarı doğru düzenlenmesini azaltmış olur. Ayrıca melatonin, lökositlerin endotel hücrelerine yapışmasını destekleyen yapışma moleküllerinin üretimini inhibe ederek doku hasarına katkıda bulunan transendotelial hücre göçünü ve ödemi zayıflattığına inanılmaktadır (103). ROS'un aşırı üretimi inflamasyona neden olur. Nükleer faktör eritroid 2-ilişkili faktör 2 (Nrf2), ROS'a karşı hücrel antioksidan cevabı düzenleyen önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Melatonin, transkripsiyon faktörü Nrf2'nin ekspresyonunu artırırken TNF-α, IL-1β, IL-6 ve indüklenabilir nitrik oksit sintaz (iNOS) da dahil olmak üzere inflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu da azalttığı bildirilmiştir (21).

2.9. Diyabette Melatonin Kullanımı

2.9.1. Diyabet, depresyon ve anksiyete

Depresyon; somatik ve bilişsel değişiklikler ile beraber bireyin işlev görme kapasitesini önemli ölçüde etkileyen sürekli üzüntü ve ilgi kaybıyla karakterize bir duygudurum bozukluğudur. Hem insanlarda hem de deney hayvanlarında hipokampus, amigdala ve hipotalamus gibi bazı beyin bölgeleri depresyonun nedenleri ve sonuçları ile bağlantılıdır (104).

Depresyon; diyabetik hastaların sağlığındaki genel bir kötüleşme hali ile ilişkilidir ve morbidite ve mortaliteyi arttırmaktadır (1). Depresyonun görülme sıklığı genel popülasyona kıyasla diyabetik hastalarda 2 kat daha fazladır (105) ve bu

prevalans tip 1 diyabetlilerde tip 2 diyabetlilere oranla daha yüksektir (53). Ayrıca diyabetin sıçanlarda da depresyon benzeri davranışa neden olduğu yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (10).

Depresyon araştırmasında en çok çalışılan beyin bölgesi limbik sistemin bir parçası olan hipokampüstür (106). Depresyonda rol oynadığı düşünülen bir diğer beyin bölgesi de hipokampüsle bağlantılı olan PFC'dir. Duygu ve bilişsel fonksiyonlarla ilişkili olan PFC (25), mezokortikal projeksiyon sistem nöronlarından dopamin salınımını düzenler. PFC'den dopamin salınımı kaygı ve korku düzenlemesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir (3). Ayrıca dopamin; epinefrin ve norepinefrinin bir öncüsü olarak davranışın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Serotonerjik sistemin eksikliği depresyonun yanı sıra obsesif kompulsif bozukluk, yaygın anksiyete bozukluğu ve travma sonrası stres bozukluğu gibi rahatsızlıklara da yol açabilmektedir (107).

Diyabet ve depresyon arasındaki patofizyolojik ilişkiyi anlayabilmek için çeşitli hipotezler ortaya atılmıştır. Örneğin deney hayvanlarındaki diyabet modellerinde beyinde çeşitli değişikliklerin olduğu bildirilmiştir. Bunlar: nöroiletimde bozulmalar, sinaptik plastitede değişiklikler, dentat girusda nörogeneziste azalma, oksidatif strese artıştır (1). Hipokampüsün dentat girusundaki progenitör hücrelerden işlevsel olarak yeni nöronlar üretme süreci nörogenezis olarak tanımlanır ve hem depresyon hem de affektif bozukluklarla yakından ilişkilidir (2). Yetişkin nörogenezisin diyabette azaldığı yapılan hayvan çalışmalarıyla gösterilmiştir ve bu durumun diyabetteki depresyon ve bilişsel bozuklukların etiyolojik bir faktörü olabileceği öne sürülmektedir (2). Ayrıca diyabet, hipotalamo-pituitar-adrenal (HPA) aksında hiperaktiviteye neden olur; diyabetik hastalarda kan glukokortikoid seviyeleri yüksektir ve glukokortikoid negatif geribildirim hem insanlarda hem de hayvanlarda bozulmuştur (3).

Diyabet ile depresyon arasında iki yönlü bir etkileşimin olduğu düşünülmektedir. Yani depresyon diyabeti tetikleyebilir, diyabet de depresyonun ortaya çıkmasını kolaylaştırabilir (108). Örneğin, depresyon insülin direncine yol açarak hiperglisemiye neden olurken diyabette artan AGE'ler oksidatif stresi tetikler ve sonuçta depresif durum ortaya çıkar (67). Diyabette hipokampüs dahil birçok beyin bölgesinde oksidatif stres artışı ile birlikte protein oksidasyonu, DNA hasarı ve membran lipidlerinin peroksidasyonu nöron ölümüne katkıda bulunur (19). Diyabetik hayvanların PFC ve hipokampüs bölgelerinde artmış lipid peroksidasyon seviyeleri, SOD ve CAT aktiviteleri ve GSH seviyesindeki azalma yine bu

bölgelerdeki oksidatif stres artışının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (25). Ayrıca diyabette inflamatuvar reaksiyonlar beyin hipotalamus, hipokampus ve amigdala gibi bölgelerindeki nöronların ve nörogliaların hasarı ile depresyonu tetiklediği bildirilmektedir. Dolayısıyla beyindeki artmış inflamatuvar reaksiyonlar hem diyabet hem de depresyon patogeneziyle ilişkilidir (104).

Anksiyete (kaygı) hoş olmayan duygusal durum, korku ve stres kaynaklarına tepki olarak üzücü fiziksel belirtilerle karakterize edilen fizyolojik ve psikolojik bir durumdur. Genel anksiyete hastalığında aşırı kaygı ve çeşitli konular hakkında endişenin altı aydan daha fazla yaşandığı gözlenir. Genel anksiyete hastalığında kişiler endişelerini kontrol edemezler ve sıklıkla huzursuzluk, sinirlilik ve kas gerimi gibi diğer semptomlar gösterirler. Eksitator iletide artış ve inhibitör iletide azalma ile ortaya çıkan hipereksitabilite anksiyete benzeri davranışa neden olmaktadır. γ -aminobutirik asid (GABA) beyindeki inhibitör nörotransmitterdir. GABA salınımı inhibitör tonusun korunmasında ve anksiyete davranışında önemlidir (109). PFC emosyonel davranışla ilgili beyin alanları olan amigdala ve hipotalamusla bağlantılıdır. Depresyondaki insanlarda ve hayvan modellerinde PFC kalınlığında azalmalar ve morfolojik değişiklikler gözlenmiştir (3).

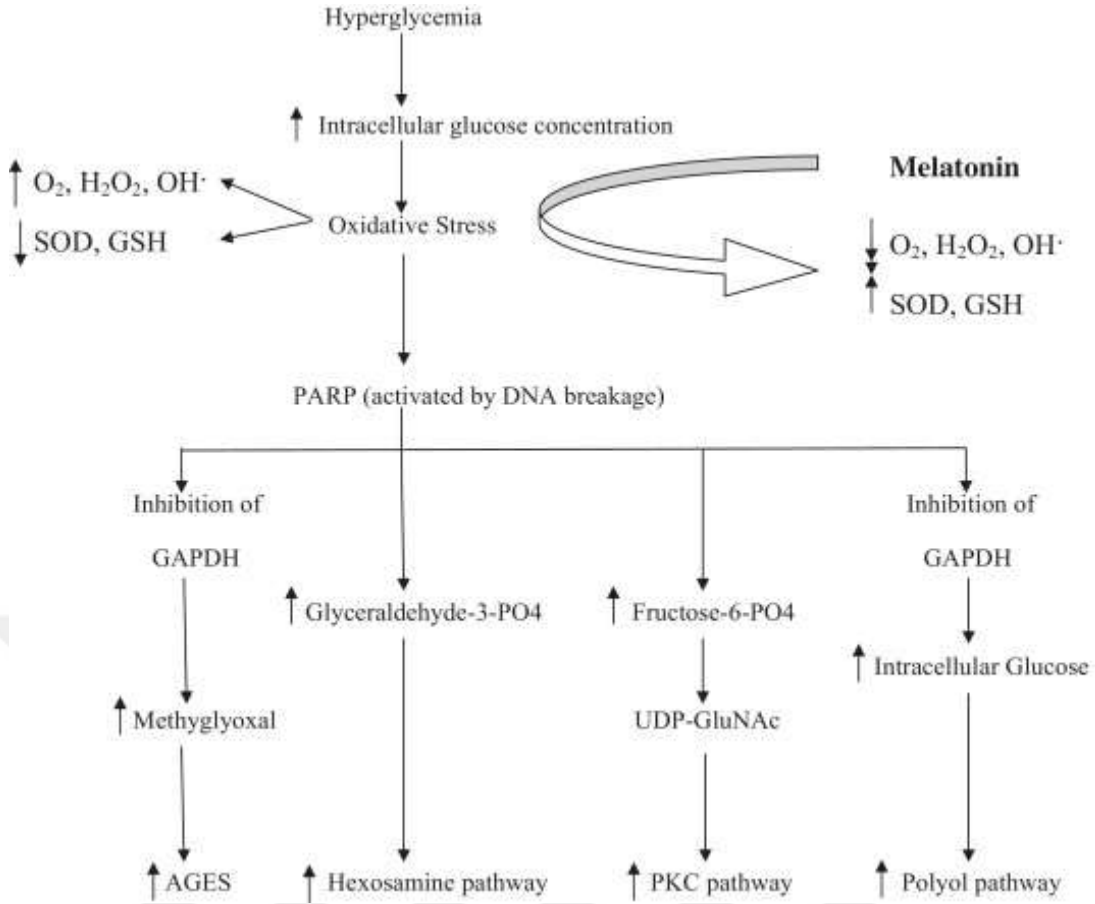
Depresyon ve anksiyete bozuklukları halk sağlığı sorunları olarak kabul edilmekte ve bu konu yaygın bir şekilde araştırılmaktadır. Post mortem olarak yapılan ve beyin görüntüleme çalışmalarında depresyon ve anksiyetede hastaların hipokampus ve PFC'de atrofi ve nöron kayıplarının olduğu gösterilmiştir. Hipokampal morfoloji serotonerjik ileti bozukluğu ve kortizol fazlalığı ile etkilenmektedir. Bu özellikle majör depresyondaki hastalarda gözlenmektedir. Major depresyonun başlangıcı ve HPA fonksiyon bozukluğu arasındaki ilişki bilinmektedir (110). Oksidatif stres ve inflamasyon bileşenleri majör depresif bozuklukta önemli rol oynayan iki faktördür ve hipokampus, amigdala ve PFC'yi etkileyerek apoptozu artırır (111). Yapılan meta-analiz çalışmalarda depresyonlu hastalarda CRP, IL-6, IL-1 β ve akut faz proteini gibi proinflamatuvar sitokinlerin, hatta yeni bir çalışmada TNF - α 'nın da arttığı sonucuna ulaşılmıştır (112).

2.9.2.Diyabet ve melatonin

Melatonin pinealositlerden β -adrenoreseptör aktivasyonu ile salgılanmaktadır. Depresyonun monoaminerjik teorisi ve melatonin yapımının monoaminerjik kontrol

temelinde ele alındığında depresyondaki hastalarda bu hormonun salgılanması ve düzeyinin noradrenerjik ileti bozuklukları ile değişebildiği ileri sürülmektedir. Pek çok çalışma tarafından depresyondaki hastalarda sirkadyen ritim ve uyku bozukluklarının olduğunu bildirmektedir (113). Preklinik çalışmalar melatoninin antidepresan ve anksiyolitik etkili olduğunu göstermiştir (26,110,114). Melatonin ve depresyon arasındaki ilişkiyi destekler şekilde depresif hastalarda melatonin salınım ritminin bozulduğu gösterilmiştir. Ayrıca melatonin tedavisi ile piramidal hücre sayısı ve dendritik dallanma miktarı arttığı gösterilmiştir (26). Ayrıca Esteban ve arkadaşları (2010) melatoninin yaşlı hayvanlarda serotonin, dopamin ve noradrenalin nöroiletimini monoaminlerin sentezini artırarak etkilediğini göstermişlerdir (115).

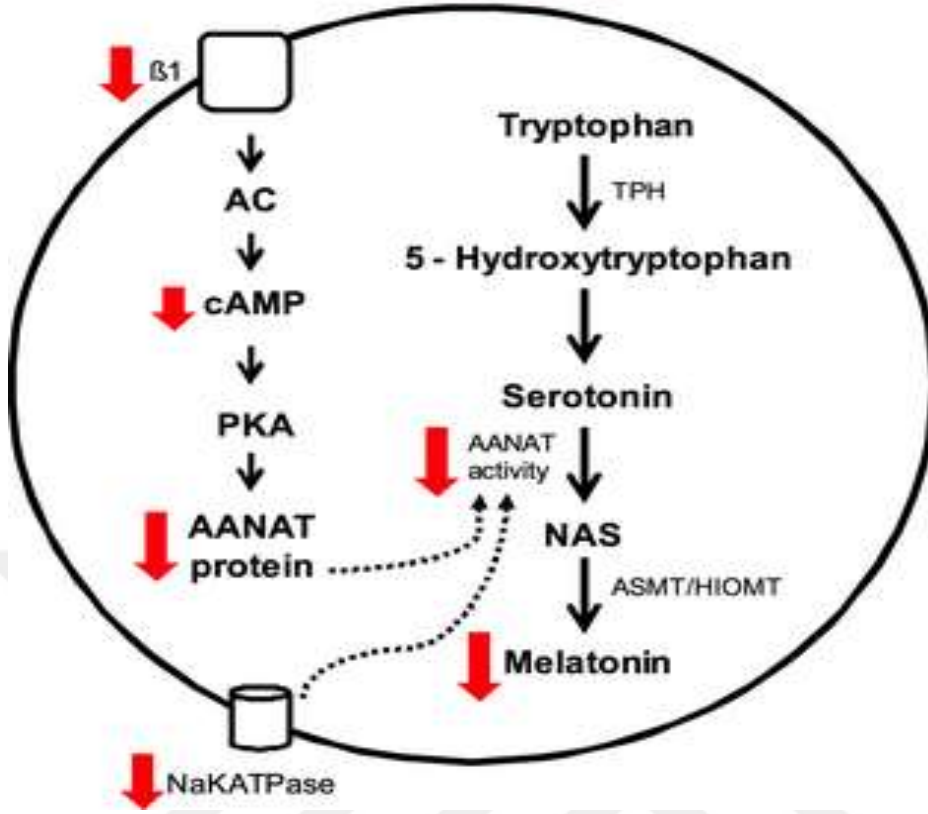
Tip I ve Tip II DM beyin de dahil olmak üzere pek çok organda SOR'un oluşumuyla karakterize oksidatif stres artışına neden olmaktadır. Serebral kortekste diyabetle oksidatif stresin artışı nöronal ölüme ve nörogenezde azalmaya neden olmaktadır. Kronik depresyon ve anksiyete oksidatif stres artışı ve hücre hasarı ile karakterizedir. Antidepresanların ve insülin tedavisinin oksidatif stresin azalmasında etkili olduğu gözlenmiştir. Bu da göstermektedir ki hiperglisemi ve depresyon bulguları arasında bir ilişki bulunmaktadır. Melatonin özellikle SOR nedeniyle oluşan diyabetik komplikasyonları antioksidan özelliği ile engelleyebildiği gösterilmiştir (116) (Şekil 11).



Şekil 11: Diyabetle ortaya çıkan hiperglisemi ve artan oksidatif stresin oluşturduğu patolojik yollar üzerine melatoninin etkisi (116).

Melatonin, diyabet ve metabolik sendrom arasında etkileşim bulunmaktadır. Melatonin reseptör değişimi bozulmuş insülin sekresyonu ve glukoz metabolizması ile birlikte görülmektedir. Melatonin uygulaması diyabetik sıçanlarda hiperglisemi, hiperlipidemiye azaltıp antioksidant durumu artırmaktadır. Diyabetle birlikte melatonin salınımının bozulduğu hem insan hem de deneysel modellerde gösterilmiştir. Ayrıca diyabetik hayvanların retinalarında melatonin yapımının azaldığı da bildirilmektedir. Diyabetle birlikte pineal melatonin salınımındaki değişiklikler gözlenmektedir. Melatonin sentezindeki bozulma β -adrenergik reseptör, cAMP içeriği ve AANAT protein içeriği ve Na-K ATPaz aktivitesinde gerçekleşmektedir. Bütün basamaklarda genel olarak azalma melatonin sentezinde düşüşe neden olmaktadır (117) (Şekil 12).

Diabetes/Hyperglycemia



Şekil 12: Diyabet ve hiperglisemi ile ortaya çıkan melatonin sentezinde azalma (117).

Deneysel çalışmalarda melatoninin antidepresan olarak kullanıldığı pek çok çalışma yapılmıştır. Melatonin hipokampüsteki proliferatif aktiviteyi artırdığı ve dendritik yapı üzerinde bağlantıları artırdığı gösterilmiştir (110, 118)

Melatoninin aynı zamanda HPA üzerine tonik negatif etkisi ile kortikosteron salınımı azaltıcı etkisi bulunmaktadır (114).

Benzodiazepinler anksiyetenin tedavisi için sıklıkla kullanılan ilaç grubudur ancak sedasyon, tolerans, bağımlılık gibi yan etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle anksiyete tedavisinde yeni farmakoterapötik ajanların geliştirilmesi gündeme gelmektedir. Bu hedefler arasında melatonerjik sistem ilgi odağı olmuştur. Melatonin ruh hali, sirkadyen ritim, uyku ve üreme gibi nöroendokrin fonksiyonlarının yanı sıra stres ve anksiyete ile de ilişkili bulunmuştur (110).

2.9.3. Depresyon ve AGE

Wang ve arkadaşları (2009) diyabet ile ortaya çıkan depresyon benzeri davranış ve demanstan AGE'lerin sorumlu olduğunu bildirmiştir. STZ ile oluşturulan diyabetik sıçanlarda serum AGE düzeylerinde artış ile birlikte hipokampal nörogenezde azalmanın olduğu sonuçlarına ulaşmışlardır. Dolayısıyla AGE'lerin hipokampüsteki çoğalabilen kök hücreler üzerindeki zararlı etkilere neden olarak hipokampal fonksiyonu bozabileceği bildirilmektedir (2).

Diyabette kronik hiperglisemi, dislipidemi ve oksidatif stresin bir sonucu olarak oluşan AGE'ler, diyabetin vasküler komplikasyonlarının gelişmesinde ve ilerlemesinde rol oynayan, hücrelerde ve dokularda geniş etkilere sahip bir kimyasaldır (72). Öte yandan AGE'lerin ROS'un oluşumunu arttırarak ve antioksidan sistemlerini bozarak oksidatif stresi artırdığı da bilinmektedir (75). Depresif durumlarda ise oksidatif streste artış ve plazma antioksidan seviyesinde azalma olduğu klinik çalışmalarla gösterilmiştir (111,112). Oksidatif stres artışının yanısıra AGE proapoptotik proteinlerin ve proinflamatuvar genlerin yapımını artırıcı etkiye sahiptir (9). Dolayısıyla uzun süreli oksidatif stres artışı nörodejeneratif apoptotik süreçleri başlatma da rol alır (1).

Diyabette AGE'nin RAGE'ye bağlanması da oksidatif stres ve inflamatuvar reaksiyonları tetikleyerek endotel hücre hasarına neden olmaktadır (7). RAGE, diyabet, inflamasyon ve nörodejenerasyon gibi çeşitli hastalık süreçlerinde önemli rol oynamaktadır (14). Ayrıca RAGE'ye bağlanan ligandlar; RAGE'nin yapımını artırır ve aynı zamanda oksidatif strese, proinflamatuvar sitokinlerin sentezine ve salınımına neden olarak diyabetik vasküler komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynamaktadır (7,91).

2.9.4. S100B

Metabolik ve oksidatif hasarlar genellikle glial hücrelerde hızlı değişimlere neden olur. Bu yanıtın temel göstergeleri GFAP ve S100B'nin sentezinin artması olarak kabul edilir (119). S100B beyinde glial hücrelerde özellikle de astrositler ve oligodendrositler tarafından yapılır ve salgılanır. Bu nedenle glial hücre aktivasyonunda bir belirteç olarak kabul edilmektedir (13,14,15).

Astrositler glikojen içermektedirler ve glikojeni laktata dönüştürerek nörona verirler ve diyabetin ileri aşamalarında astrositlerin bu fonksiyonu değişebilmektedir. Astrositler hipergliseminin erken dönemlerinde aktive olarak S100B protein yapımının arttığı gösterilmiştir (12). S100B salındıktan sonra AGE reseptörlerine bağlanabilir ve çeşitli hücre içi sinyal yollarını aktive edebilir (13,14).

S100B düşük moleküler ağırlıklı (9-13kDa) santral sinir sisteminde primer olarak astrositlerde bulunan Ca^{2+} bağlayan proteindir. S100B proteini kalsiyum homeostatik fonksiyonu bulunur ve astrositlerden nöroprotektif ve trofik hücresel fonksiyonlar için astrositler tarafından salgılanmaktadır (16). Nöroprotektif faktör olarak S100B hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu artışına neden olan glukoz eksikliğinde mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu ve hücre ölümünü engeller. Ayrıca S100B astrosit çoğalmasını ve nörit büyümesini sağlar. Şiddetli beyin hasarı sonrasında serebrospinal sıvı (CSF)'de S100B miktarında artış devam eden yapısal hasar ve hücre ölümünü yansıtabilmektedir. Çeşitli çalışmalarla travmatik beyin hasarı sonrasında hem CSF hem de plazmada S100B miktarında artış gözlenmiştir (120).

S100B GFAP gibi diğer bir astrositik belirteçtir. Beyin hasarı sonrasında aktive olan mikroglialar IL-1 β , IL-6, TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinleri salgılar ve bunlarda glial hücrelerin çoğalması ve aktivasyonu sonrasında S100B miktarında artışa yol açar (121). Gri cevherde bu protein astrositler tarafından yapılırken, beyaz cevher oligodendrositler tarafından yapılır. S100B protein ve mRNA miktarındaki artışın diyabet de dahil olmak üzere çeşitli beyin hasarlarında gözlenmiştir. S100B yapımı çeşitli psikiyatrik hastalıklarla da değişebilmektedir. Depresyonda olan ve intihar girişiminde bulunan bireylerin ventral PFC'sinde bu proteinin azaldığı saptanmıştır (122).

Astrositlerin harabiyeti S100B'nin ekstrasellüler kompartmana, CSF'ye ve kana sızmasına neden olur. Depresyondaki hastalarda astrositlerin harabiyetini destekler şekilde majör depresyondaki hastalarda serum ve CSF'de S100B miktarı artmış olarak bulunmuştur. Antidepresanların kullanımı ile serum S100B seviyesi düşürülmüştür (122). Bu çalışmalara ters olarak stres uygulanan sıçanların hipokampus ve CSF'de S100B seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca S100B seviyesinin serumda stres uygulaması sonrasında arttığı ve antidepresan tedavi ile bu artışı engellediği de saptanmıştır. Postmortem çalışmalarda da hipokampal CA1 alanında S100B reaktivitesi gösteren astrositlerin azaldığı saptanmıştır (15).

Bununla birlikte hipokampal serum ve CSF S100B değişikliklerinin paralel olarak gerçekleşmediğini ve plazma S100B düzeylerinin CNS ve hipokampal S100B düzeyleri için belirteç olamayacağı ileri sürölmektedir. Malberg ve arkadaşları kronik antidepresan uygulamasının rat hipokampüsünde S100B seviyesini arttırmada etkili olduğunu göstermişlerdir. (14,123).

Hiperglisemi ile beyinde oluşan oksidatif ve metabolik etkilerle astrositlerde GFAP ve S100B miktarları artar (16). S100B'nin ekstrasellöler etkisi konsantrasyonuna bağlıdır. Örneğin nanomolar konsantrasyonda fizyolojik koşullarda S100B nörotrofik ve gliotropik etkili olup beyin gelişiminin hasar sonrası onarımında rol oynar. Mikromolar konsantrasyonlarda ise toksik olabilir ve nöroglial hücre apoptozuna neden olabilir. Böylece nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon durumlarındaki nöropatolojik değişikliklerden sorumlu olabileceği üzerinde durulmaktadır (124).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim dalında 9.10.2017-20.12.2017 tarihleri arasında gerçekleştirilen çalışmamıza öncesinde Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 6.10.2016 tarihli oturumunda onay alınmıştır (Ek-1). Ayrıca Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2016-26259946-03 nolu proje olarak desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen ağırlıkları 275-470gr arasında değişen 36 adet yetişkin erkek Wistar-Albino cinsi sıçan kullanılmıştır. Tüm sıçanların, aynı bakım koşullarında günlük değiştirilen taze musluk suyu ve standart pelet yem ile beslenmeleri sağlandı. Tüm sıçanlar rahat hareket edebilecekleri büyüklükte üstü kapalı tel kafeslere gruplar halinde barındırıldı. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık sirkadiyen ritimde, sıcaklığın 20-25°C ve nemin %50-60 olduğu aynı ortamda tutuldular. 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 Kılavuz*” una uygun olarak yapılmıştır.

3.2. Grupların Oluşturulması

Deney hayvanları; diyabet+melatonin uygulanan grup (D+M), diyabetik kontrol (DK), normoglisemik kontrol (K), normoglisemik+melatonin uygulanan grup (K+M) olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Deneysel diyabet oluşturmak için 20 tane sıçana 0.1 M sitrat tamponu (pH 4.5) içinde çözdürülerek hazırlanan 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 hipoglisemiyi engellemek için enjeksiyondan sonraki ilk 48 saatte sıçanların içme suyuna %5 oranında glukoz eklendi. Enjeksiyon uygulamasını takiben 72. saatte bakılan kan şekeri düzeyi 250mg/dl'nin üzerinde olan hayvanlar

diyabet olarak kabul edildi. 19 tane denek diyabetik olarak kabul edilirken bir tane hayvanda diyabet oluşturulamamıştır. Normoglisemik kontrol ve normoglisemik+melatonin gruplarını oluşturmak için 16 tane sıçana ise 0.1 M sitrat tamponu (pH 4.5) i.p olarak uygulanmıştır.

Melatonin (SIGMA-ALDRICH, Co, St. Louis, MO, USA) %1 etanol içinde çözülüp %0,9 NaCl ile seyreltilerek stok solüsyonu hazırlandı. Daha sonra diyabet+melatonin tedavisi uygulanan grup (n:10) ve normoglisemik+melatonin tedavisi uygulanan grup (n:7) sıçanlarına 10mg/kg olacak şekilde melatonin i.p olarak uygulandı. Diyabetik kontrol (n:7) ve normoglisemik kontrol (n:8) grup sıçanlarına ise aynı miktarda serum fizyolojik (SF) i.p olarak uygulandı.

Normoglisemik kontrol (n:8): Sitrat tamponu uygulanan 16 tane hayvandan rastgele 8 tanesi seçilerek oluşturuldu. 4 hafta boyunca SF i.p olarak uygulandı.

Normoglisemik+melatonin tedavisi uygulanan grup (n:7): Sitrat tamponu uygulanan 16 tane hayvandan rastgele 8 tanesi seçilerek oluşturuldu. 4 haftalık tedavi sürecinde 1 tane sıçan öldüğü için grupta 7 tane denek kalmıştır. 4 hafta boyunca i.p olarak melatonin uygulandı.

Diyabetik kontrol (n:7): STZ enjeksiyonundan sonra diyabet olarak kabul edilen hayvanlardan rastgele 9 tane seçilerek oluşturulmuştur. 4 hafta boyunca SF i.p olarak uygulandı. 2 tane sıçan 4 haftalık süreçte öldüğü için gruptaki hayvan sayısı 7'ye düşmüştür ve bu grup için mortalite oranı yaklaşık %22 olarak belirlenmiştir.

Diyabet+Melatonin tedavisi uygulanan grup (n:10): STZ enjeksiyonundan sonra diyabet olarak kabul edilen hayvanlardan rastgele 10 tane seçilerek oluşturulmuştur. 4 hafta boyunca i.p olarak melatonin uygulandı.

3.3.Kan Şekerlerinin ve Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi

Bütün sıçanların günlük ağırlık takibi yapıldı. Kan şekeri kontrolleri kuyruk venlerinden alınan kan örnekleri ile glukometre (lifecek/ALMANYA) kullanarak yapıldı ve 1.,7.,14.,21.,28. günlerde olmak üzere haftalık takip yapıldı.

3.4.Davranış Testleri

Davranış testleri, sabit aydınlatma ve sıcaklık kontrollü bir ortamda sabah 9 ile akşam 4 arasında yapıldı ve o günlerde melatonin tedavisi uygulanmadı.

3.4.1.Elevated plus maze testi (EPM)

29.'uncu (son) melatonin dozundan 24 saat sonra her gruba EPM uygulanarak anksiyete benzeri davranış değerlendirildi. Test iki açık kolu (50x10), iki kapalı kolu (50x10) ve yerden yüksekliği 50cm olan labirentte gerçekleştirildi (Şekil 13). Sıçan santral platforma konularak 5 dk boyunca;

1. Açık kola giriş sayısı
2. Kapalı kola giriş sayısı,
3. Açık kolda kalma süreleri ve
4. Kapalı kolda kalma süreleri

kaydedilerek hesaplandı. Kapalı kol aktivitesinde artış anksiyete davranışı olarak kabul edildi. Her sıçandan sonra labirent sabunlu su ile temizlenip kurulandı.



Şekil 13: EPM.

3.4.2.Zorlu yüzme testi (FST)

Test, 24 saat aralıklı olarak iki ayrı oturumda gerçekleştirildi. Her iki oturum için de çapı 35 cm ve derinlik 50 cm olan cam bir silindir kullanıldı. Bu tank, hayvanın kuyruğunun tabana değmesini ve tanktan kaçmasını engelleyecek bir şekilde 40 cm yüksekliğinde 26° C’de ısıtılmış çeşme suyu ile dolduruldu. EPM’ den 24 saat sonra ilk deneme yüzüşü gerçekleştirildi. Her hayvan tek tek içi su ile doldurulmuş olan tanka bırakıldı ve 15 dakika yüzmenin ardından kurularak kafeslerine alındı. Test yüzüşü ise ertesi gün (24 saat sonra) gerçekleştirildi. 5 dk süren test yüzüşünde;

1. Tırmanma süresi (Şekil 14),
2. Hareketsizlik süresi (Şekil 15)

kaydedilerek hesaplandı. Test bittikten sonra sıçanlar kurularak kafeslerine yerleştirildi. Hareketsizlik süresinin uzaması depresyon benzeri davranış olarak kabul edildi.



Şekil 14: FST’de tırmanma davranışı.



Şekil 15: FST’de hareketsizlik davranışı.

3.5.Doku Örneklerinin Alınması

Tüm sıçanlar davranış testlerinin bitiminden 24 saat sonra yüksek doz anestezi (sodyum tiyopental) verilerek feda edildi. Hipokampus ve PFC buz üstünde hızlıca çıkarıldı. Dokular iki eşit parçaya ayrıldı ve çalışmanın yapılacağı güne kadar -80 °C de derin dondurucuda saklandı.

3.6.AGE ve S100B Düzeylerinin Belirlenmesi

3.6.1.Fosfat tampon solüsyonun (PBS) hazırlanması

0,8g NaCl (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany), 0,02g KCl (Sigma Chemical Co.,St. Louis, MO, US), 0,144g Na₂HPO₄ (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) ve 0,024g KH₂PO₄ (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) balon jolye alındı ve hacmi 100ml’ye tamamlanarak çözünmesi sağlandı. 1N HCl eklenerek pH’sı 7.2-7.4’e sabitlendi.

3.6.2.Doku homojenatlarının hazırlanması

Deney günü -80 °C saklanan doku örnekleri dondurucudan çıkarıldıktan sonra buz üstünde çözünmesi sağlandıktan sonra mekanik homojenizatörde PBS kullanılarak homojenize edildi. Homojenatlar 2-8°C'de 3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar analizlerde kullanıldı. AGE ve S100B düzeyleri enzyme-linked immün sorbent assay (ELISA) yöntemi ile ticari kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.6.3.AGE tayini

Hipokampus ve PFC AGE düzeyleri Rat Advanced Glycosylation End Products (AGEs) ELISA kiti (Sun Red Biotechnology, Çin, katalog no: 201711) kullanılarak ölçüldü. Kitin kullanım klavuzuna uygun olarak ilk önce standartlar hazırlandı ve ölçüm işlemleri klavuza göre yapıldı. Plate ELISA cihazında (Awareness, Chromate 4300, USA) 450nm dalga boyunda okutularak ölçüm yapıldı.

3.6.4.S100B tayini

S100B ölçümü, Rat S100 Calcium Binding Protein B (S100B) ELISA Kiti (Sun Red Biotechnology, Çin, katalog no:201711) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kitin kullanım klavuzunda yer alan ölçüm esasları temel alınarak ELISA cihazında 450 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır.

3.7.İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesi SPSS 22 istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sayısal değerler ortalama \pm standart hata (SE) olarak verilmiştir. Gruplar arası farklılıklar Kruskal Wallis testi ile değerlendirilmiştir. Grup içindeki anlamlılık ise Bonferroni testi ile karşılaştırılmıştır. P'nin <0.05 olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1.Davranış Testleri Sonuçları

4.1.1.EPM sonuçları

Deney gruplarının EPM’de değerlendirilen açık kola giriş sayısı, kapalı kola giriş sayısı, açık kolda kalma süresi ve kapalı kolda kalma süresi Tablo 2’de verilmiştir. Gruplar arasında kapalı kola giriş sayısı ve kapalı kolda kalma süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$).

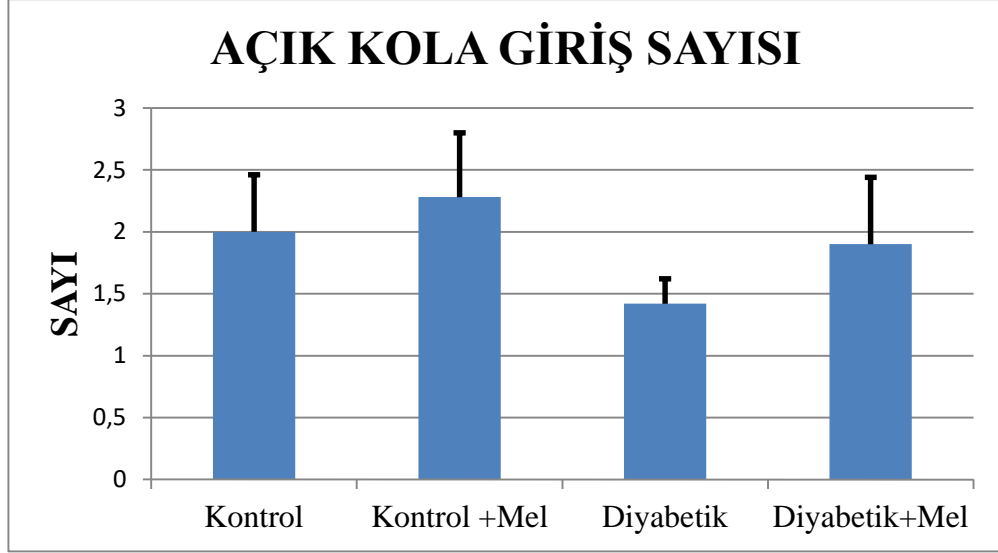
Tablo 2: Grupların EPM değerleri

	Kontrol	Kontrol +Mel	Diyabetik	Diyabetik+Mel
Açık Kola Giriş Sayısı	2±0,46	2,28±0,52	1,42±0,2	1,9±0,54
Kapalı Kola Giriş Sayısı	0,85±0,26	0,85±0,34	2,6*#±0,5	1&±0,33
Açık Kolda Kalma Süresi (sn)	174±46,71	210±49,24	126±43,66	184±46,5
Kapalı Kolda Kalma Süresi (sn)	84,2±38,63	90±49,24	238*#±19,46	98,31&±40,18

*Kontrol, # Kontrol+Melatonin grubuna göre, & Diyabetik Kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.1.1.Açık kola giriş sayısı

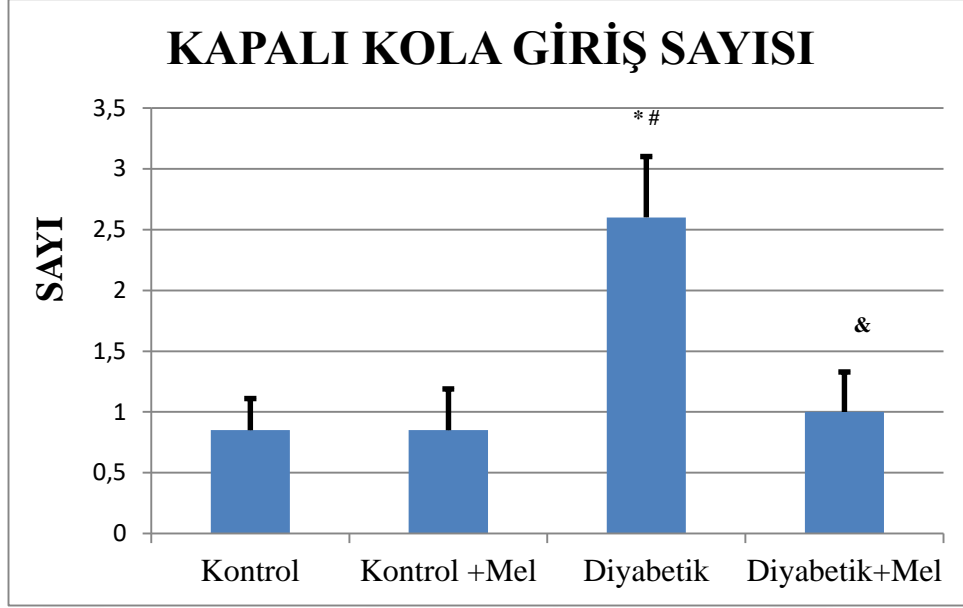
Diyabetik Kontrol grubunda açık kola giriş sayısı Kontrol ve Kontrol+Melatonin grubuna göre düşük bulunmasına karşın istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. Diyabet+Melatonin grubunda da açık kola giriş sayısı Diyabetik Kontrol grubuna göre yüksek bulunmasına karşın istatistiksel olarak anlamlılık saptanamamıştır ($p>0,05$)(Şekil 16).



Şekil 16. Tüm grupların EPM testinde açık kola giriş sayısı. Sonuçlar Ortalama \pm Standart Hata olarak gösterilmiştir. Grupların verileri arasında anlamlı fark bulunmamaktadır.

4.1.1.2. Kapalı kola giriş sayısı

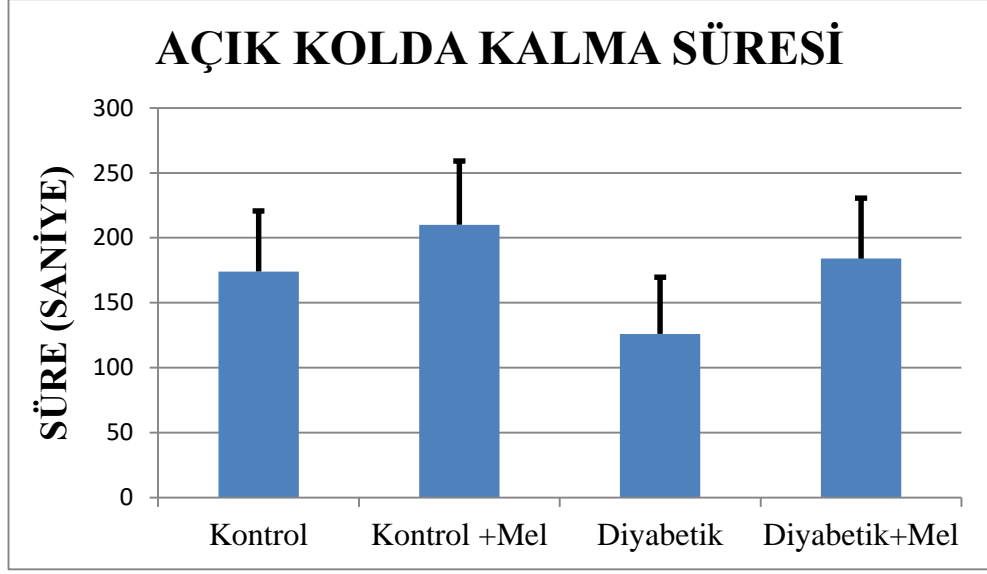
Diyabetik Kontrol grubunda kapalı kola giriş sayısı Kontrol ve Kontrol+Melatonin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunurken, Diyabet+Melatonin grubunda kapalı kola giriş sayısı Diyabetik Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düşük bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 17).



Şekil 17. Tüm grupların EPM testinde kapalı kola giriş sayısı. Sonuçlar Ortalama \pm Standart Hata olarak gösterilmiştir. *Kontrolle göre ($p=0,004$), #Kontrol+Melatonin grubuna göre $p=0,004$), &Diyabetik Kontrol grubuna göre ($p=0,005$) anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.1.3. Açık kolda kalma süresi

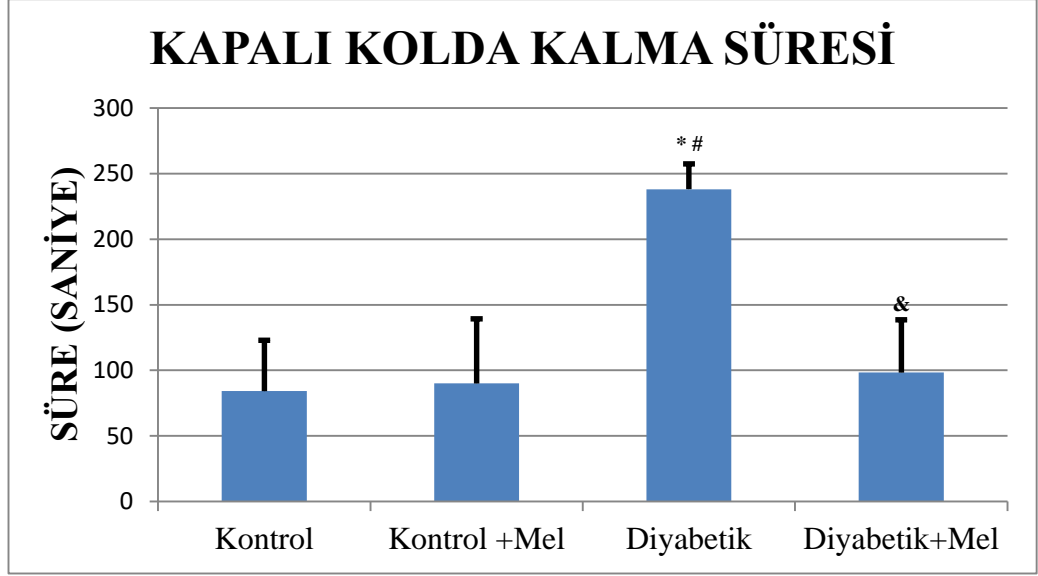
Diyabetik Kontrol grubunda açık kolda kalma süresi Kontrol ve Kontrol+Melatonin grubuna göre düşük bulunurken, Diyabet+Melatonin grubunda açık kolda kalma süresi Diyabetik Kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Fakat bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (Şekil 18).



Şekil 18. Tüm grupların EPM testinde açık kolda kalma süresi (saniye). Sonuçlar Ortalama± Standart Hata olarak gösterilmiştir. Grupların verileri arasında anlamlı fark bulunmamaktadır.

4.1.1.4.Kapalı kolda kalma süresi

Diyabetik Kontrol grubunda kapalı kolda kalma süresi Kontrol ve Kontrol+Melatonin grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur ve Diyabet+Melatonin grubunda kapalı kolda kalma süresi Diyabetik Kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 19).



Şekil 19. Tüm grupların EPM testinde kapalı kolda kalma süresi. Sonuçlar Ortalama \pm Standart Hata olarak gösterilmiştir. *Kontrolle göre ($p=0,025$), #Kontrol+Melatonin grubuna göre ($p=0,024$), &Diyabetik Kontrol grubuna göre ($p=0,024$) anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.2.FST sonuçları

Deney gruplarının FST’de değerlendirilen tırmanma süresi ve hareketsizlik süresi Tablo 3’te verilmiştir. Gruplar arasında her iki davranış sürelerinde de istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$).

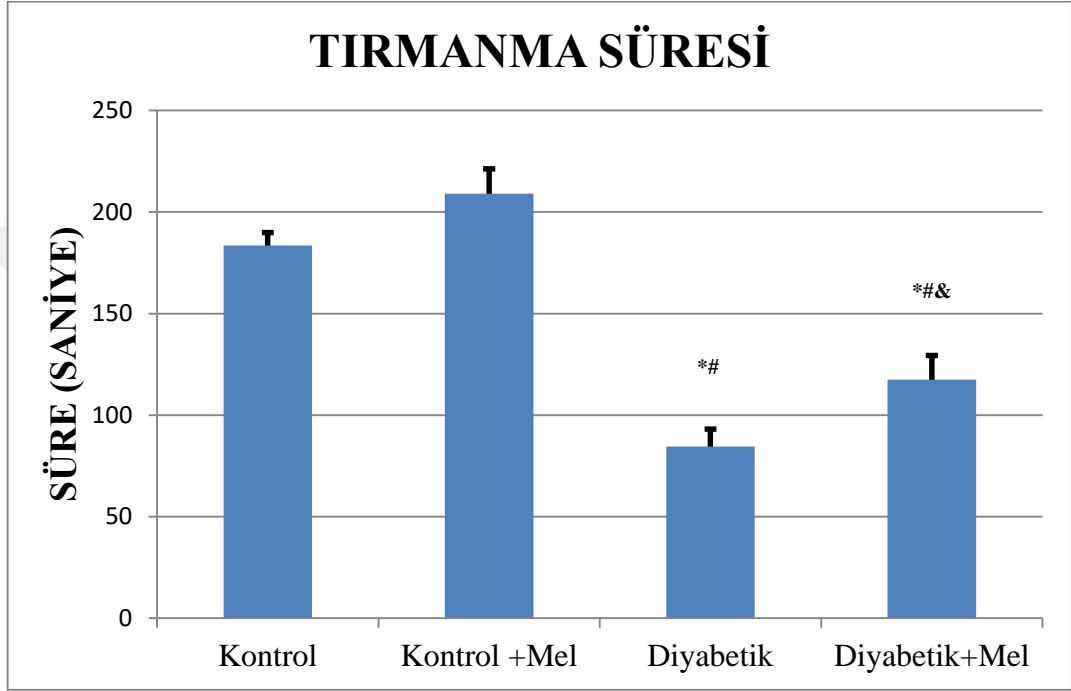
Tablo 3: Grupların FST Sonuçları

	Kontrol	Kontrol +Mel	Diyabetik	Diyabetik+Mel
TIRMANMA SÜRESİ (sn)	183,5 \pm 6,4	209 \pm 12,21	84,42 ^{*#} \pm 8,7	117,37 ^{*#&} \pm 12,01
HARETETSİZLİK SÜRESİ (sn)	13,16 \pm 6,24	6,57 \pm 2,99	63,62 ^{*#} \pm 23,03	15,3 ^{&} \pm 5,18

*Kontrolle, # Kontrol+Melatonin grubuna göre, & Diyabetik Kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.2.1. Tırmanma Süresi

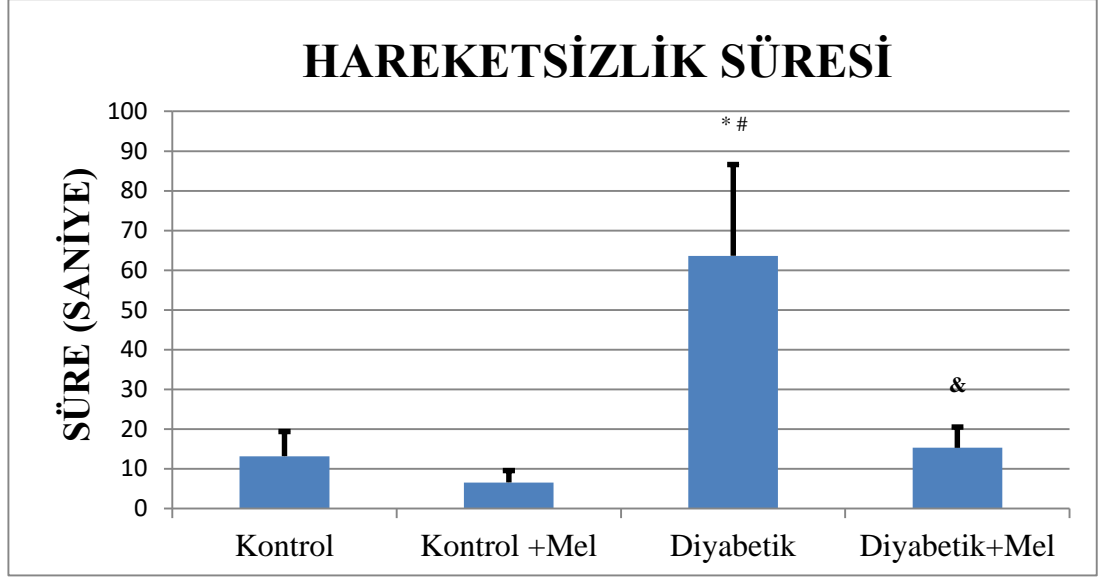
Diyabetli gruplarda tırmanma süresi Kontrol ve Kontrol+Melatonin grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur ve Diyabet+Melatonin grubunda tırmanma süresi Diyabetik Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$)(Şekil 20).



Şekil 20. Tüm grupların zorlu yüzme testinde hareketsizlik süresi (saniye). Sonuçlar Ortalama \pm Standart Hata olarak gösterilmiştir. *Kontrolle göre ($p=0,00$), # Kontrol+Melatonin grubuna göre $p=0,00$), & Diyabetik Kontrol grubuna göre ($p=0,029$) anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.2.2. Hareketsizlik süresi

Diyabetik Kontrol grubunda hareketsizlik süresi Kontrol ve Kontrol+Melatonin grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur ve Diyabet+Melatonin grubunda hareketsizlik süresi Diyabetik Kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 21).



Şekil 21. Tüm grupların zorlu yüzme testinde hareketsizlik süresi (saniye). Sonuçlar Ortalama \pm Standart Hata olarak gösterilmiştir. *Kontrole göre ($p=0,01$), # Kontrol+Melatonin grubuna göre $p=0,004$), & Diyabetik Kontrol grubuna göre ($p=0,008$) anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.2.S100B Sonuçları

Deney gruplarının S100B değerleri Tablo 4’te verilmiştir. Gruplar arasında S100B değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p<0,05$).

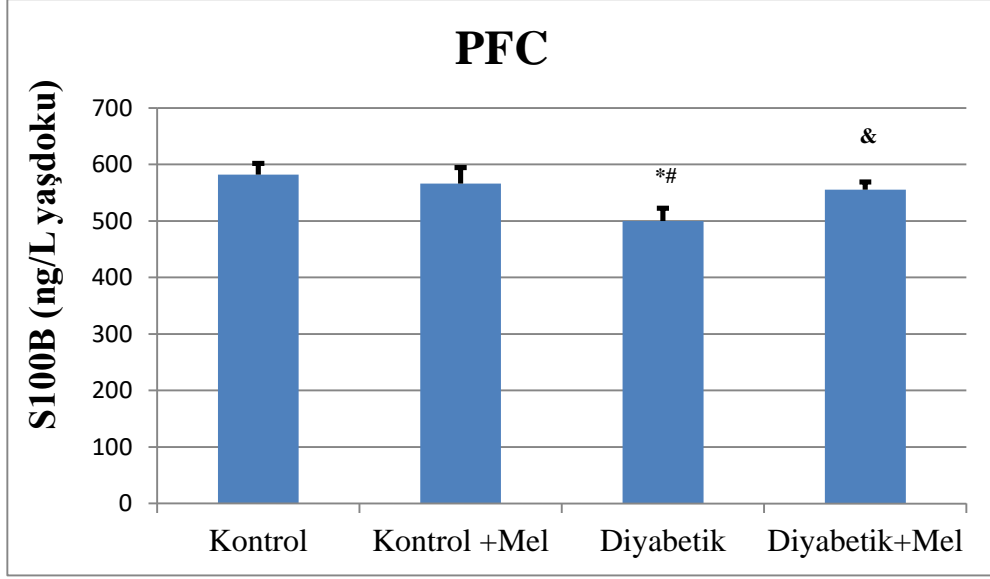
Tablo 4: Grupların S100B sonuçları (ng/L)

	Kontrol	Kontrol +Mel	Diyabetik	Diyabetik+Mel
PFC	582 \pm 19,95	566 \pm 28,34	499,75*# \pm 22,79	555,53& \pm 13,38
HİPOKAMPÜS	650,35 \pm 15,93	684,22 \pm 29,83	540,14*# \pm 20,32	675,18& \pm 46,87

*Kontrole, # Kontrol+Melatonin grubuna göre, & Diyabetik Kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.2.1.PFC S100B sonuçları

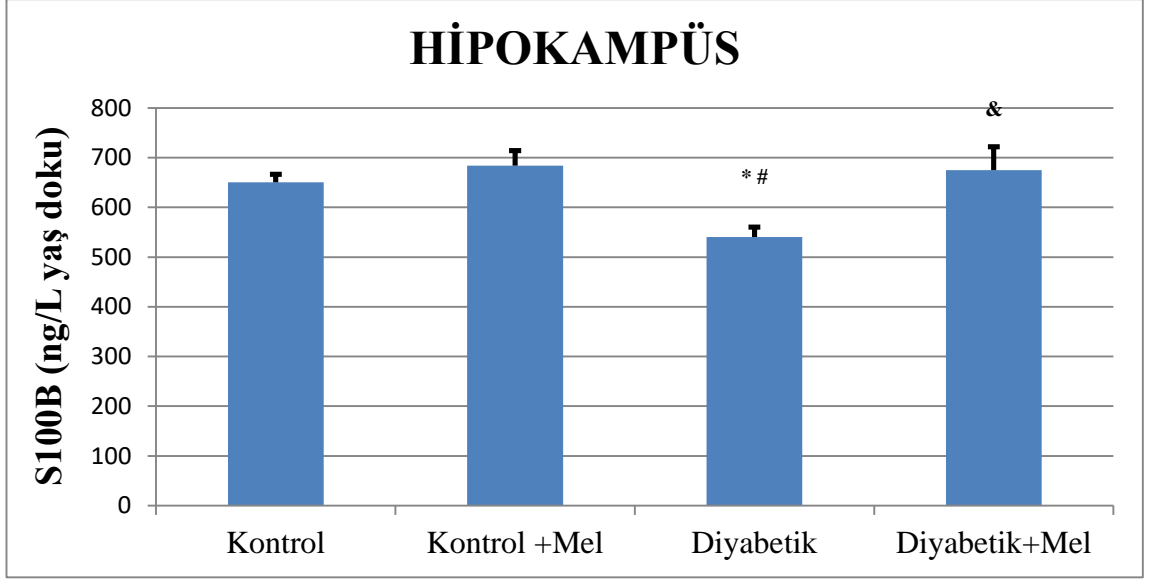
Tüm grupların PFC’den alınan doku örneklerinde Diyabetik Kontrol grubunun S100B değerleri Kontrol ve Kontrol+Melatonin grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur ve Diyabet+Melatonin grubunda ise S100B değerleri Diyabetik Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$)(Şekil 22).



Şekil 22. Tüm grupların PFC'den alınan doku örneklerinin S100B (ng/L yaş doku) düzeyleri. Sonuçlar Ortalama \pm Standart Hata olarak gösterilmiştir. *Kontrole göre ($p=0,032$), #Kontrol+Melatonin grubuna göre $p=0,05$), &Diyabetik Kontrol grubuna göre ($p=0,038$) anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.2.2.Hipokampus S100B sonuçları

Tüm grupların hipokampuslerinden alınan doku örneklerinde Diyabetik Kontrol grubunun S100B değerleri Kontrol ve Kontrol+Melatonin grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur. Diyabet+Melatonin grubunda ise S100B değerleri Diyabetik Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p<0,05$) (Şekil 23).



Şekil 23. Tüm grupların hipokampüsten alınan doku örneklerinin S100B (ng/L yaş doku) düzeyleri. Sonuçlar Ortalama \pm Standart Hata olarak gösterilmiştir. *Kontrole göre ($p=0,03$), #Kontrol+Melatonin grubuna göre ($p=0,021$), &Diyabetik Kontrol grubuna göre ($p=0,012$) anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3.AGE Sonuçları

Deney gruplarının PFC ve hipokampus doku örneklerindeki AGE değerleri Tablo 5'te verilmiştir. Gruplar arasında AGE değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p<0,05$).

Tablo 5: Grupların AGE sonuçları (ng/L)

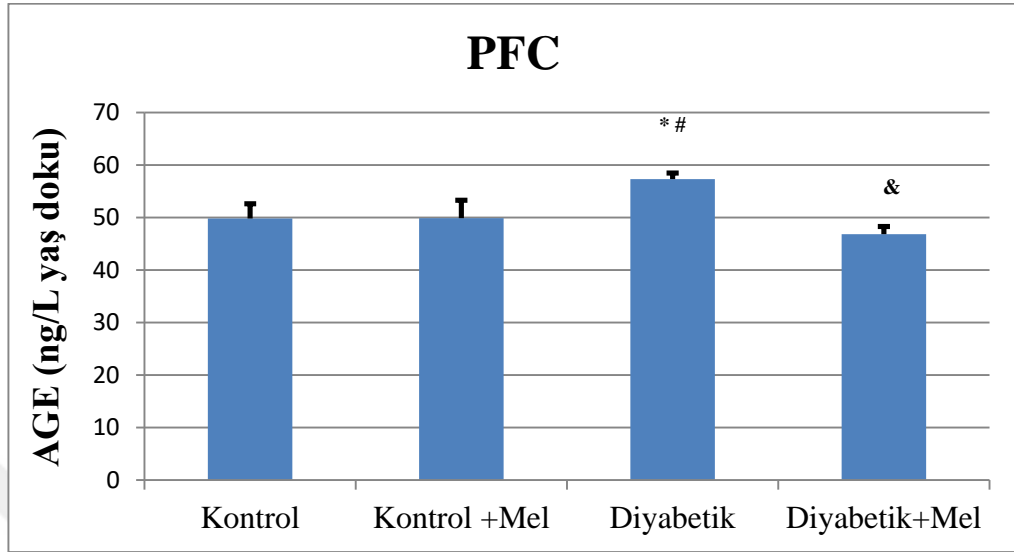
	Kontrol	Kontrol +Mel	Diyabetik	Diyabetik+Mel
PFC	49,81 \pm 2,84	49,88 \pm 3,46	57,31*# \pm 1,19	46,86& \pm 1,45
HİPOKAMPÜS	48,55 \pm 2,9	49,22 \pm 0,7	53,15 \pm 0,53	46,53 \pm 2,41

*Kontrole, # Kontrol+Melatonin grubuna göre, & Diyabetik Kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3.1.PFC AGE sonuçları

Tüm grupların PFC'den alınan doku örneklerinde Diyabetik Kontrol grubunun AGE değerleri Kontrol ve Kontrol+Melatonin grubuna göre anlamlı

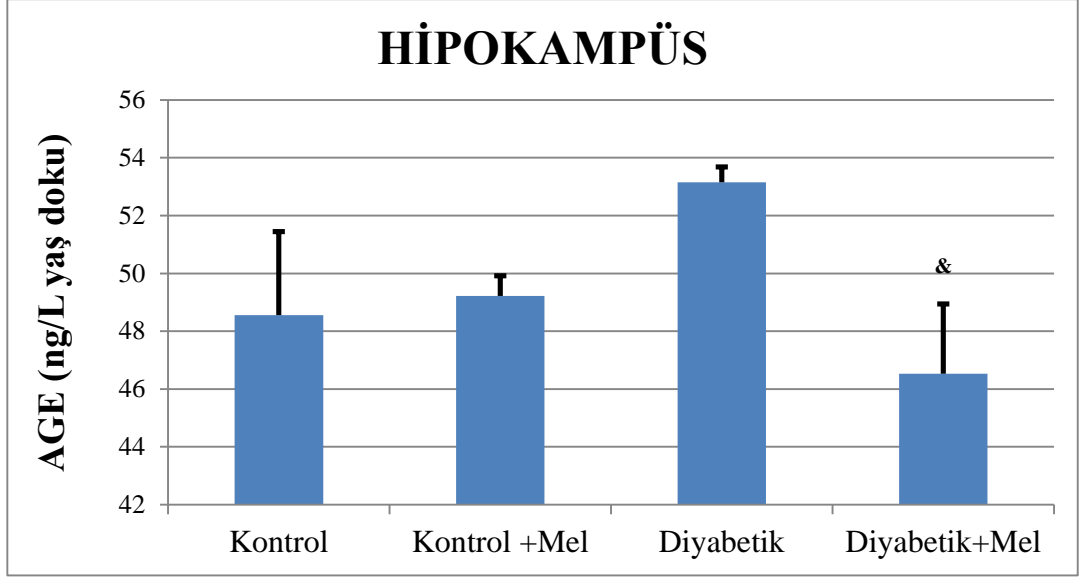
yüksek bulunmuştur ve Diyabet+Melatonin grubunda S100B değerleri Diyabetik Kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 24).



Şekil 24. Tüm grupların PFC'den alınan doku örneklerinin AGE (ng/L yaş doku) düzeyleri. Sonuçlar Ortalama \pm Standart Hata olarak gösterilmiştir. *Kontrole göre ($p=0,01$), #Kontrol+Melatonin grubuna göre $p=0,028$), &Diyabetik Kontrol grubuna göre ($p=0,000$) anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3.2.Hipokampus AGE sonuçları

Hipokampus AGE düzeyleri Diyabet+Melatonin grubunda Diyabetik Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diyabetik Kontrol grubunun AGE düzeyi diğer 3 gruba kıyasla yüksek olmasına rağmen bu sonuçlar istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p>0,05$)(Şekil 25).



Şekil 25. Tüm grupların hipokampüsten alınan doku örneklerinin AGE (ng/L yaş doku) düzeyleri. Sonuçlar Ortalama \pm Standart Hata olarak gösterilmiştir. [&]Diyabetik Kontrol grubuna göre ($p=0,02$) anlamlı farklılığı göstermektedir.

5.TARTIŞMA

Çalışmamızın sonucunda melatoninin diyabetik sıçanlarda depresyon benzeri davranış ile anksiyete davranışını azaltmada etkili olduğu bulunmuştur. Bu etkinin özellikle depresyon gibi ruh hali ile ilişkili beyin alanları olan PFC ve hipokampüsteki S100B ve AGE düzeylerindeki değişimlerle oluştuğu görülmüştür. S100B'nin beyin dokusunda diyabetle birlikte azaldığı ve melatonin tedavisi ile kontrol grupları seviyesinde korunduğu saptanmıştır. AGE düzeyleri ise özellikle diyabetle artma eğilimi gösterirken, melatonin AGE düzeylerini azaltmada etkili olmuştur.

Diyabet ile pek çok organ olumsuz olarak etkilenmektedir ve bunların arasında beyin de yer almaktadır. STZ ile oluşturulan deneysel diyabet modellerinde astrosit aktivasyonu, β amiloid birikimi, nöronal hasar ve hafıza bozuklukları gözlenmektedir. DM AD ve diğer demansların gelişim riskini artırmaktadır (13). Ayrıca depresyon ve anksiyete gelişim riski de diyabetle birlikte artmaktadır (2). Klinik çalışmalar diyabetik bireylerin diyabet olamayanlara göre daha depresif olduğunu ortaya koymuştur. DM, beyinde çeşitli nörokimyasal ve hormonal değişikliklere neden olarak depresyon ve anksiyeteye neden olmaktadır (125). Bunların etkisiyle depresyon ve kognitif fonksiyon bozukluklarının görülme riski diyabetle birlikte artmaktadır (2,126). Hatta depresif hastalarda gece plazma melatonin ritminin azaldığı tespit edilmiştir (26).

Diyabetik insan ve deneysel diyabet modellerinde beyinde gözlenen patolojik değişiklikler kognitif ve affektif bozuklukların ve beyinde vasküler komplikasyonların oluşum riskini artırmaktadır (25). Ayrıca noradrenerjik ve serotonerjik nöroiletimdeki bozuklukların da diyabetle ortaya çıkan depresyonla ilişkili olduğu bildirilmektedir (1). Diyabet ile ortaya çıkan kognitif ve affektif hastalıkların patogenezinde uzun süreli hiperglisemi majör etkili faktör olarak görülmektedir. Hiperglisemi çeşitli mekanizmalarla doku hasarına neden olmaktadır: Glukoz ve diğer şekerlerin akışında artış, AGE sentezi ve AGE reseptör yapımında artış, PKC yapımında artış ve heksozamin yolunun aşırı uyarımı bu mekanizmalar arasında yer almaktadır (80). Üstelik bu mekanizmalar nedeniyle oksidatif stresin aktive olduğu bildirilmektedir. Böylece SOR'un yapımı artarak antioksidan koruyucu mekanizmalar bozulmaktadır. AGE fizyolojik olarak çeşitli dokularda yaşla birlikte oluşmaktadır ve oluşum hızı diyabetle birlikte hızlanmaktadır (127). Son zamanlarda

yapılan çalışmalar AGE'nin diyabetik komplikasyonların ve AD gibi nörodejeneratif hastalıkların gelişiminde önemli rol oynadığını göstermiştir (128). Wang ve arkadaşları (2009) STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda artan AGE seviyesinin hipokampal nörojenezi inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar aynı zamanda AGE'nin diyabetle oluşan depresyon benzeri davranış ve kognitif fonksiyon bozukluklarından AGE miktarındaki artışın sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir (2). Bizim çalışmamızda da diyabetle birlikte depresyon ve kognitif fonksiyonlarla ilişkili beyin alanları olan PFC'de ve hipokampüste AGE düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. Ancak AGE düzeylerindeki artış PFC'de istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, hipokampus anlamlılık saptanamamıştır. Melatonin tedavisi ile AGE düzeylerinde azalma ile birlikte depresyon benzeri davranışta azalma saptanmıştır. Bu sonuçlar melatoninin diyabetle ortaya çıkan depresyon benzeri davranışı azaltıcı etkisinin beyin AGE düzeylerini azaltması ile gösterdiğini ortaya koymaktadır.

FST potansiyel antidepresan ilaçların test edilmesi için deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu test, sıçanların, test sırasında sınırlı bir alanda yüzmeye zorlandığında, sonunda deneysel koşullara teslim olmak için mücadele etmekten vazgeçmeleri üzerine kurulmuştur. Bu çaresizlik durumu depresyon benzeri davranış olarak değerlendirilir. Bizim çalışmamızda DM sonrasında sıçanlar hareketsizlik süresinin artması ile depresyon benzeri davranış göstermişlerdir. Diyabetik sıçanlarda gözlenen bu değerlendirme daha önceki deneysel çalışmalarla benzerlik göstermektedir. FST'de diyabetik fare ve sıçanların daha fazla depresyon benzeri davranış gösterdikleri ortaya konmuştur (10,25, 129, 130, 131). Melatonin uygulanan diyabetik sıçanlarda ise hareketsizlik süresinin kısaldığı ve tırmanma davranışın artması ile depresyon benzeri davranışın azaldığı saptanmıştır. Daha önceki çalışmalarda da gösterildiği gibi bizim çalışmamızda da melatoninin antidepresan etkili olduğu görülmektedir (26,27,132,133). Yapılan çalışmalarda melatoninin antidepresant etkilerinin daha çok antioksidan olmasıyla ilişkilendirilmiştir (27,132,133). Melatoninin antidepresan etkisinde beyinde beyinden kaynaklanan nörotrofik faktör (BDNF) yapımındaki artıcı etkisiyle ortaya çıktığı bildirilmektedir (27,134). Stefanovic ve arkadaşları (2016) melatoninin antidepresan etkisinin ortaya çıkmasında beyin noradrenalin seviyesini koruyarak gösterdiğini saptamışlardır. Bunun da mekanizması noradrenalin yıkımı ile ilgili enzimlerin yapımını azaltarak ve veziküler noradrenalin taşıyıcıların yapımını artırarak gerçekleşmesidir (26). Bu

bulgulara ek olarak melatoninin hipokampal hücre sayısının strese bağlı olarak azalmasını engellediği çeşitli araştırmacılar tarafından da gösterilmiştir (113,135).

Esteban ve arkadaşları (2010) melatonin hipokampüste monoamin sentezini artırarak serotonin, dopamin ve noradrenalin nöroiletimi üzerinde uzun dönem etkili olduğunu ortaya koymuşlardır (115). Diyabet ile ortaya çıkan diğer bir davranış değişikliği de anksiyetedir. EPM ile ölçülen anksiyete davranışı diyabetik sıçanlarda arttığı gösterilmiştir (136). Bu testte anksiyete davranışı gösteren sıçanlar kapalı kolda açık kola göre daha fazla zaman harcarlar. Çalışmamızda EPM sonuçları incelendiğinde diyabetik hayvanların kapalı kolda kalma sürelerinin arttığı gözlenmiştir. Melatonin uygulanan diyabetik grupta ise kapalı kolda kalma süreleri ile anksiyete davranışlarının azaldığı saptanmıştır. Diyabetle ortaya çıkan anksiyete davranışında özellikle hipokampüste oksidatif stres artışının etkili olduğu gösterilmiştir (11). Diyabetik hastalarda anksiyetenin %60 oranında olduğu bildirilmektedir. Daha önceden yapılmış pek çok çalışmada farklı anksiyete testleri ile değerlendirildiğinde diyabetik hayvanların anksiyete benzeri davranış gösterdikleri saptanmıştır (137,138). Siba ve arkadaşları (2017) diyabetle ortaya çıkan anksiyete benzeri davranıştan nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) yapımındaki bozuklukların rol oynayabileceğini bildirmektedirler (139). Anksiyete davranışı ile inflamasyon arasında ilişkiyi gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Özellikle proinflamatuvar sitokinlerin yapımında rol oynayan bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'nin hipokampüste yapımının artması anksiyete davranışına neden olduğu tespit edilmiştir (140). Melatoninin hipnotik etkili olduğu ve bu etkide beyin GABAerjik sinyal yolunu etkileyerek gerçekleştirildiği saptanmıştır. Melatoninin hipotalamusda GABA miktarını artırdığı gösterilmiştir. Uyku yoksunluğu ile oluşan anksiyete davranışın azaltılmasında amigdalada GABAerjik ve glutamaterjik ileti dengesini koruması ile gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Aşırı uyarılma sonucu eksitator iletimin artması veya inhibitör iletimin azalması ile anksiyete benzeri davranış ortaya çıkmaktadır. Patolojik anksiyete amigdaladaki eksitasyon ve inhibisyon dengesinin bozulması ile ortaya çıkmaktadır (109). Tedavi edilmeyen DM orta düzeyde bir stres oluşturarak çeşitli nöroendokrin cevaplar oluşturmaktadır. Bu nöroendokrin değişikliklerden biri de HPA aktivasyonudur. Kronik hiperglisemi veya HPA aktivasyonu diyabet ve depresyon arasındaki ilişkilidir (141). HPA fonksiyon bozukluğu depresyon ve anksiyetenin patofizyolojisi ile ilgili olduğu bildirilmektedir. HPA hiperaktivitesi depresif insanlarda gösterilmiştir. Çeşitli limbik

ön beyin yapıları HPA aktivitesini kontrol eder. PFC hipotalamus ve amigdala ile bağlantı kurar ve PFC harabiyeti depresyon ve anksiyeteye neden olmaktadır. Diyabetik hayvanlarda ve insanlarda PFC gri cevher kalınlığında ve nöron sayısında azalma gibi morfolojik değişiklikler gözlenmektedir. PFC ayrıca mezokortikal sistem nöronlarından dopamin salınımını kontrol eder. Mezokortikal dopaminerjik nöronlar ventral tegmental alandan kaynaklanırlar ve prefrontal kortekse uzanır. Dopaminerjik nöronlar korku, anksiyete ve depresyon ile ilişkilidir. Dopamin miktarındaki azalma anksiyete semptomlarını artırmaktadır. Sıçanlarda PFC dopamin seviyesinde azalma anksiyeteye neden olmaktadır (142,143). Depresyon benzeri davranışın melatonin uygulaması sonrası diyabetik hayvanlarda azalması melatoninin HPA üzerindeki düzenleyici etkisinden kaynaklanabilir.

Melatonin güçlü SOR temizleyicisi ve nöroprotektif olan pineal bezden salgılanan bir indolamindir (144). Daha önceden yapılmış pek çok çalışmada melatoninin diyabetik sıçanlarda gerek glukoz metabolizması gerekse diyabetle ortaya çıkan komplikasyonların özellikle oksidatif stresin azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir (16,23). Melatoninin STZ ile oluşturulan diyabetik sıçan beyinde nörokoruyucu etkileri bildirilmektedir (16,145). Melatoninin oksidatif stres ile oluşan nörotoksositeyi azaltmasındaki santral mekanizmanın antioksidan özelliğinden kaynaklandığı bildirilmektedir (19,146). Jangra ve arkadaşları da (2013) diyabetle ortaya çıkan nörotransmitter ve davranış değişiklikleri ile oksidatif stresin melatonin tedavisi ile azaltılabildiğini göstermişlerdir (146). Wongchitrat (2016) ve arkadaşları yüksek kan glukoz seviyesinin neden olduğu hipokampal nörogenezdeki azalmanın melatonin uygulaması ile engellendiğini saptanmışlardır (147).

Kronik hiperglisemi DM'de AGE yapımı ve birikimi ile birliktedir. AGE'nin RAGE ile etkileşimi inflamatuvar cevabın gelişimini tetiklemektedir. RAGE aktivasyonu diyabetin vasküler komplikasyonları ve AD gibi nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol oynar (13). AGE'nin dokularda birikimi mikroglyal hücrelerle astrositlerin aktivasyonuna neden olarak SOR'un ve nörotoksik sitokinlerin oluşumunu hızlandırır. Literatürde pek çok yayın astrositlerin diyabetle aktive olduğunu göstermiştir (12, 19, 148). AD ve diğer nörodejeneratif hastalıklarda astrositlerin fonksiyonlarını yitirdikleri ve glial hücrelerin aktivasyonu daha hastalık belirtileri görülmeden önce olduğu bildirilmektedir. Hasara cevap olarak astrosit aktivasyonu GFAP ve S100B protein yapımında artış ile karakterizedir (149,150).

S100B RAGE'ye bağlanarak nörodejenerasyon durumlarında hasar ve mikroglial aktivasyondan sorumlu tutulmaktadır. S100B'nin aşırı yapımı ile salınımının artması proinflatuar sitokinlerin ve iNOS yapımını ve oksidatif stresin oluşumunu uyarır. Bu nedenle çeşitli beyin hasarı veya nöroinflatuar durumlarda patolojik mekanizmaların aktivasyonunu göstermesi açısından plazmada S100B miktarının artması bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Artmış S100B düzeyleri öğrenme ve hafıza bozukluklarına da neden olabilmektedir. Travmatik beyin hasarı sonrasında plazma S100B seviyesindeki artış zayıf hastalık prognozu ile ilişkilendirilmektedir (150). S100B'nin koruyucu veya zararlı olması miktarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir: Nanomolar konsantrasyonlarda nöronal ölüm ve mitokondrial fonksiyon bozukluğuna karşı koruyucudur, buna karşın mikromolar konsantrasyonlarda ise özellikle nöroinflatuar etki ile iNOS aktivasyonuna neden olarak nörotoksik olabilmektedir (150, 151). Çalışmamızda diyabetle S100B içeriğinin hipokampus ve PFC alanlarında azaldığı, melatonin alan diyabetik hayvanlarda ise S100B seviyelerinin korunduğu gözlenmiştir. Literatürde S100B seviyesinin değişimi ile ilgili çok farklı sonuçlar bulunmaktadır. Nardin ve arkadaşları (2016) STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların hipokampuslarından S100B sekresyonunun arttığını bulmuşlardır (13). Glaser ve arkadaşları (2015) da diyabetik ketoasidoz sonrasında hipokampus ve serum S100B konsantrasyonunda azalmayı tespit etmişlerdir (152). İntraserebroventriküler STZ infüzyonunun serebrospinal sıvı S100B miktarında azalmaya neden olduğu saptanmıştır (153). Serebrospinal sıvıda azalma kronik serebral hipoperfüzyon ve diğer demans türlerinde de saptanmıştır (154,155). Baydaş ve arkadaşları (2003) diyabetik sıçan beyinde S100B'nin arttığını saptarlarken (16), Lebed ve arkadaşları (2008) ise STZ uygulamasından 3 gün sonra S100B seviyesinin arttığını ve bu değer 7. ve 14. günlerde azaldığını bulmuşlardır (12). Bu da göstermektedir ki kronik hiperglisemi astrosit fonksiyonlarda değişikliklere neden olabilmektedir. Literatürde S100B ile ilgili farklı sonuçların bulunması diyabetin süresi, farklı ölçüm yöntemlerine veya S100B'nin sentezinden sonra plazmaya salgılanmasının etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bazı durumlarda özellikle nanomolar konsantrasyonlarda bu protein nörotrofik ve nöroprotektiftir. Ayrıca travmatik beyin hasarı sonrasında intraserebroventriküler S100B infüzyonunun nörogenezi ve kognitif fonksiyonları artırdığı da saptanmıştır (151). Beyin hasarı sonrasında aktive olan glialar S100B yapımı ve sekresyonu artar. Major depresyondaki hastaların plazma serum S100B düzeylerinin yükseldiği tespit

edilmiştir (156,157). Ancak diğer bazı çalışmalar farklılığın olmadığını saptamışlardır (158). Postmortem çalışmada majör depresyonu olan hastalarda S100B immunreaktivitesinin hipokampal alanda azaldığını göstermişlerdir (15). Bizim çalışmamızda da hipokampal ve PFC S100B düzeylerinde diyabetle birlikte azalma tespit ettik ancak plazma düzeyleri incelenmemiştir. Farklı beyin hasarı tipleri serum S100B seviyesinde artışa neden olmaktadır. Ancak serumdaki bu artışın S100B yapımındaki artıştan mı yoksa salınımındaki artıştan mı kaynaklandığı tam net değildir (152). Çalışmamızda diyabetik grupta S100B düzeylerinin belirgin olarak daha düşük seviyelerde tespit edilmesi, hiperglisemi ile ortaya çıkan beyin hasarını takiben, bu proteinin santral sinir sistemi nöronları üzerindeki nörokoruyucu etkiler gösterebileceği dikkati çekmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

DM beyinde çeşitli yapısal değişikliklere neden olarak depresyon ve anksiyeteye riskini artırmaktadır. Pek çok klinik ve deneysel çalışma depresyon ve diyabet arasında patofizyolojik ilişkinin olduğunu ortaya koymuştur. Diyabet nöroiletimde ve sinaptik plastisitede bozulma, nörogenizde azalma ve depresyon ve aksiyete ile ilişkili beyin alanları olan PFC ve hipokampüste oksidatif stres artışına yol açtığı bildirilmektedir (1). Melatoninin pek çok deneysel çalışmada antidepresant etkili olduğu gösterilmiş pineal bezden salgılanan güçlü bir antioksidan hormondur. Diyabetik hastalarda plazma melatonin seviyesinde sağlıklı kontrollere göre azalma tespit edilmiştir (159).

Çalışmamızın sonuçları diyabetle depresyon benzeri ve anksiyete davranışları ile birlikte AGE düzeyleri artarken ve S100B düzeylerinde azalma saptandı. Melatonin tedavisi ile S100B azalması ve AGE artışı ile birlikte diyabetle ortaya çıkan davranışsal değişiklikler engelenbilmiştir. Sonuç olarak melatonin DM ile oluşan depresif ve anksiyete davranışı üzerinde antidepresif ve anksiyolitik etkiler gösterdi ve bu etki kısmen depresyon ve anksiyete ile ilişkili beyin alanları olan PFC ve hipokampus AGE ve S100B düzeylerindeki değişimlerle ortaya çıktığı ilk defa çalışmamızla gösterdik. Bu bulgular melatoninin diyabetle ortaya çıkan depresyon ve anksiyete davranışını azaltmak için gelecekte kullanılabilir etkili bir ajan olabileceğini desteklemektedir.

7.KAYNAKLAR

1. de Moraes H, de Souza CP, da Silva LM, Ferreira DM, Baggio CH, Vanvossen AC, Cristina de Carvalho M, da Silva-Santos JE, Bertoglio LJ, Cunha JM, Zanoveli JM. Anandamide reverses Depressive-like behavior, neurochemical abnormalities and oxidative-stress parameters in Streptozotocin-diabetic rats: Role of CB1 receptors. *Eur Neuropsychopharmacol.*, 26(10): 1590-600, 2016.
2. Wang SH, Sun ZL, Guo YJ, Yuan Y, Yang BQ. Diabetes impairs hippocampal function via Advanced glycation end product mediated new neuron generation in animals with diabetes-related Depression. *Toxicol Sci.*, 111(1): 72-9, 2009.
3. Ates M, Dayi A, Kiray M, Sisman AR, Agilkaya S, Aksu I, Baykara B, Buyuk E, Cetinkaya C, Cingoz S, Uysal N. Anxiety-and depression-like behavior are correlated with leptin and leptin Receptor expression in prefrontal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biotech Histochem.*, 89(3):161-71, 2014.
4. Khare P, Datusalia AK, Sharma SS. Parthenolide, an NF- κ B Inhibitor Ameliorates Diabetes-Induced Behavioural Deficit, Neurotransmitter Imbalance and Neuroinflammation in Type 2 Diabetes Rat Model. *Neuromolecular Med.*, 19(1): 101-112, 2017.
5. Koike S, Yano S, Tanaka S, Sheikh AM, Nagai A, Sugimoto T. Advanced Glycation End-Products Induce Apoptosis of Vascular Smooth Muscle Cells: A Mechanism for Vascular Calcification. *Int J Mol Sci.*, 16; 17(9), pii:E1567,2016.
6. Son KH, Son M, Ahn H, Oh S, Yum Y, Choi CH, Park KY, Byun K. Age-related accumulation Of advanced glycation end-products-albumin, S100B, and the expressions of advanced glycation End product receptor differ in visceral and subcutaneous fat. *Biochem Biophys Res Commun.*, 477(2):271-6, 2016.
7. Matsui T, Nakamura N, Ojima A, Nishino Y, Yamagishi SI. Sulforaphane reduces advanced Glycation end products (AGEs)-induced inflammation in endothelial cells and rat aorta. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.*, 26(9):797-807, 2016.
8. Chen S, An FM, Yin L, Liu AR, Yin DK, Yao WB, Gao XD. Glucagon-like peptide-1 protects Hippocampal neurons against advanced glycation end product-induced tau hyperphosphorylation. *Neuroscience*, 256:137-46, 2014.

9. Gobbo MG, Costa CF, Silva DG, de Almeida EA, Goes RM. Effect of Melatonin Intake on Oxidative Stress Biomarkers in Male Reproductive Organs of Rats under Experimental Diabetes. *Oxid Med Cell Longev.*, 2015:614579, 2015.
10. Redivo DD, Schreiber AK, Adami ER, Ribeiro DE, Joca SR, Zanoveli JM, Cunha. Effect of Omega-3 polyunsaturated fatty acid treatment over mechanical allodynia and depressive-like Behavior associated with experimental diabetes. *Behav Brain Res.*, 298(Pt B):57-64,2016.
11. Tang ZJ, Zou W, Yuan J, Zhang P, Tian Y, Xiao ZF, Li MH, Wei HJ, Tang XQ. Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of hydrogen sulfide in streptozotocin-induced Diabetic rats through inhibition of hippocampal oxidative stress. *Behav Pharmacol.*, 26(5):427-35,2015.
12. Lebed YV, Orlovsky MA, Nikonenko AG, Ushakova GA, Skibo GG. Early reaction of astroglial cells in rat hippocampus to streptozotocin-induced diabetes. *Neurosci Lett.*,444(2):181-5, 2008.
13. Nardin P, Zanotto C, Hansen F, Batassini C, Gasparin MS, Sesterheim P, Gonçalves CA. Peripheral Levels of AGEs and Astrocyte Alterations the Hippocampus of STZ-Diabetic Rats. *Neurochem Res.* 41(8):2006-16, 2016
14. Rong H, Wang G, Liu T, Wang H, Wan Q, Weng S. Chronic mild stress induces fluoxetine-reversible Decreases in hippocampal and cerebrospinal fluid levels of the neurotrophic factor S100B and its specific receptor. *Int J Mol Sci.*, 11(12):5310-22, 2010.
15. Gos T, Schroeter ML, Lessel W, Bernstein HG, Dobrowolny H, Schiltz K, Bogerts B, Steiner J, S100B-immunopositive astrocytes and oligodendrocytes in the hippocampus are differentially Afflicted in unipolar and bipolar depression: a postmortem study. *J Psychiatr Res.*, 47(11):1694-9,2013.
16. Baydas G, Nedzvetskii VS, Tuzcu M, Yasar A, Kirichenko SV. Increase of glial fibrillary Acidic protein and S100B in hippocampus and cortex of diabetic rats: effects of vitamin E, *European Journal of Pharmacology*, 462:67-71, 2003.
17. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36(1):1-9, 2004.
18. Salido E M, Bordone M, Laurentis a. Therapeutic efficacy of melatonin in reducing retinal Damage in an experimental model of early type 2 diabetes in rats. *Journal of Pineal Research*, 54(2):179-189, 2013.

19. Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and Memory impairment in rats. *Baydaş Eur J Pharmacol.*, 537(1-3):106-10, 2006.
20. Ozacmak VH, Sayan H, Arslan SO, Altaner S, Aktas RG. Protective effect melatonin on Contractile activity and oxidative injury induced by ischemia and reperfusion of rat ileum. *Life Sci.*, 76(14):1575-88, 2005.
21. Jung KH, Hong S-W, Zheng H-M, Lee D-H, Hong S-S. Melatonin downregulates nuclear Erythroid 2-related factor 2 and nuclear factor-kappaB during prevention of oxidative liver injury İn a dimethylnitrosamine model. *Journal of Pineal Research*, 47(2):173-183, 2009.
22. Gürpınar T, Ekerbiçer N, Uysal N, Barut T, Tarakçı F, Tuglu MI. The effects of the melatonin Treatment on the oxidative stress and apoptosis in diabetic eye and brain. *Scientific World Journal* 2012:498489, 2012.
23. Peschke E, Hofmann K, Pönicke K, Wedwkind D, Mühlbauer E. Catecholamines are tke key For explaining the biological relevance of insülin-melatonin antagonisms in type 1 and type2 Diabetes. *Journal of Pineal Research*, 52:389-396, 2012.
24. Kahya MC, Nazirođlu M, Çiğ B. Melatonin and selenium reduce plasma cytokine and brain Oxidative stress levels in diabetic rats. *Brain Inj.*, 29(12):1490-6, 2015.
25. de Morais H, de Souza CP, da Silva LM, Ferreira DM, Werner MF, Andreatini R, da Cunha JM Zanolveli JM. Increased oxidative stress in prefrontal cortex and hippocampus is related to Depressive-like behavior in streptozotocin-diabetic rats. *Behav Brain Res.*, 258:52-64, 2014.
26. Stefanovic B, Spasojevic N, Jovanovic P, Jasnic N, Djordjevic J, Dronjak S. Melatonin mediated antidepressant-like effect in the hippocampus of chronic stress-induced depression rats: Regulating vesicular monoamine transporter 2 and monoamine oxidase A levels. *Eur Neuropsychopharmacol.* 26(10): 1629-37, 2016.
27. Ramírez-Rodríguez G, Vega-Rivera NM, Oikawa-Sala J, Gómez-Sánchez A, Ortiz-López L, Estrada-Camarena E. Melatonin synergizes with citalopram to induce antidepressant-like behavior and to promote hippocampal neurogenesis in adult mice. *J Pineal Res.*, 56(4): 450-61, 2014.

28. C. Pacchierotti C, Iapichino S, Bossini L, Pieraccini F, Castrogiovanni P. Melatonin in psychiatric disorders: a review on the melatonin involvement in psychiatry. *Front. Neuroendocrinol.*, 22: 18-32, 2001.
29. Barrett EK, Barman SM, Boitano S, Brooks HL, 2015. Ganong'un tıbbi fizyolojisi. 24.Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, s449-50.
30. Bağrıaçık N. Diabetes Mellitus: tanımı, tarihçesi, sınıflaması ve sıklığı. *İ.U. Cerrahpaşlıfla Tıp Fakultesi Surekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Diabetes Mellitus Sempozyumu*.18 - 19 Aralık 1997, istanbul, s. 9-18.
31. Karamanou M, Protogerou A, Tsoucalas G, Androutsos G, Poulakou-Rebelakou E. Milestones in the history of diabetes mellitus: The main contributors. *World J Diabetes*, 7(1):1-7. 2016
32. Lakhtakia R. The history of diabetes mellitus. *Sultan Qaboos University Med J*, 13(3): 368-70, 2013.
33. Ahmed AM. History of diabetes mellitus. *Saudi Med J*, 2002; 23:373–8.
34. Jörgens V, Grüsser M. Happy birthday, Claude Bernard. *Diabetes.*, 62(7):2181-2, 2013.
35. Fang-Xu Jiang, Grant Morahan. Insulin-secreting b cells require a post-genomic concept. *World J Diabetes*, 25; 7(10): 198-208, 2016.
36. McCall AL, Farhy LS. Treating type 1 diabetes: from strategies for insulin delivery to dual hormonal control. *Minerva Endocrinol*, 38(2): 145–163, 2013.
37. Ahter D. Sanlioglu, Hasan Ali Altunbas, Mustafa Kemal Balci, Thomas S. Griffith, Salih Sanlioglu. Clinical utility of insulin and insulin analogs. *Islets* 5(2): 67–78, 2013.
38. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.*, 87(1): 4-14, 2010.
39. International Diabetes Federation. 7th ed. International Diabetes Federation; Brussels,Beigium:2015.IDFDiabetes Atlas [internet] <http://www.idf.org/diabetesatlas> Available from: Last accessed 23 Sep 2016.
40. AA El Mahalli. Prevalence and Predictors of Depression among Type 2 Diabetes Mellitus Outpatients in Eastern Province, Saudi Arabia. *Int J Health Sci (Qassim)*, 9(2): 119–126, 2015.
41. Yang W, Lu J, Weng J, et al Prevalence of diabetes among men and women in China. *N Engl J Med.*, 362: 1090–1101, 2010.

42. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract.*, 103(2):137-49, 2014.
43. Narayan KM, Boyle JP, Geiss LS, Saaddine JB, Thompson TJ. Impact of recent increase in incidence on future diabetes burden: U.S. 2005-2050. *Diabetes Care*, 29(9):2114-6, 2006.
44. Bong-Ki Lee, Sang-Wook Kim, Daehee Choi, Eun-Hee Cho. Comparison of Age of Onset and Frequency of Diabetic Complications in the Very Elderly Patients with Type 2 Diabetes. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 31(3): 416–423, 2016.
45. World Health Organization. The top ten causes of death. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en>.
46. IDF Diabetes Atlas Group. Update of mortality attributable to diabetes for the IDF Diabetes Atlas: Estimates for the year 2013. *Diabetes Res Clin Pract.*, 109(3):461-5, 2015.
47. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, Cavan D, Shaw JE, Makaroff LE. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes Res Clin Pract.* 31;128:40-50, 2017.
48. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.*, 37 Suppl 1: S81-90. 2014.
49. Radenković M, Stojanović M, Prostran M. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 78:13-31, 2016.
50. Balakumar P1, Maung-U K2, Jagadeesh G. Prevalence and prevention of cardiovascular disease and diabetes mellitus. *Pharmacol Res.*, 113(Pt A):600-609, 2016.
51. Babu SR, Eisenbarth GS. Juvenile diabetes. *Indian J Med Resv.*, 136(2): 2012.
52. Boldison J, Wong FS. Immune and Pancreatic β Cell Interactions in Type 1 Diabetes. *Trends Endocrinol Metab.*, 27(12):856-867, 2016.
53. Asmat U, Abad K, Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal.* Volume 24(5): 547–553, 2015.
54. Pociot F, Lernmark Å. Genetic risk factors for type 1 diabetes. *Lancet*, 4;387(10035):2331-9, 2016.

55. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet.*, 4;383(9911):69-82, 2014.
56. Christoffersson G, Rodriguez-Calvo T, von Herrath M. Recent advances in understanding Type 1 Diabetes. *5(F1000 Faculty Rev):110: 1-8*, 2016
57. Kondrashova A, Hyöty H. Role of viruses and other microbes in the pathogenesis of type 1 diabetes. *Int Rev Immunol.*, 33(4):284-95, 2014.
58. Wu J, Yan LJ. Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. *Diabetes Metab Syndr Obes.*, 8: 181-8, 2015.
59. Li X, Song D, Leng SX. Link between type 2 diabetes and Alzheimer's disease: from epidemiology to mechanism and treatment. *Clin Interv Aging.*, 10:549-60, 2015.
60. Furman BL. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc Pharmacol.*,70:5.47.1-20, 2015.
61. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2): 216–226, 2008.
62. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.*, 50(6): 537-46, 2001.
63. Deeds MC, Anderson JM, Armstrong AS, Gastineau DA, Hiddinga HJ, Jahangir A, Eberhardt NL, Kudva YC. Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Lab Anim.*, 45(3): 131-40, 2011.
64. Goyal SN, Reddy NM, Patil KR, Nakhate KT, Ojha S, Patil CR, Agrawal YO. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes - A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chem Biol Interact.* 244:49-63, 2016.
- 65- Kurçer Z, Karaoğlu D. Deneysel Diyabet Modellerinde Alloksan ve Streptozotosin Kullanımı. *Turk Jem.*, 16: 34-40, 2012.
66. Kawanami D, Matoba K, Sango K, Utsunomiya K. Incretin-Based Therapies for Diabetic Complications: Basic Mechanisms and Clinical Evidence. *Int J Mol Sci.*, 17(8), 2016.
67. Koulis C, Watson AM, Gray SP, Jandeleit-Dahm KA. Linking RAGE and Nox in diabetic micro- and macrovascular complications. *Diabetes Metab.*, 41(4): 272-81, 2015.

68. Qari F. Clinical characteristics of patients with diabetic ketoacidosis at the Intensive Care Unit of a University Hospital. *Pak J Med Sci.*, 31(6): 1463-6, 2015.
69. Umpierrez GE, Khajavi M, Kitabchi AE. Review: diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar nonketotic syndrome. *Am J Med Sci.*, 311(5): 225-33, 1996.
70. Satman İ. Diabetes Mellitus: Introduction, Secondary Complications. *Turkiye Klinikleri J Gen Surg-Special Topics*, 3(1): 1-5, 2010.
71. King P, Peacock I, Donnelly R. The UK prospective diabetes study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. *Br J Clin Pharmacol.*, 48(5): 643-8, 1999.
72. Jandeleit-Dahm K, Watson A, Soro-Paavonen A. The AGE/RAGE axis in diabetes-accelerated atherosclerosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, 35(3): 329-34, 2008.
73. Dursunoğlu D, Evrengül H, Kaftan A, Kılıç M, Sermez Y. Koroner Ateroskleroz ve Diyabet. *Turkiye Klinikleri J Cardiol.*, 17(1): 55-60, 2004.
74. Shin DI, Seung KB, Yoon HE, Hwang BH, Seo SM, Shin SJ, Kim PJ, Chang K, Baek SH. Microalbuminuria is independently associated with arterial stiffness and vascular inflammation but not with carotid intima-media thickness in patients with newly diagnosed type 2 diabetes or essential hypertension. *J Korean Med Sci.*, 28(2): 252-60, 2013.
75. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced Glycation End Products and Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus. *Biomolecules.*, 5(1): 194–222, 2015.
76. McCrimmon RJ, Ryan CM, Frier BM. Diabetes and cognitive dysfunction. *Lancet*, 379(9833): 2291-9, 2012.
77. Najjar S, Pearlman DM, Devinsky O, Najjar A, Zagzag D. Neurovascular unit dysfunction with blood-brain barrier hyperpermeability contributes to major depressive disorder: a review of clinical and experimental evidence. *J Neuroinflammation.*, 10:142, 2013.
78. Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet Neurol.*, 5(1): 64-74, 2006.
79. Hirano S, Shimada H, Yoshiyama Y. Neuroimaging studies of diabetes and risk of Alzheimer's disease. *Brain Nerve.*, 64(12): 1411-9, 2012

80. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res.*, 107(9): 1058-70, 2010.
81. Kizub IV, Klymenko KI, Soloviev AI. Protein kinase C in enhanced vascular tone in diabetes mellitus. *Int J Cardiol.*, 174(2): 230-42, 2014.
82. Kaneko M, Bucciarelli L, Hwang YC, Lee L, Yan SF, Schmidt AM, Ramasamy R. Aldose reductase and AGE-RAGE pathways: key players in myocardial ischemic injury. *Ann N Y Acad Sci.*, 1043: 702-9, 2005.
83. Rochette L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta.*, 1840(9): 2709-29, 2014.
84. Yan LJ. Pathogenesis of chronic hyperglycemia: from reductive stress to oxidative stress. *J Diabetes Res.*;2014:137919, 2014.
85. Ott C, Jacobs K, Haucke E, Navarrete Santos A, Grune T, Simm A. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biol.* 9;2:411-29, 2014.
86. Mima A. Incretin-Based Therapy for Prevention of Diabetic Vascular Complications. *J Diabetes Res.*;2016:1379274, 2016.
87. Nagai R, Shirakawa J, Fujiwara Y, Ohno R, Moroishi N, Sakata N, Nagai M. Detection of AGEs as markers for carbohydrate metabolism and protein denaturation. *J Clin Biochem Nutr.*, 55(1): 1-6, 2014.
88. Younus H, Anwar S. Prevention of non-enzymatic glycosylation (glycation): Implication in the treatment of diabetic complication. *Int J Health Sci (Qassim).*, 10(2): 261-77, 2016.
89. Lim M, Park L, Shin G, Hong H, Kang I, Park Y. Induction of apoptosis of Beta cells of the pancreas by advanced glycation end-products, important mediators of chronic complications of diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci.*, 1150: 311-5, 2008.
90. Jensen JL, Indurthi VS, Neau DB, Vetter SW, Colbert CL. Structural insights into the binding of the human receptor for advanced glycation end products (RAGE) by S100B, as revealed by an S100B-RAGE-derived peptide complex. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.*, 71(5): 1176-83, 2015.
91. Daffu G, del Pozo CH, O'Shea KM, Ananthakrishnan R, Ramasamy R, Schmidt AM. Radical roles for RAGE in the pathogenesis of oxidative stress in cardiovascular diseases and beyond. *Int J Mol Sci.*, 14(10): 19891-910, 2013.

92. Leclerc E, Sturchler E, Vetter S.W. The S100B/RAGE Axis in Alzheimer's Disease. *Cardiovasc Psychiatry Neurol.*, 2010: 539-581, 2010.
93. Donato R. RAGE: a single receptor for several ligands and different cellular responses: the case of certain S100 proteins. *Curr Mol Med.*, 7(8): 711-24, 2007.
94. Aurelia M.P. Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97: 55-74, 2015.
95. Santilli F, D'Ardes D, Davì G. Oxidative stress in chronic vascular disease: From prediction to prevention. 74: 23–37, 2015.
96. Mauriz JL, Collado PS, Veneroso C, Reiter RJ, Javier Gonzalez-Gallego. A review of the molecular aspects of melatonin's anti-inflammatory actions: recent insights and new perspectives. *J Pineal Res.*, 54(1): 1-14, 2013.
97. Emet M, Ozcan H, Ozel L, Yayla M, Halici Z, Hacimuftuoglu A. A Review of Melatonin, Its Receptors and Drugs. *Eurasian J Med.*, 48(2): 135–141, 2016
98. Özçelik F, Erdem M, Bolu A, Gülsün M. Melatonin: Genel Özellikleri ve Psikiyatrik Bozukluklardaki Rolü. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 5(2):179-203, 2013.
99. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *J Pineal Res.*, 61(3): 253-78, 2016.
100. Singh M, Jadhav HR. Melatonin: functions and ligands. *Drug Discovery Today* 19(9): 1410-1418, 2014.
101. Comai S, Gobbi G. Unveiling the role of melatonin MT2 receptors in sleep, anxiety and other neuropsychiatric diseases: a novel target in psychopharmacology. *J Psychiatry Neuro sci.*, 39(1): 6-21, 2014.
102. Galano A, Castañeda-Arriaga R, Pérez-González A, Tan DX, Reiter RJ. Phenolic Melatonin-Related Compounds: Their Role as Chemical Protectors against Oxidative Stress. *Molecules*. 21(11): pii: E1442, 2016.
103. Reiter RJ, Calvo JR, Karbownik M, Qi W, Tan DX. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. *Ann N Y Acad Sci.*, 917: 376-86, 2000.
104. Zhou XY, Zhang F, Hu XT, Chen J, Tang RX, Zheng KY, Song YJ. Depression can be prevented by astaxanthin through inhibition of hippocampal inflammation in diabetic mice. *Brain Res.* pii: S0006-8993(16)30839-3, 2016.

105. Moulton CD, Pickup JC, Ismail K. The link between depression and diabetes: the search for shared mechanisms. *Lancet Diabetes Endocrinol.*, 3(6): 461-71, 2015.
106. Liu W, Ge T, Leng Y, Pan Z, Fan J, Yang W, Cui R. The Role of Neural Plasticity in Depression: From Hippocampus to Prefrontal Cortex. *Neural Plast.*,2017: 6871089, 2017.
107. Peng GJ, Tian JS, Gao XX, Zhou YZ, Qin XM. Research on the Pathological Mechanism and Drug Treatment Mechanism of Depression. *Curr Neuropharmacol*, 13(4): 514-23, 2015.
108. Zanoveli JM, Morais Hd, Dias IC, Schreiber AK, Souza CP, Cunha JM. Depression Associated with Diabetes: From Pathophysiology to Treatment. *Curr Diabetes Rev.*, 12(3): 165-78, 2016.
109. Zhang L, Guo HL, Zhang HQ, Xu TQ, He B, Wang ZH, Yang YP, Tang XD, Zhang P, Liu FE. Melatonin prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: role of oxidative stress and balance between GABAergic and glutamatergic transmission. *Am J Transl Res.*, 15;9(5):2231-2242, 2017.
110. Ochoa-Sanchez R, Rainer Q, Comai S, Spadoni G, Bedini A, Rivara S, Fraschini F, Mor M, Tarzia G, Gobbi G. Anxiolytic effects of the melatonin MT(2) receptor partial agonist UCM765: comparison with melatonin and diazepam. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.*, 39(2):318-25, 2012.
111. Leonarda BE. Impact of inflammation on neurotransmitter changes in major depression: An insight into the action of antidepressants. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 48:261-7, 2014.
112. Shelton RC, Miller AH. Inflammation in depression: is adiposity a cause? *Dialogues Clin Neurosci.*, 13(1): 41–53, 2011.
113. Crupi R, Mazzon E, Marino A, La Spada G, Bramanti P, Cuzzocrea S, Spina E. Melatonin treatment mimics the antidepressant action in chronic corticosterone-treated mice. *J Pineal Res.*, 49(2): 123-9, 2010.
114. Tchekalarova J, Nenchevska Z, Atanasova D, Atanasova M, Kortenska L, Stefanova M, Alova L, Lazarov N. Consequences of long-term treatment with agomelatine on depressive-like behavior and neurobiological abnormalities in pinealectomized rats. *Behav Brain Res.*, 302: 11-28, 2016.

115. Esteban S, Garau C, Aparicio S, Moranta D, Barceló P, Fiol MA, Rial R. Chronic melatonin treatment and its precursor L-tryptophan improve the monoaminergic neurotransmission and related behavior in the aged rat brain. *Pineal Res.*, 48(2): 170-7, 2010.
116. Zephy D, Ahmad J. Type 2 diabetes mellitus: Role of melatonin and oxidative stress. *Diabetes Metab Syndr.*, 9(2):127-31, 2015.
117. Amaral FG, Turati AO, Barone M, Scialfa JH, do Carmo Buonfiglio D, Peres R, Peliciari-Garcia RA, Afeche SC, Lima L, Scavone C, Bordin S, Reiter RJ, Menna-Barreto L, Cipolla-Neto J. Melatonin synthesis impairment as a new deleterious outcome of diabetes-derived hyperglycemia. *J Pineal Res.*, 57(1): 67-79, 2014.
118. Kim MJ, Kim HK, Kim BS et al. Melatonin increases cell proliferation in the dentate gyrus of maternally separated rats. *J Pineal Res.*, 37: 193–197, 2004.
119. Baydas G, Reiter RJ, Yasar A, Tuzcu M, Akdemir I, Nedzvetskii VS. Melatonin reduces glial reactivity in the hippocampus, cortex, and cerebellum of streptozotocin-induced diabetic rats. *Free Radic Biol Med.*, 35(7): 797-804, 2003.
120. Goyal A, Failla MD, Niyonkuru C, Amin K, Fabio A, Berger RP, Wagner AK. S100B as a prognostic biomarker in outcome prediction for patients with severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma.*, 30(11): 946-57, 2013.
121. Schroeter ML, Sacher J, Steiner J, Schoenknecht P, Mueller K. Serum S100B Represents a New Biomarker for Mood Disorders. *Curr Drug Targets.* 14(11): 1237–1248, 2013.
122. Rajkowska G, Stockmeier CA. Astrocyte pathology in major depressive disorder: insights from human postmortem brain tissue. *Curr Drug Targets.*, 14(11):1225-36, 2013.
123. Thelin EP, Johannesson L, Nelson D, Bellander BM. S100B is an important outcome predictor in traumatic brain injury. *J Neurotrauma.*, 30(7): 519-28, 2013.
124. Celikbilek A, Akyol L, Sabah S, Tanik N, Adam M, Celikbilek M, Korkmaz M, Yilmaz N. S100B as a glial cell marker in diabetic peripheral neuropathy.. *Neurosci Lett.*, 558: 53-7, 2014
125. El Batsh MM. Antidepressant-like effect of simvastatin in diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol.*,93(8):649-56, 2015.

126. Ceretta LB, Réus GZ, Abelaira HM, et al. Increased prevalence of mood disorders and suicidal ideation in type 2 diabetic patients. *Acta Diabetol* 2012a; 49(Suppl 1): S227–S234
127. Beckman K.B, Ames B.N. The free radical theory of aging matures *Physiological Reviews*, 78 (2): 547-581, 1998
128. Yamagishi S, Imaizumi T. Diabetic vascular complications: Pathophysiology, biochemical basis and potential therapeutic strategy. *Curr. Pharm. Des.*, Vol. 11: 2279-2299, 2005.
129. Wayhs CA, Mescka CP, Guerreiro G, Moraes TB, Jacques CE, Rosa AP, Ferri MK, Nin MS, Dutra-Filho CS, Barros HM, Vargas CR. Diabetic encephalopathy-related depression: experimental evidence that insulin and clonazepam restore antioxidant status in rat brain. *Cell Biochem Funct.*,32(8): 711-9, 2014.
130. Réus GZ, Dos Santos MA, Abelaira HM, Titus SE, Carlessi AS, Matias BI, Bruchchen L, Florentino D, Vieira A, Petronilho F, Ceretta LB, Zugno AI, Quevedo J. Antioxidant treatment ameliorates experimental diabetes-induced depressive-like behaviour and reduces oxidative stress in brain and pancreas. *Diabetes Metab Res Rev.*, 32(3):278-88, 2016
131. Caletti G, Olguins DB, Pedrollo EF, Barros HM, Gomez R. Antidepressant effect of taurine in diabetic rats. *Amino Acids*, 43(4):1525-33, 2012
132. Hill M.N, Brotto L.A, Lee T.T, Gorzalka B.B. Corticosterone attenuates the antidepressant-like effects elicited by melatonin in the forced swim test in both male and female rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 27: 905-911, (2003)
133. Rebai R, Jasmin L, Boudah A. The antidepressant effect of melatonin and fluoxetine in diabetic rats is associated with a reduction of the oxidative stress in the prefrontal and hippocampal cortices. *.Brain Res Bull.*, 134:142-150, 2017.
134. Choudhury A, Singh S, Palit G, Shukla S, Ganguly S. Administration of N-acetylserotonin and melatonin alleviate chronic ketamine-induced behavioural phenotype accompanying BDNF-independent and dependent converging cytoprotective mechanisms in the hippocampus. *Behav Brain Res.*, 15(297): 204-12, 2016.

135. Ruksee N, Tongjaroenbuangam W, Mahanam T, Govitrapong P. Melatonin pretreatment prevented the effect of dexamethasone negative alterations on behavior and hippocampal neurogenesis in the mouse brain. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, 143:72-80, 2014.
136. Maciel RM, Carvalho FB, Olabiyi AA, Schmatz R, Gutierrez JM, Stefanello N, Zanini D, Rosa MM, Andrade CM, Rubin MA, Schetinger MR, Morsch VM, Danesi CC, Lopes STA. Neuroprotective effects of quercetin on memory and anxiogenic-like behavior in diabetic rats: Role of ectonucleotidases and acetylcholinesterase activities. *Biomed Pharmacother*, 84: 559-568, 2016.
137. Berk M, Kapczinski F, Andreazza A.C, Dean O.M, Giorlando F, Maes M. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35 (3): 804-817, 2011.
138. Binfaré R.W, Rosa A.O, Lobato K.R, Santos A.R, Rodrigues A.L. Ascorbic acid administration produces an antidepressant-like effect: evidence for the involvement of monoaminergic neurotransmission. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 33 (3): 530-540, 2009.
139. Siba IP, Bortolanza M, Frazão Vital MAB, Andreatini R, da Cunha JM, Del Bel EA, Zanoveli JM. Fish oil prevents rodent anxious states comorbid with diabetes: A putative involvement of nitric oxide modulation. *Behav Brain Res.*, 30;326:173-186, 2017.
140. Fan J, Fan X, Li Y, Guo J, Xia D, Ding L, Zheng Q, Wang W, Xue F, Chen R, Liu S, Hu L, Gong Y. Blunted inflammation mediated by NF- κ B activation in hippocampus alleviates chronic normobaric hypoxia-induced anxiety-like behavior in rats. *Brain Res Bull.*, 122:54-61, 2016.
141. Lenart L, Hodrea J, Hosszu A, Koszegi S, Zelena D, Balogh D, Szkibinszkij E, Veres-Szekely A, Wagner L, Vannay A, Szabo AJ, Fekete A. The role of sigma-1 receptor and brain-derived neurotrophic factor in the development of diabetes and comorbid depression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Psychopharmacology (Berl.)*, 233(7): 1269-78, 2016.
142. Zhou J, Zhang J, Luo X, Li M, Yue Y, Laudon M, Jia Z, Zhang R. Neu-P11, a novel MT1/MT2 agonist, reverses diabetes by suppressing the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in rats. *Eur J Pharmacol*, 812(5): 225-233, 2017.

143. Swaab DF, Bao AM, Lucassen PJ. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Res Rev.*, 4: 141–194, 2005.
144. Reiter R.J, Tan D.X, Burkhardt S. Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: amelioration with melatonin. *Mech. Ageing Dev.*, 123: 1007-1019, 2002.
145. Negi G, Kumar A, Kaundal RK, Gulati A, Sharma SS. Functional and biochemical evidence indicating beneficial effect of Melatonin and Nicotinamide alone and in combination in experimental diabetic neuropathy. *Neuropharmacology.* 58(3):585-92, 2010.
146. Jangra A, Datusalia AK, Khandwe S, Sharma SS. Amelioration of diabetes-induced neurobehavioral and neurochemical changes by melatonin and nicotinamide: implication of oxidative stress-PARP pathway. *Pharmacol Biochem Behav.*, 114-115: 43-51. 2013.
147. Wongchitrat P, Lansubsakul N, Kamsrijai U, Sae-Ung K, Mukda S, Govitrapong P. Melatonin attenuates the high-fat diet and streptozotocin-induced reduction in rat hippocampal neurogenesis. *Neurochem Int.*, 100: 97-109, 2016.
148. Jing YH, Chen KH, Kuo PC, Pao CC, Chen JK. Neurodegeneration in streptozotocin-induced diabetic rats is attenuated by treatment with resveratrol. *Neuroendocrinology.*, 98(2): 116-27, 2013
149. Hansen F, Pandolfo P, Galland F, Torres FV, Dutra MF, Batassini C, Guerra MC, Leite MC, Gonçalves CA. Methylglyoxal can mediate behavioral and neurochemical alterations in rat brain. *Physiol Behav.*, 164(Pt A):93-101, 2016.
150. Kabadi SV, Stoica BA, Zimmer DB, Afanador L, Duffy KB, Loane DJ, Faden AI. S100B inhibition reduces behavioral and pathologic changes in experimental traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 35(12):2010-20, 2015.
151. Kleindienst A, McGinn MJ, Harvey HB, Collejo RJ, Hamm RJ, Bullock MR. Enhanced hippocampal neurogenesis by intraventricular S100B infusion is associated with improved cognitive recovery after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 22: 645–655, 2005.
152. Glaser N, Lo W, Tancredi D, Orgain M, Puvenna V, Janigro D, O'Donnell M. Levels of S100B in brain and blood of rats with diabetic ketoacidosis. *Brain Res.*, 22;1624: 536-44, 2015.

153. Rodrigues L, Dutra MF, Ilha J, Biasibetti R, Quincozes-Santos A, Leite MC, Marcuzzo S, Achaval M, Gonçalves CA. Treadmill training restores spatial cognitive deficits and neurochemical alterations in the hippocampus of rats submitted to an intracerebroventricular administration of streptozotocin. *J Neural Transm (Vienna)*., 117(11):1295-305, 2010.
154. Vicente E, Degerone D, Bohn L, Scornavaca F, Pimentel A, Leite MC, Swarowsky A, Rodrigues L, Nardin P, de Almeida LM, Gottfried C, Souza DO, Netto CA, Goncalves CA. Astroglial and cognitive effects of chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Brain Res* 1251:204–212, 2009.
155. Chaves ML, Camozzato AL, Ferreira ED, Piazenski I, Kochhann R, Dall’Igna O, Mazzini GS, Souza DO, Portela LV. Serum levels of S100B and NSE proteins in Alzheimer’s disease patients. *J Neuroinflammation*, 7:6, 2010.
156. Hetzel G, Moeller O, Evers S, Erfurth A, Ponath G, Arolt V, et al. The astroglial protein S100B and visually evoked event-related potentials before and after antidepressant treatment. *Psychopharmacology*, 178(2–3): 161–166, 2005.
157. Schroeter ML, Steiner J. Elevated serum levels of the glial marker protein S100B are not specific for schizophrenia or mood disorders. *Mol Psychiatry*. 14(3): 235–237, 2009.
158. Schmidt FM, Mergl R, Stach B, Jahn I, Schönknecht P. Elevated levels of cerebrospinal fluid neuron-specific enolase (NSE), but not S100B in major depressive disorder. *World J Biol Psychiatry*., 16(2): 106–113, 2015.
159. E. Peschke, I. Stumpf, I. Bazwinsky, L. Litvak, H. Dralle, E. Muhlbauer Melatonin and type 2 diabetes - a possible link? *J. Pineal Res.*, 42: 350-358, 2007.

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



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



TOPLANTI TARİHİ : 06.10.2016
TOPLANTI NO : 2016/09

- 7- Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2016-46-06/10 Protokol no'lu "Melatoninin Diabetik Sıçanlarda Depresyon Benzeri Davranış ve AGE Düzeylerine 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 : Meryem ERGENÇ

Mail : meryemergenc@gmail.com

Doğum Tarihi : 27.03.1989

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Hemşirelik	Marmara Üniversitesi	2010
Yüksek Lisans	Fizyoloji	Bülent Ecevit Üniversitesi	2018
Doktora			

Denevimler

-İstanbul Tıp Fakültesi (Çapa) Hastanesi, Özel Cerrahi Servisi Hemşireliği (2010)

-Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dahiliye Yan Dallar Servis Hemşireliği (2012-2014)

-Kdz Ereğli Devlet Hastanesi Palyatif Bakım Ünitesi-Nöroloji Servis Hemşireliği (2014-)

Yayınlar

Diabetik Sıçanlarda Melatonin Uygulamasının Karaciğer, Böbrek, Mide, Pankreas ve Göz Dokularında Oksidatif Stres Üzerine Etkisi. Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi. DOI: 10.25048/tjdo.2017.19

Sertifikalar

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası