

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOZOTOSİN İLE İNDÜKLENMİŞ DİYABETİK RAT MODELİNDE
KUERSETİNİN HPA AKSI VE DEPRESYONA ETKİSİ**

Enver Ahmet DEMİR

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof.Dr. Hasan Serdar GERGERLİOĞLU

KONYA-2014

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOZOTOSİN İLE İNDÜKLENMİŞ DİYABETİK RAT MODELİNDE
KUERSETİNİN HPA AKSI VE DEPRESYONA ETKİSİ**

Enver Ahmet DEMİR

DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof.Dr. Hasan Serdar GERGERLİOĞLU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP)
Koordinatörlüğü tarafından 2013 – ÖYP – 089 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2014

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Enver Ahmet DEMİR tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda "doktora tezi" olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : "Ünvanı Adı SOYADI"
Üniversitesi İmza

Danışman : "Ünvanı Adı SOYADI"
Üniversitesi İmza

Üye : İmza

Üye : "Ünvanı Adı SOYADI"
Üniversitesi İmza

Üye : "Ünvanı Adı SOYADI"
Üniversitesi İmza

"Ünvanı Adı SOYADI"
Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

İmza
"Ünvanı Adı Soyadı"
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Eğitim sürecimde dinmez bir sabır ile yol gösteren, karşılaştığım her engelde desteğinden emin olmanın huzurunu yaşadığım danışmanım Prof.Dr. Hasan Serdar GERGERLİOĞLU'na; birlikte çalışabilmek onuruna eriştiğim ve fikri dünyama katkılarını hayatım boyunca hazine addederek muhafaza edeceğim Dr. Mehmet ÖZ'e; bu tez çalışmasında yer alan özgün görselleri hazırlayan kıymetli ve kadim dostum Dr. Muhammed İkbâl ALP'e; birlikte harcadığımız mesaiyi zaman ve emek paylaşımının çok ötesine taşıyan Betül YAZĞAN'a; bilimsel önderliği kadar çalışma azminden de feyz aldığım ve eğitimim boyunca kişisel gelişimim için imkân ve fırsat sunmaktan imtina etmeyen Prof.Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI'ya; akademik başarısının insani meziyetlerin en üstünleriyle harmanlanabileceği hususunda eşsiz bir emsal teşkil eden Prof.Dr. Rasim MOĞULKOÇ'a ve bilim insanı vakarını dâhil olduğum genç nesile incelikle aktaran Prof.Dr. Hakkı GÖKBEL'e sonsuz minnet duygularıyla şükranlarımı sunmayı borç bilirim.

Bu süreçte kendilerine ait olan vakti tükettiğim, vazifelerimi ihmal ettiğim, gün doğumlarına kadar yolumu beklettiğim en sevgili eşime ve en kıymetli varlığıma, oğluma, bilhassa teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	Sayfa
SİMGELER ve KISALTMALAR	4
1. GİRİŞ	5
1.1. Diyabetes Mellitus	5
1.1.1. Diyabetes Mellitus Tanısı	9
1.1.2. Diyabetes Mellitus Tipleri	10
1.1.2.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus	10
1.1.2.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus	11
1.1.2.3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus	11
1.1.2.4. Diğer Spesifik Nedenlere Bağlı Diyabetes Mellitus	12
1.1.3. Diyabetik Komplikasyonların Gelişimi	12
1.1.4. Diyabetes Mellitus Rodent Modelleri	14
1.1.4.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus Rodent Modelleri	14
1.1.4.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus Rodent Modelleri	15
1.2. Depresyon	15
1.2.1. Depresyon Tanısı	16
1.2.2. Depresyonun Gelişimi	17
1.2.3. Depresyon Hayvan Modelleri	17
1.2.3.1. Kronik Hafif Stres	18
1.2.3.2. Öğrenilmiş Çaresizlik	18
1.2.3.3. Anneden Ayırma	18
1.2.3.4. Sosyal Yenilgi Stresi	18

1.2.4. Hayvan Modellerinde Depresyonun Değerlendirilmesi	19
1.2.4.1. Porsolt Testi.....	19
1.2.4.2. Sükroz Tercih Testi	20
1.2.4.3. Kuyruk Asma Testi.....	20
1.2.5. Diyabet ve Depresyon İlişkisi	20
1.3. Oksidatif Stres	22
1.3.1. Reaktif Oksijen Türevleri	23
1.3.1.1. Süperoksit Anyonu	23
1.3.1.2. Hidrojen Peroksit.....	24
1.3.1.3. Hidroksil Radikali	24
1.3.2. Lipit Peroksidasyonu Ürünleri	24
1.3.3. Reaktif Nitrojen Türevleri	24
1.3.3.1. Peroksinitrit	24
1.3.3.2. Peroksinitröz Asit	25
1.3.4. Antioksidan Savunma.....	25
1.3.4.1. Süperoksit Dismutaz.....	26
1.3.4.2. Katalaz.....	26
1.3.4.3. Glutatyon Peroksidaz.....	26
1.3.5. Flavonoidler	26
1.3.5.1. Kuersetin.....	27
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	30

2.1. Kimyasallar.....	30
2.2. Hayvanlar.....	30
2.3. Porsolt Testi.....	32
2.4. Biyokimyasal Analizler.....	33
2.5. İstatistiksel Analizler.....	34
3. BULGULAR.....	35
3.1. Ağırlık ve Kan Şekeri.....	35
3.2. Porsolt Testi.....	37
3.3. Adrenokortikotropik Hormon ve Kortikosteron.....	39
3.4. Nitrik Oksit ve Malondialdehit.....	41
4. TARTIŞMA.....	44
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	49
6. ÖZET.....	50
7. SUMMARY.....	52
8. KAYNAKLAR.....	53
9. EKLER.....	63
Ek-A: Etik kurul raporu.....	63
10. ÖZGEÇMİŞ.....	64

SİMGELER ve KISALTMALAR

DALY = Sakatlığa ayarlanmış yaşam süresi

DM = Diyabetes mellitus

DSM = Mental bozuklukların tanısall ve sayımsal el kitabı

GAD65Ab = Glutamat dekarboksilaz 65 antikorı

GLUT4 = Glukoz taşıyıcı tip 4

H₂O₂ = Hidrojen peroksit

HPA = Hipotalamik-hipofizer-adrenal aks

HMGB1 = High-mobility group box-1

IA-2Ab = Adacık antijeni-2 antikorı

IAA = İnsülin otoantikorı

IL-6 = İnterlökin-6

I.P. = İntraperitoneal

IRS = İnsülin reseptör substratı

MCP-1 = Monosit kemoatraktan protein-1

NF-KB = Nükleer faktör-kappa B

NADPH = Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

·O₂ = Süperoksit anyonu

·OH = Hidroksil radikali

OHOO· = Peroksinitrit

ONOOH = Peroksinitröz asit

PAI = Plazminojen aktivator inhibitörü

ROO· = Lipit peroksil radikali

ROOH = Lipit hidroperoksit

ROS = Reaktif oksijen türevleri

STZ = Streptozotosin

TGF = Dönüştürücü büyüme faktörü

TNF- α = Tümör nekroz faktör-alfa

YLD = Sakatlıkla geçen süre

YLL = Erken ölüm nedeniyle kaybedilen süre

1. GİRİŞ

Diyabete sekonder gelişen glukozürüyi ilk defa tanımlayan İngiliz hekim Thomas Willis, 1864'te diyabetin acı ve kederden kaynaklandığını bildirmiş (Rubin ve Peyrot 2002) ve bu ifadesiyle diyabet ile depresyon arasındaki ilişkiden söz eden ilk bilim insanı olmuştur. İki önemli halk sağlığı problemi olan diyabetes mellitus ve depresyonun birbirleriyle ilişkileri güncel çalışmalarla daha net biçimde ortaya konulmaktadır. Günümüzde diyabetik bireylerin depresyona yatkın oldukları ve depresyonun ise diyabet insidansı açısından bir risk faktörü teşkil ettiği bilinmektedir (Gois ve ark. 2012). Dünya Sağlık Örgütü gelişmiş ülkelerde bile kronik hastalık tanısı alan bireylerin yalnızca % 50'sinin tedavi uyumu gösterdiğini belirtmekteyken (Sabaté 2003) birliktelik arz eden söz konusu iki kronik hastalığın yönetimi zorlu stratejileri kaçınılmaz kılmaktadır.

Diyabete eşlik eden depresyona karşı farklı antidepresan ilaçlar kullanılmakla beraber yan etki çeşitliliği ve sıklığı tedaviye uyumu güçleştirmektedir (Tamburrino ve ark. 2009). Bu sorun daha güvenli tedavi arayışlarını doğurmaktadır. Doğal bir flavonoid olan kuersetinin çeşitli etkileri arasında antidepresan benzeri özelliği dikkat çekmekle birlikte bu konuda yürütülmüş araştırmalar azdır. Bu bağlamda mevcut çalışmamız kuersetinin antidepresan benzeri etkisini hipotalamik-hipofizer-adrenal aks penceresinden ele alan ilk çalışma olma niteliğindedir. Kuersetinin diyabetik bireylerde antidepresan benzeri aktivitesi açısından güvenli ve doğal bir alternatif olarak önerilmeden önce hayvan modellerinde araştırılmasının gerekliliği bu çalışmanın hareket noktasını oluşturmuştur. Çalışmamızda diyabet ve depresyon komorbiditesinde kuersetinin antidepresan benzeri aktivitesi ve hipotalamik-hipofizer-adrenal aks dengesi araştırılmıştır.

1.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus (DM) insülin sekresyonu ve/veya fonksiyonundaki bozukluktan kaynaklanan bir metabolik hastalıktır. Bu metabolik hastalıkta karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki değişikliklerle birlikte insülinin fizyolojik fonksiyonlarındaki bozulma sonucunda hiperglisemi ortaya çıkar (Bastaki 2005, Molina 2010).

Günümüzde, dünyada 382 milyon insanda görülen DM, ülkemizde 7 milyondan fazla vaka ile erişkin (20 – 79 yaş) nüfusun %14,6'sını etkilemektedir ve 2035 yılında dünya genelinde 592 milyon insanda görüleceği ve 12 milyona yakın hasta ile Türkiye'nin DM'nin en sık karşılaştığı 10 ülkeden biri olacağı tahmin edilmektedir (International Diabetes Federation 2013). Dünya genelinde en sık görülen bulaşıcı olmayan hastalık olarak pandemi boyutuna ulaşan DM, akut ve kronik komplikasyonlarıyla en önemli ölüm sebeplerinden biri halini almıştır (Tripathi ve Srivastava 2006).

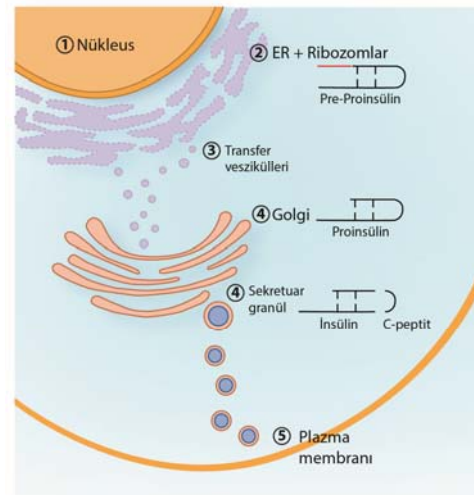
İnsülin pankreasın β hücrelerinden sekrete edilen peptit yapılı bir hormondur. Pankreatik β hücrelerin ribozomlarında sentezlenen *preproinsülin* endoplazmik retikulumu girerek parçalanınca *proinsülin* meydana gelir ve bu prohormon golgi cisimciğinde sekretuar veziküllere alınırken C peptit ayrılarak iki peptit zincirli (A ve B zincir) *insüline* dönüştürülür (McPhee ve Hammer 2010) (Şekil 1.1). Sekretuar vezikülde insülin; proinsülin ve C peptit ile birlikte bulunur ve β hücre stimülasyonu neticesinde portal dolaşıma birlikte sekrete edilirler; ancak C peptitin bilinen bir biyolojik aktivitesi yoktur. İnsülinle 1:1 oranında sekrete edilen C peptit safra yoluyla itrah edilmez ve üriner yolla atılırken insülinin karaciğerden ilk geçiş eliminasyonu yüksektir. Bu nedenle 24 saatlik idrardaki C peptit konsantrasyonu pankreasın insülin sekresyon kapasitesi hakkında plazma insülin seviyelerinden daha güvenilir bilgi sunar (Boron ve Boulpaep 2012).

İnsülin sekresyonunu temel uyarıcı plazma glukozudur. Glukoz, *GLUT 2* aracılığıyla pankreasın β hücresine girer ve glukokinaz enzimi tarafından glukoz-6-fosfat'a dönüştürülür. Bu aşama insülin sekresyonu açısından hız kısıtlayıcı basamağı teşkil eder. Daha sonra metabolize olan glukoz-6-fosfat hücre içi ATP/ADP oranını artırır ve bunun sonucunda ATP duyarlı K^+ kanalları aktive olur. Nihayetinde depolarize olan β hücrede voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarının açılmasıyla hücre içi Ca^{+2} seviyeleri artar ve ekzositoz ile insülin sekresyonu sağlanır (Porterfield ve White 2013).

İnsülinin karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması üzerine etkileri bulunmaktadır ve bu etkilerin başlıcaları şunlardır (Newsholme ve Dimitriadis 2001, Dimitriadis ve ark. 2011):

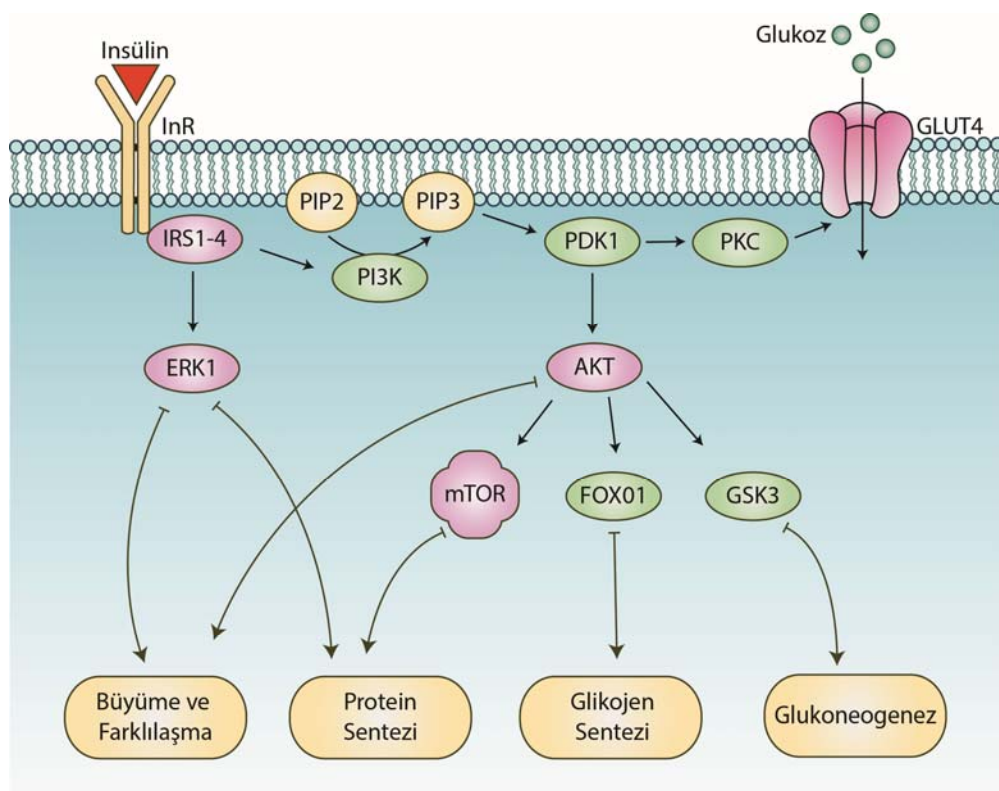
- a) Karbonhidrat metabolizması:
1. Adipoz doku ve iskelet kasında glukozun membranlardan geçişini hızlandırır.
 2. Adipoz doku ve iskelet kasında glikolizi hızlandırır.
 3. Adipoz doku, iskelet kası ve karaciğerde glikojen sentezini arttırırken iskelet kası ve karaciğerde glikojen yıkımını azaltır.
 4. Karaciğerde glikojenoliz ve glukoneogenezi inhibe eder.
- b) Yağ metabolizması:
1. Adipoz dokuda lipolizi azaltarak plazma serbest yağ asitlerini azaltır.
 2. Dokularda serbest yağ asidi ve trigliserit sentezini arttırır.
 3. Karaciğerde çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) üretimini arttırır.
 4. Adipoz doku ve iskelet kasına kandan trigliserit girişini arttırır.
 5. İskelet kası ve karaciğerde serbest yağ asidi oksidasyonunu azaltır.
 6. Karaciğerde kolesterol sentezini arttırır.
- c) Protein metabolizması:
1. Aminoasitlerin dokulara girişini arttırır.
 2. İskelet kası, adipoz doku ve karaciğer başta olmak üzere dokularda protein sentezini arttırır.
 3. İskelet kası başta olmak üzere dokularda protein yıkımını azaltır.
 4. Üre oluşumunu azaltır.

İnsülin tarafından sergilenen fizyolojik fonksiyonlara *insülin reseptörü* aracılık eder. Heterotetramerik bir protein olan insülin reseptörünün iki hücre dışı (α) ve iki transmembran (β) alt birimi vardır ve iki transmembran (β) alt birimleri insüline bağlanırken tirozin kinaz aktivitesine sahip β alt birimleri, otofosforilasyonla bir aktivasyon döngüsü oluştururlar (Frasca ve ark. 2008). Aktive olan insülin reseptörü tirozin kinazı, *insülin reseptörü substratı* (IRS1-4 ve Gab1) proteinleri başta olmak üzere bir takım sinyal düzenleyici proteinlerin fosforilasyon-



Şekil 1.1. İnsülin sentezi

unu sağlar ve bu sinyal düzenleyiciler yoluyla hücre içine *glukoz taşıyıcı tip 4* (GLUT4) aracılı glukoz alımı, antiapoptotik etki, protein sentezinin stimülasyonu gibi insülin fonksiyonları kontrol edilir (Frasca ve ark. 2008). Biyolojik sistemlere dair araştırmalarda fizyolojik rollerin belirlenmesi açısından “fizyopatogenez ve bozukluk” arasındaki neden–sonuç ilişkisi sıklıkla kullanılmaktadır. Bu bağlamda insülin reseptörünün veya insülin hormonu geninin genetik müdahalelerle işlevsiz hale getirildiği farelerde gelişme geriliği, hiperglisemi, ketoasidoz, β hücresi yetmezliği ve en nihayetinde ölüm görülmesi; insülin reseptörü substratı proteinlerinin ablasyonu ile ise gelişme geriliği, glukoz intoleransı, hiperglisemi ve (Gab1 yokluğunda) ölümlerle karşılaşılması (Nakae ve ark. 2001), bu hormonal yolağın görevine ve önemine dikkat çekmektedir. İnsülinin fizyolojik fonksiyonlarına aracılık eden temel hücre içi sinyalizasyon yolağı Şekil 1.2’de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. İnsülin reseptörünün hücre içi sinyalizasyonu. İnsülinin reseptörüne bağlanması çeşitli hücre içi sinyalizasyon yollarıyla büyüme/farklılaşma, protein sentezi, glikojen sentezi ve glukoneogeneze yol açar. IRS: İnsülin reseptör substratı, PI3K: Fosfoinozitol-3-kinaz, PIP2: Fosfotidilinozitol 4,5-bifosfat, PIP3: Fosfotidilinozitol 3,4,5-trifosfat, PDK: Fosfoinozitol bağımlı kinaz, PKC: Protein kinaz C, GSK: Glikojen sentaz kinaz

2001 yılında İngiliz endokrinolog Terence Wilkin tarafından öne sürülen “hızlandırıcı hipotez” henüz genel kabul görmemiş olmasına karşın tip 1 DM ve tip 2 DM arasında sıkı bir fizyopatolojik ilişkiden bahsetmektedir. Wilkin’e (2001) göre her iki majör DM tipi arasındaki temel fark β hücre kaybının ve hızlandırıcı faktörlerin (konstitüsyonel/intrinsik β hücre apoptozisi, insülin direnci ve otoimmünite) hızıdır. Bir derleminde Wilkin (2012), tip 1 DM’yi *hızlı DM*, tip 2 DM’yi *yavaş DM* olarak tanımlamış ve aynı fizyopatogeneze sahip olduğunu belirttiği bu iki tablonun bugüne kadar farklı biçimlerde ele alınmış olmasını, farklı klinik disiplinler (pediatri ve dahiliye) tarafından inceleniyor olmalarına bağlamıştır. Hızlandırıcı hipoteze göre her iki DM tipinin ortaya çıkması açısından kilit öneme sahip faktör “vücut kütlelidir” ve Batı tarzı diyetle bağlı artan obeziteyle korelasyon gösteren DM insidansı, bu yaklaşımın en güçlü kanıtıdır (Wilkin 2001, Wilkin 2012). Bu hipotez ciddi bir halk sağlığı problemi haline alan DM’nin yönetimine dair görece basit yaklaşımları mümkün kılacak olmasına rağmen hipoteze karşı çeşitli itirazların yükselmiş olması (Porter ve Barrett 2004, Gale 2007, Kuchlbauer ve ark. 2013, O’Connell ve ark. 2007), daha fazla sayıda ve daha kapsamlı retrospektif ve deneysel araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu ortaya koymaktadır.

1.1.1. Diyabetes Mellitus Tanısı

Diyabetes mellitus, tip 1 DM, tip 2 DM, gestasyonel DM ve diğer spesifik nedenlere bağlı DM olmak üzere dört ana başlıkta incelenebilir (American Diabetes Association 2010). DM’nin gestasyonel tipi dışındaki tiplerinin tanısının konulabilmesi için kan şekerinin en az sekiz saatlik açlık sonrası 126 mg/dL (7.0 mmol/L) ve üzerinde veya oral glukoz tolerans testinin (OGTT) ikinci saatinde 200 mg/dL (11.1 mmol/L) ve üzerinde olması gerekir (World Health Organization 2006). Gestasyonel diyabet tanısında ise açlık kan şekerinin 92 mg/dL (5,1 mmol/L) ve üzerinde veya OGTT’nin birinci saatinde 180 mg/dL (10,0 mmol/L) ve üzerinde veya OGTT’nin ikinci saatinde 153 mg/dL (8,5 mmol/L) ve üzerinde olması gerekir (Metzger ve ark. 2010). Kan glukoz seviyeleri haricinde tip 1 ve tip 2 diyabet tanısında, glisemik kontrol ve tedavi yanıtının değerlendirilmesi açısından değerli bir bulgu olan glikohemoglobin (HbA_{1c}) seviyelerinin kullanılması da mümkündür (Weykamp 2013). Yaklaşık 120 gün ömüre sahip eritrositlerdeki hemoglobinin kronik hiperglisemide glikozile olması neticesinde ortaya çıkan HbA_{1c} ’nin %50 kadarı tahlil

öncesindeki son bir ayda ve %25 kadarı önceki bir ayda ortaya çıkmaktadır. Tahlil öncesinde hastanın aç kalmasının gerekmemesi, anlık durumdan ziyade son üç aya kadarki kan glukoz seviyeleri hakkında bilgi vermesi, OGTT'nin uygulama zorluklarına sahip olmaması ve prandiyal durum ile diurnal ritimden etkilenmemesi HbA_{1c} tayinini kıymetli kılmaktadır (Florkowski 2013).

OGTT, açlık kan şekerinin tanı almamış diyabetik bireylerin %30 kadarında normal görülmesi ve bozulmuş glukoz toleransının tayininde yegane yöntem olması nedeniyle önemlidir (World Health Organization 2006).

OGTT testi için hastanın 300 mL su içerisinde çözülmüş 75 g (veya 1 g/kg) anhidroz glukoz solüsyonunu 5 dakika içerisinde içmesi sağlanır ve her 30 dakikada bir kan ve idrar örnekleri alınır. Sağlıklı bireylerde kan şekerinin renal glukoz geri alım eşiğini (160 – 180 mg/dL) aşmayacak şekilde en fazla 140 mg/dL dolaylarına çıkması ve 2 – 3 saat içerisinde normal seviyelerine düşmesi beklenirken diyabetik bireylerde kan glukoz seviyeleri daha yüksek görülmekle birlikte normal seviyelerine de daha yavaş düşer (Fursule ve ark. 2009).

1.1.2. Diyabetes Mellitus Tipleri

1.1.2.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus

Tip 1 DM genetik olarak yatkın bireylerde ortaya çıkan ve pankreasın insülin üreten β hücrelerini hedef alan otoimmün bir hastalıktır. β hücre harabiyeti makrofaj ve dendritik hücrelerin CD4 T-lenfositlere majör histokompatibilite kompleksleri aracılığıyla antijen sunmalarıyla başlar. Ardından aktive olan CD8 T-lenfositlerle β hücrelerin ölümü gerçekleşir. Tip 1 DM'ye sahip hastaların % 95'inde HLA-DR3 ve/veya HLA-DR4 alleli eksprese edilmekle birlikte inek sütü proteinlerine maruziyet, vitamin D eksikliği, virüsler, ilaçlar, toksinler gibi çevresel faktörler de hastalığın gelişiminde rol oynamaktadır. Bu nedenle tek yumurta ikizlerinin tümünde hastalık ortaya çıkmamaktadır (Gan ve ark. 2012).

Tip 1 DM'nin en az üç alt tipi vardır. Bunlardan en sık görüleni preadölesan veya erken adölesan çağda ortaya çıkar ve yavaş seyirlidir. Bu hastalarda tedaviye yanıt iyi olmakla birlikte eşlik eden diğer otoimmün hastalıklara sık rastlanır. Genellikle okul öncesi çağda ortaya çıkan alt tipi viral hastalıklarla ilişkilendirilmiş ve

hızlı seyredirken latent otoimmün diyabet olarak da adlandırılan erişkin tip 1 DM, otoantikörlerin varlığı ile tip 2 DM'den ayırte edilir (Guthrie ve Guthrie 2004). Tip 1 DM ile ilişkili adacık hücre otoantikörlerinin en önemlileri IAA (insülin otoantikörü), GAD65Ab (glutamat dekarboksilaz 65 antikörü) ve IA-2Ab'dir (adacık antijeni-2 antikörü) (Pihoker ve ark. 2005). Adacık hücresi otoantikörlerinden ilk keşfedileni IAA'dır ve hastalık belirteci olarak sensitivitesi en düşük olandır. GAD65Ab'nin sensitivitesi ise en yüksektir (Pipi ve ark. 2014). Bu üç antikörün mevcudiyeti hastalık açısından oldukça prediktiftir (Pihoker ve ark. 2005).

1.1.2.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitusun tüm tiplerinde bozulmuş glukoz kontrolü söz konusu olmasına karşın Tip 2 DM daha karmaşık bir patogeneze sahiptir ve β hücre kaybıyla birlikte çeşitli düzeylerde insülin direnci söz konusudur (Cernea ve Dobreanu 2013). İnsülin direnci başlıca kas ve yağda olmak üzere periferel dokularda gelişir ve genellikle ilk ortaya çıkan sorun olmasına rağmen hiperglisemiye yol açarak klinik düzeyde farkedilebilir safhaya gelmesi yıllar alır. İnsülin eksikliği ise periferel dokulardaki insülin direnci nedeniyle hiperaktif hale gelen pankreas β hücrelerinin tükenmesine ilaveten β hücresi hasarını şiddetlendiren glukoz ve lipid toksisitesi neticesinde meydana gelir (Guthrie ve Guthrie 2004). Tip 2 DM'nin gelişimiyle ilişkilendirilmiş olan 53 gen lokusu keşfedilmesine rağmen bunlardan kaynaklanan gen ürünleri henüz tam olarak ortaya konulamamıştır. İlaveten, yüksek yağlı beslenme, yüksek kalori alımı, düşük kalori tüketimi gibi çevresel faktörler de tip 2 DM'nin patogenezinde yer almaktadır (Kahn ve ark. 2014). Bir besinin standart besine (glukoz veya beyaz ekmek) göre kan şekerini hangi düzeyde arttırdığını kantitatif olarak ifade eden "glisemik indeks" (Jenkins ve ark. 2002) değeri yüksek besinler tüketmenin önemli sonuçlarından biri diyabettir (Jenkins ve ark. 2002, Sheard ve ark. 2004). İşlenmiş besinlerdeki hızlı kullanılabilir glukoz, tüketildiğinde yüksek insülin sekresyonuna sebep olarak reseptör azalan düzenlemesine (down-regülasyonuna) yol açması nedeniyle DM açısından risk teşkil etmektedir (Sánchez-Castillo ve ark. 2002).

1.1.2.3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus

Gestasyonel DM, ilk defa gebelik esnasında ortaya çıkan glukoz intoleransını ifade etmektedir (American Diabetes Association 2003). Gebelikte, özellikle ikinci

trimesterin ortalarından başlayarak üçüncü trimestere doğru artan bir insülin direnci görülür ve bu durumun muhtemel sebebi plasental hormonlardır. İnsülin direncini kompanse edebilmek amacıyla annenin β hücrelerinden insülin sekresyonu artar. Gestasyonel DM’de sağlıklı annelere kıyasla insülin direncinin fazla olması ve insülin sekresyonunu azlığı patolojinin temelini teşkil etmektedir (Buchanan ve Xiang 2005).

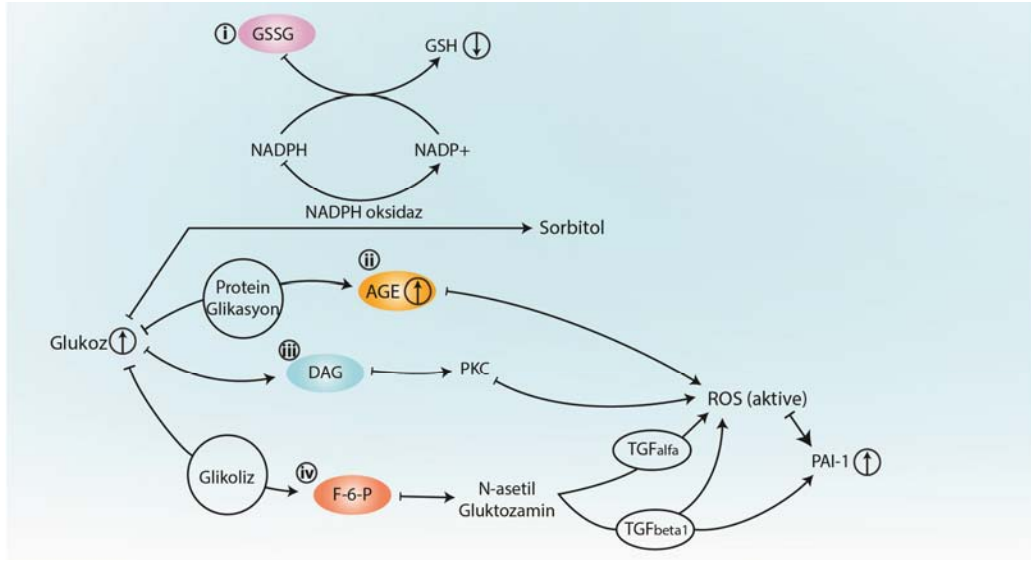
1.1.2.4. Diğer Spesifik Nedenlere Bağlı Diyabetes Mellitus

Diyabete yol açan diğer spesifik nedenler arasında genetik mutasyonlar, ekzokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler, enfeksiyonlar ve ilaç/toksin maruziyeti sayılabilir. Genetik mutasyonlar β hücreleri ilgilendirebileceği gibi insülin reseptörlerinin mutasyonlarını da kapsar. Pankreatit, pankreas tümörü gibi yaygın organ hasarına yol açan durumlar diyabete neden olan ekzokrin pankreas hastalıklarıdır. Diyabetin bu tipine neden olan endokrinopatiler; Cushing sendromu, glukagonoma, feokromasitoma gibi insülin antagonizmasına yol açan hastalıkları ifade etmektedir (American Diabetes Association 2010).

1.1.3. Diyabetik Komplikasyonların Gelişimi

Diyabetik ketoasidoz ve non-ketotik hiperosmolar durum gibi akut diyabetik komplikasyonların fizyopatogenezinde insülin yetmezliği veya direncine bağlı hipergliseminin akut etkilerinden (ör: ketozis, hipovolemi, serebral ödem) söz edilirken (Tripathi ve Srivastava 2006) kronik komplikasyonlar, hipergliseminin neden olduğu karmaşık metabolik bozuklukların eseridir. Söz konusu metabolik bozukluklar; (i) polyol yolunda glukozun sorbitole dönüşümü esnasında tüketilen nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) nedeniyle önemli bir hücre içi antioksidan olan redükte glutatyon seviyelerinin azalması (Brownlee 2005), (ii) ileri glikasyon son ürünlerinin artarak reseptör aracılı reaktif oksijen türevlerinin (ROS) üretimlerini arttırması (Tripathi ve Srivastava 2006), (iii) hiperglisemiye bağlı artan diaçilgliserolün protein kinaz C aktivasyonuna neden olarak NADPH oksidaz aracılığıyla ROS üretimini arttırması (Inoguchi ve ark. 2003) ve (iv) glikoliz ile oluşan fruktoz-6-fosfatın, UDP-N-asetilglukozamine dönüşerek ROS açığa çıkaran (Mariappan ve ark. 2007, Lee ve ark. 2005) TGF- α (dönüştürücü büyüme faktörü- α) ve TGF- β_1 ile ROS ve TGF- β_1 tarafından uyarılan plazminojen aktivatör inhibitörü-

1'in (PAI-1) ekspresyonlarını arttırması (Lee ve ark. 2005, Giacco ve Brownlee 2010) olarak sıralanabilir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Hiperglisemiye bağlı metabolik bozukluklar. GSSG: Okside glutatyon, GSH: Redükte glutatyon, NADPH/NADP+: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat, AGE: İleri glikasyon son ürünleri, DAG: Diaçilgliserol, F-6-P: Fruktoz-6-fosfat, TGF: Dönüştürücü büyüme faktörü, ROS: Reaktif oksijen türevleri, PAI-1: Plazminojen aktivatör inhibitörü-1

DM'nin mikrovasküler, makrovasküler ve non-vasküler kronik komplikasyonlarıyla ilişkilendirilen bozuklukların oksidatif stres noktasında bulunuyor olmaları dikkat çekicidir. Hastalığın ortaya çıkmasından –en azından kısmen– sorumlu olan oksidatif stres (Zatalia ve Sanusi 2013) ile DM arasındaki ilişki, oksidatif stresin DM komplikasyonlarını kötüleştirmesi ve DM'nin ise oksidatif stresi arttırması nedeniyle iki yönlüdür (Maritim ve ark. 2003). Söz konusu diyabetik komplikasyonlar tıbbi literatürde sıklıkla nefropati, nöropati, retinopati ve kardiyovasküler patolojiler ile sınırlı biçimde ele alınmaktayken diyabete sekonder gelişen psikiyatrik bozukluklar gözden kaçırılmaktadır. Halbuki “diyabetes mellitus” ifadesinin mucidi İngiliz hekim Thomas Willis, henüz 1684 senesinde “bu marazı diğer depresyonlar ve canlı ruhunun bozuklukları ile birlikte keder ve büyük acı oluşturmakta veya kışkırtmaktadır” ifadesiyle diyabet ve depresyon arasındaki ilişkiye işaret etmiştir (Christodoulou 1987). Günümüzde yürütülen araştırmaların da katkısıyla diyabet ve depresyon komorbiditesinin önemi daha fazla anlaşılır hale gelmektedir.

DM'nin her iki majör tipi (tip 1 ve tip 2) için karakteristik olan pankreas adacık β hücresi hasarının gelişiminden hiperglisemi, lipotoksisite, otoimmünite/enflamasyon, adipokinler ve amiloidoz sorumlu tutulmaktadır (Cernea ve Dobreanu 2013). Hiperglisemiye sekonder gelişen glukotoksik β hücre hasarında oksidatif stresin de rolü vardır (Robertson 2004, Chang-Chen ve ark. 2008). Kronik oksidatif stresin insülin gen ekspresyonunu baskılaması mevcut patolojiye katkıda bulunur (Robertson 2004). Hiperlipidemi β hücrelerde apoptozisi indüklerken tip 1 DM'nin gelişiminde temel etken olan otoimmüniteye tip 2 DM'de %10 dolaylarında rastlanır ve artan proenflamatuar sitokinlerle birlikte β hücre hasarında pay sahibidir (Chang-Chen ve ark. 2008). Adipoz dokudan salgılanan adipokinlerden ikisi olan *leptin* ve *resistin* fizyolojik düzeylerinin üzerinde insülin sinyalizasyonunu bozarak, proenflamatuar sitokinleri arttırarak ve apoptozisi indükleyerek β hücre hasarına yol açarlar (Dunmore ve Brown 2013, Antuna-Puente ve ark. 2008). Özellikle tip 2 DM'nin karakteristik histopatolojik bulgularından olan amiloid polipeptit agregasyonu β hücre hasarına neden olur (Cernea ve Dobreanu 2013).

1.1.4. Diyabetes Mellitus Rodent Modelleri

1.1.4.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus Rodent Modelleri

DeneySEL tip 1 DM çalışmalarında spontan diyabetik hayvan soyları veya kimyasal yolla diyabetin indüklenmesi tercih edilir. Kullanılan çeşitli spontan diyabetik hayvan soyları bulunmakla birlikte bunlardan en fazla tercih edilenleri non-obez diyabetik (NOD) fare ve biyo-üretim (BB) sıçandır (Chatzigeorgiou ve ark. 2009). Spontan diyabetik hayvanlarda gelişen DM otoimmün vasıfta olması nedeniyle insanlarda görülen tip 1 DM'ye yakın özellikler sergilemektedir. Buna karşın hayvanların doğumlarından sonra diyabet tablosunun gelişmesi için zamana ihtiyaç duyulması, eşlik eden diğer otoimmün patolojilerin görülmesi ve pahalı olması gibi kısıtlılıklara sahiptir. Kimyasal yolla diyabetin indüklenmesi ise hem kısa sürede hem de düşük masrafla tip 1 DM'de görülene benzer şekilde hiperglisemi ve insülin eksikliği oluşturmaktadır. Bu nedenle β hücrelerini doğrudan ilgilendirmeyen ve araştırılan patolojinin temelde hiperglisemiyle ilişkili olduğu durumlarda kimyasal yolla indüklenen diyabetik hayvan modellerinin kullanılması önerilir. Kimyasal yolla diyabet indüksiyonu için alloksan veya streptozotosin kullanılır. Alloksan, serbest radikallere karşı savunması zayıf olan β hücrelere oksidatif hasar ile ölüme yol açar

(King 2012). Streptozotosin (STZ) ise *Streptomyces achromogenes*'ten elde edilen bir glukozamin-nitrozüre bileşimidir (Pabbidi ve ark. 2008). Bu diyabetojenin pankreas β hücrelerindeki GLUT 2 glukoz taşıyıcılar tarafından selektif olarak hücre içine alınması DNA alkilasyonu yoluyla β hücre harabiyeti ile sonuçlanır (Hosokawa ve ark. 2001) Tip 1 DM modeli oluşturmak amacıyla farelerde 100 – 200 mg/kg ve sıçanlarda 35 – 65 mg/kg tek doz STZ enjeksiyonu gerçekleştirilir (King 2012).

1.1.4.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus Rodent Modelleri

Tip 1 DM modeli olarak kullanılanlara benzer şekilde tip 2 DM için de spontan diyabetik hayvan soyları söz konusudur ve bu soylarda tip 2 DM fizyopatogenezinde rol oynayan periferik insülin direnci ve defektif insülin sekresyonu gözlenir (Srinivasan ve Ramarao 2007). Ayrıca yüksek yağlı diyet ile beslenme yoluyla da tip 2 DM tablosu meydana getirilebilmektedir. Toplam enerji içeriğinin % 58'i yağdan karşılanacak şekilde hazırlanan bir diyet neticesinde geliştirilen tip 2 DM modelinin herhangi bir genetik müdahale gerektirmemesi sebebiyle insanlardaki durumu daha iyi yansıttığı düşünülmektedir (King 2012).

1.2. Depresyon

Muhtemelen insanoğlunun yeryüzündeki varlığı kadar eski bir duygu durum bozukluğu olan depresyona dair ilk metinler, kara safra anlamına gelen “melaina chole” ifadesiyle antik Yunan'da Hipokrat'a kadar uzanmaktadır. 14. yüzyıl itibariyle İngilizce metinlerde karşımıza çıkmaya başlayan bu ifade yaklaşık 300 yıl süren Avrupa Rönesans'ının etkisiyle hastalıktan ziyade “deha”nın bir yansıması olarak görülmüşken 18. yüzyılda tekrar bugünkü karşılığına yakın şekilde “depresyon”u tarif etmek üzere kullanılmaya başlanmıştır (Jackson 2008). Esasında Batı dünyasında Rönesans sonrasında yerleşen melankoli anlayışının temel kaynaklarını Hipokrat, Efesli Rufus, Galen gibi antik çağ filozoflarının fikirlerini sistematik biçimde ele alan ve kendi dönemlerine ait güncel tıbbi bilgilerle sentezleyen Ebu Bekir el-Razi, İshak İbn-i İmran, Huneyn İbn-i İshak, İbn-i Sina gibi hekimlerin eserleri şekillendirmiştir (Abou-Aly 1992). 19. yüzyılda Wilhelm Griesinger ile başlayarak 20. yüzyıla Emil Kraepelin ile taşınan yeni ekolde depresyonun da içinde bulunduğu psikiyatrik bozuklukların tanımlanması ve sınıflandırılması üzerine yoğunlaşmış (Jackson 2008) ve en nihayetinde 1952 yılında Amerikan Psikoloji Derneği tarafından psikiyatrik

bozuklukların tanısıl kriterlerinin belirlendiği “Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı” (DSM) yayınlanmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü’ne göre depresyon tüm dünyada, her yaşta 350 milyondan fazla insanı etkilemektedir ve dünya genelinde ilk sırada yer alan sakatlık sebebidir (World Health Organization 2012). Depresyon; alt solunum yolu hastalıkları ve ishali hastalıklardan sonra global hastalık yükünün üçüncü sebebidir (Ferrari ve ark. 2013). Bu bozukluk yalnızca yaşam kalitesini düşürmez, aynı zamanda yaşam süresini de kısaltır. İntihar teşebbüsünde bulunanların yarısında kişileri intihara sürükleyen zeminin depresyon olduğu görülmektedir (Reddy 2010). Depresyondan muztarip insanların yaklaşık dörtte biri yatağa bağlı olmalarına yol açan sağlık sorunlarıyla mücadele etmektedir (Reddy 2010). Bu komorbid durumlar depresyonla ilişkili DALY (disability-adjusted life year; sakatlığa ayarlanmış yaşam süresi) oranlarının artışı beraberinde getirmektedir. Dünya Bankası tarafından oluşturulan ve daha sonra Dünya Sağlık Örgütü tarafından kullanılmaya başlanan DALY, morbidite ve mortalitenin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Bousquet ve ark. 2005). DALY, sakatlıkla geçen süre (YLD; years lost due to disability) ve erken ölüm nedeniyle kaybedilen sürenin (YLL; years of life lost due to premature mortality) toplamını ifade eder. Depresyonun YLD’ye doğrudan katkısı ve ilişkili olduğu hastalıkların ise YLL’yi yükseltmesi nedeniyle 291 hastalık içerisinde en yüksek DALY sergileyen 11. hastalık depresyondur (Murray ve ark. 2012). 1990 yılından 2010 yılına kadar geçen 20 yılda DALY oranı açısından yapılan sıralamada depresyonun dört basamak yükselmiş olması ise ayrıca dikkat çekicidir (Murray ve ark. 2012).

1.2.1. Depresyon Tanısı

Amerikan Psikoloji Derneği tarafından farklı zamanlarda yayınlanan kitapların sonuncusu olan DSM-V’te (American Psychological Association 2013) majör depresif bozukluk (yani klinik depresyon) için belirlenen tanı kriterleri i) üzüntü/keder, ii) ilgi veya haz yokluğu, iii) kilo kaybı veya kilo alamama, iştah artışı veya azalması, iv) uykusuzluk veya aşırı uyku hali, v) psikomotor ajitasyon veya retardasyon, vi) yorgunluk/bitkinlik, vii) değersizlik hissi veya anlamsız suçluluk duygusu, viii) düşünme ya da konsantrasyon yeteneğinin bozulması veya kararsızlık, ix) tekrarlayan ölüm veya intihar düşüncesi, şeklinde sıralanmış ve bu kriterlerden en az beşinin (biri

depresif duygudurum ya da anhedoni olmak şartıyla) ardışık iki hafta boyunca varlığı aranmıştır.

1.2.2. Depresyonun Gelişimi

Depresyonun oluşumuna dair farklı yaklaşımlar öne sürülmüştür ve başlıcaları monoaminlerin eksikliği, nörotrofik faktörler, bozulmuş GABAerjik ve glutamaterjik aktivite ve HPA aksı disregülasyonunda söz etmektedir. Muhtelemeden depresyon, söz konusu yaklaşımlara konu olan patolojilerin birkaçının birlikteliğine bağlıdır.

Serotonin, dopamin ve norepinefrin serbestleyen nöronların anatomik yerleşimleriyle birlikte bu monoaminlerin geri alımını veya yıkımını engelleyen maddelerin antidepresan aktivite sergilemesi, depresyonun gelişiminde bahsedilen nörotransmitterlerin eksikliğinin rol oynadığını düşündürmektedir (Hasler 2010).

Erişkin beyinde beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) ve nörotrofin-3'ün (NT-3) serotonerjik nöronların büyümesini ve rejenerasyonunu uyarması, hayvanlarda BDNF enjeksiyonunun antidepresan benzeri etki ortaya çıkarması ve antidepresanların hipokampal BDNF seviyelerinde artışa neden olması nörotrofik faktörlerin depresyonla ilişkisine işaret etmektedir (Bondy 2002).

Depresif bireylerin prefrontal kortekslerinde GABAerjik aktivitenin azalması ve glutamaterjik aktivitenin artışıyla birlikte glutamat N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör blokeri olan ketaminin antidepresan aktivite sergilemesi bozulmuş GABAerjik ve glutamaterjik aktivitenin depresyon gelişiminde rolü bulunduğunu düşündürmektedir (Hasler 2010).

Depresif bireylerde CRH yüksekliğiyle birlikte hiperkortizoleminin görülmesi ve santral glukokortikoid reseptörlerinin yanıtsızlığı nedeniyle CRH negatif geri bildirimini bozulması HPA aksı disregülasyonunu depresyon gelişimdeki rolünü düşündürmektedir. Antidepresanların CRH negatif geri bildirimindeki bozukluğu düzeltilmesi ise bu yaklaşımı destekleyen bir durumdur (Pariante ve Lightman 2008).

1.2.3. Depresyon Hayvan Modelleri

İnsanlarda görülen depresyon genetik, metabolik ve çevresel faktörlere bağlıdır ve prelinik çalışmalar için muhtemel tüm faktörlerin hayvanlarda uygulanabilmesi

mümkün değildir. Bu nedenle insanlardaki depresyonun oluşumunu kısmen taklit eden ve depresyon benzeri davranışla sonuçlanan kronik hafif stres, öğrenilmiş çaresizlik, anneden ayırma ve sosyal yenilgi stresi gibi çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir.

1.2.3.1. Kronik Hafif Stres

Kronik hafif stres, hayvanın birkaç hafta boyunca kafesinin sallanması, kafes zemininin değiştirilmesi, aydınlık-karanlık döngüsünün bozulması ve avcılarının kokusuna maruz bırakılması gibi yöntemlerle strese maruz bırakılmasına dayanır. Bu yöntemin tekrarlanabilirliğinin yüksek olmaması bir kısıtlılık arz eder (Levinstein ve Samuels 2014).

1.2.3.2. Öğrenilmiş Çaresizlik

Öğrenilmiş çaresizlik modelinde hayvanlara kaçamayacakları şekilde belirli aralıklarla elektroşok uygulanır. Bundan 24 saat sonra benzer şekilde elektroşok uygulaması yapılmakla birlikte hayvanlara zararlı uyarıyı durdurma ve uyarandan kaçma imkanı sunulur. Hayvanların uyarıyı durdurma veya uyarandan kaçma şansları bulunmasına rağmen eylemsiz kalmaları öğrenilmiş çaresizlik olarak adlandırılır. Bu modelin tekrarlanabilirliği düşük olduğu (Vollmayr ve Henn 2001) gibi model hakkında etik endişeler de söz konusudur (Deussing 2006).

1.2.3.3. Anneden Ayırma

Bu modelin temeli hayvanların yaşamlarının erken dönemlerinde annelerinden ayrılmasının uzun süreli sonuçlarının anksiyete ve depresyon benzeri davranışlar olmasıdır (Abelaira ve ark. 2013). Bununla birlikte anneden ayırma neticesinde ortaya çıkan tablonun antidepresan ilaçlara yanıt açısından çok tutarlı olmaması kullanımını sınırlandırmaktadır (Deussing 2006).

1.2.3.4. Sosyal Yenilgi Stresi

Bu modelde erkek hayvan kendisinden daha iri ve saldırgan bir başka erkek hayvanın kafesine bırakılır ve ev sahibi hayvanın saldırısına maruz kaldıktan birkaç dakika sonra görsel, olfaktör ve işitsel temas kurabileceği şeffaf bir duvarla ayrılır. Bu halde 24 saat süreyle tutulur. Bu işlemin birkaç gün boyunca uygulanması depresyon benzeri davranışlara yol açar. Sosyal yenilgi stresi modelinin kısa süreli

uygulamalarda depresyon yerine anksiyeteye neden olması ve dişilerin birbirleriyle savaşmayı tercih etmemesi yüzünden yalnızca erkek rodentlerde uygulanabilir olması kısıtlılıklarını oluşturmaktadır (Yan ve ark. 2010).

1.2.4. Hayvan Modellerinde Depresyonun Değerlendirilmesi

İnsanlarda depresyonun varlığını ve şiddetini araştırmak maksadıyla tasarlanmış çok sayıda test bulunmaktadır ve bunların tamamına yakını daha anlaşılır ve agresif olmayan ifadelerle DSM kriterlerinin sorgulanmasına dayanmaktadır. İnsan çalışmalarının vicdani ve etik kaidelerle sınırlı yapısı sebebiyle depresyona dair araştırmalar için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Rodentlerde depresyon benzeri davranışın değerlendirilmesi amacıyla geliştirilmiş yaygın kullanılan modeller arasında Porsolt testi, sükröz tercihi testi ve kuyruk asma testi sayılabilir (Deussing 2006). Buna karşın söz konusu testlerde DSM-V'e göre depresyon tanı kriterlerinden olan suçluluk duygusu, konsantrasyon zorluğu, ölüm ve intihar düşüncesinin araştırılabilmesi mümkün değildir.

1.2.4.1. Porsolt Testi

Porsolt testi (davranışsal çaresizlik testi) depresyon benzeri davranışın ve antidepresan benzeri aktivitenin değerlendirilmesi amacıyla en sık kullanılan davranış testidir (Deussing 2006). Bu testin depresyon benzeri davranışın değerlendirilmesi açısından tekrarlanabilirliği (Abelaira ve ark. 2013), güvenilirliği (Cryan ve ark. 2002, Bogdanova ve ark. 2013) ve özgüllüğü (Cryan ve ark. 2002) yüksektir. Porsolt testinde hayvanlar arka ayakları zemine ulaşmayacak şekilde su dolu bir silindirik düzenekte yüzmeye zorlanırlar. Hayvanlar başlangıçta buldukları durumdan kurtulmak için çaba sarf ederlerken bir süre sonra "çaresizlik" sergileyerek sadece burunlarını su yüzünde tutmak amacıyla hareket etmeye başlarlar. Bu postür "immobilite" olarak adlandırılır ve total immobilite süresi depresyon benzeri davranış ve antidepresan benzeri aktiviteyle ilişkilidir (Abelaira ve ark. 2013). Porsolt testinde ilk immobil postürün geliştiği zamanı ifade eden "immobilite latensi"nn değerlendirilmesi antidepresan benzeri aktivite açısından testin güvenilirliğini arttırmaktadır (Castagné ve ark. 2009).

1.2.4.2. Sükroz Tercih Testi

Bu test rodentlerin içgüdüsel olarak şekerli yiyecekleri tercih etmelerine ve kronik stresörlere maruz kalan hayvanlarda bu tercihin azalmasına dayanır. Sükroz tercih testinde hayvanların su ve sükroz solüsyonu içeren iki şişeye serbest erişimleri sağlanır ve tüketilen sükroz solüsyonunun toplam sıvı tüketimine oranı araştırılır. Test kolay uygulanabilir ve ucuz olmasına karşın farklı rodent soylarında duyarlılığının değişiklik göstermesi (Pothion ve ark. 2004) ve hedonik durumla ilişkisiz pek çok faktörden (şişelerin yerleri, neofobi, metabolik ihtiyaçlar gibi) etkilenmesi (Strekalova ve ark. 2011) bu testin kısıtlılıklarını oluşturmaktadır.

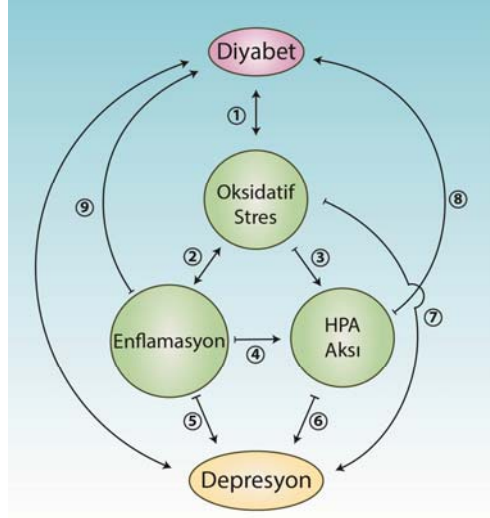
1.2.4.3. Kuyruk Asma Testi

Kuyruk asma testi bir diğer davranışsal çaresizlik testidir. Hayvanlar kuyruklarından baş aşağı olacak şekilde asıldıktan sonra kurtulma çabasından vazgeçerek “çaresizlik” sergiledikleri süre değerlendirilir. Bu testte elde edilen immobilite süresi depresyon benzeri davranışla ve bu süredeki azalma antidepresan benzeri etkiyle ilişkilendirilir. Testin farelerde uygulanabilir olmasına rağmen sıçanlarla gerçekleştirilememesi kullanımını sınırlandırmaktadır (Yan ve ark. 2010, Abelaira ve ark. 2013).

1.2.5. Diyabet ve Depresyon İlişkisi

Diyabetle birliktelik sergileyen pek çok hastalık söz konusudur ve bunlardan biri depresyondur. Her üç diyabetik bireyden biri depresif semptomlar sergiler (Anderson ve ark. 2001). Diyabet, yaşam süresini kısaltması kadar hastaları kalitesizleşmiş bir hayat sürmeye mahkûm etmesi sebebiyle de araştırmalara konu olmaktadır.

Diyabete sekonder gelişen depresyon 350 yıla yakın zamandır bilinmesine rağmen ancak 1950’li yıllardan itibaren araştırmacıların dikkatini çekmeye başlamıştır. Diyabet ve depresyon yol açtıkları morbidite ve mortalite kadar sahip oldukları ortak fizyopatolojik süreçlerin birbirlerini tetiklemesi nedeniyle de önemlidir.



Şekil 1.4. Diyabet ve depresyon fizyopatogenezinde ortak olaylar.

Diyabet ve depresyon komorbiditesinin temel moleküler ve hücrel kaynakları özetlenecek olursa “oksidatif stres, enflamasyon ve HPA aksı disregülasyonu” başlıkları öne çıkacaktır (Şekil 1.4). Diyabet ve depresyon açısından redoks dengesinin prooksidanlar yönünde bozulması sebep ve sonuç bağlamında öneme sahiptir (Maritim ve ark. 2003). Dolayısıyla diyabet kliniğinin gelişmesi sonrası hastaların bir kısmında ortaya çıkabilen depresyon bir kısır döngüyü tetikler. Depresyonda kan-beyin bariyerinin

geçirgenliği artar (Müller 2014) ve bu durum diyabetin indüklediği sistemik enflamasyonun beyindeki etkilerini güçlendirebilir. Diyabete sekonder gelişen diğer komplikasyonların varlığının depresif semptomları şiddetlendirmesi muhtemeldir. Kardiyovasküler hastalıklar diyabetin en önemli komplikasyonlarından ve bu hastalıkların dünya genelinde en başta gelen ölüm nedeni olması (World Health Organization 2011) depresyonla ilişkisi açısından önemlidir. Kardiyovasküler hastalık ve depresyon komorbiditesi mortaliteyi ciddi ölçüde arttırmaktadır (Goodnick ve Hernandez 2000) ve bu durumdan enflamasyon (Parissis ve ark. 2007), HPA aksı disregülasyonu (Parissis ve ark. 2007), prokoagulan aktivitedeki artış (Goodnick ve Hernandez 2000), nitrik oksit aktivitesinin azalması (Goodnick ve Hernandez 2000) sorumlu olabilir. Buna mukabil depresyon, kardiyovasküler hastalıklar açısından bağımsız bir risk faktörüdür; yani tek başına depresyonun varlığı kardiyovasküler hastalık riskini arttırmaktadır (Rosenthal 2003). Depresyonda artış gösteren interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) gibi proenflamatuar sitokinler (Leonard ve Maes 2012, Müller 2014) kardiyovasküler hastalığa bağlı mortaliteyle ilişkilidir (Jonge ve ark. 2010). Enflamasyonun ateroskleroz gelişiminin temelini oluşturması depresif bireylerde sağlıklı popülasyona göre kardiyovasküler hastalık riskindeki artışın izahına dair yaklaşımlardan birini sunmaktadır. Bununla birlikte elbette ki depresyonun, karmaşık ve girift fizyopatogenezini içerisinde tüm komorbid durumlarla bağlantısının tek bir faktörle ilişkilendirilmesi mümkün değildir. Proenflamatuar

sitokinler beyin üzerine doğrudan etki göstererek davranışsal değişikliklere yol açar, hiperkortizolemiye neden olur ve HPA aksını etkileyerek kortikosteroid serbestleştirici hormona (CRH) negatif geri bildirim bozar (Cavanagh ve Mathias 2008). Depresyon esnasında gerçekleşen HPA aksı ve semptomeduller aktivasyon insülinin kontraregülebilir hormonları olan kortizolun ve katekolaminlerin salınımını artırır (Rustad ve ark. 2011). Ayrıca depresif bireylerde öz bakımın azalması (tedavi uyumsuzluğu, sigara kullanımı gibi), kontraregülebilir hormonlar nedeniyle glukoz toleransının bozulması ve yüksek kortikosteroid seviyelerinin katkıda bulunduğu sentropetal obezite sonucunda diyabet riski artmaktadır (Katon 2010). Stres hormonu olarak da bilinen kortizol seviyelerinin artışı ve bu artışa negatif geri bildirim yanıtı verilememesi nedeniyle CRH salınımının yüksek seyretmesi depresyonla ilişkilidir (Cavanagh ve Mathias 2008). Diyabetes mellitusun hipokampal nörojenesi ve BDNF üretimini bozması diyabetik bireylerde depresyonun ortaya çıkmasına katkıda bulunur (Rustad ve ark. 2011). HPA aksındaki disregülasyon, başlıca diyabetle ilişkilendirilen abdominal obezite, hiperlipidemi, hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalık risk faktörleriyle de bağlantılıdır (Jonge ve ark. 2010). Depresyon ve diyabetle birlikte ilişkili oldukları diğer bozuklukların da ortak fizyopatolojik noktalarından yaygın olanı oksidatif strestir. Depresyon esnasında prooksidanların ve buna yanıt olarak antioksidan enzim aktivitelerinin artışına karşılık total antioksidan savunma kapasitesinde azalma gözlenir (Siwek ve ark. 2013). Diğer taraftan oksidatif stres de depresyonu indükler (Patki ve ark. 2013); yani depresyon ile oksidatif stres arasında iki yönlü bir ilişkiden söz edilebilir. Depresyonda izlenen redoks dengesi bozukluğunun iki temel sebebi enflamasyon (Khansari ve ark. 2009, Leonard ve Maes 2012) ve hiperkortizolemidir (Aschbacher ve ark. 2013).

1.3. Oksidatif Stres

Derin denizde yaşayan Loricifera (Danovaro ve ark. 2010) dışında oksijenden bağımsız şekilde hayatını sürdürebilen –bilinen– herhangi bir metazoa bulunmamaktadır. Oksijen mitokondriyal elektron zincirindeki elektron taşıyıcısı rolü nedeniyle hayvansal yaşamın vazgeçilmez gerekliliklerinden biridir. Mitokondriyal elektron zincirinden kaynaklanan oksidasyon canlılığın devamı açısından önemlidir. Örneğin; ATP sentezi, detoksifikasyon, apoptosis, patojenlerin ve tümör hücrelerinin öldürülmesi, oksijenaz (siklo-oksijenaz, lipo-oksijenaz) aktivitesi gibi olaylar

oksidasyon yoluyla gerçekleşir (Devasagayam ve ark. 2004). Oksidasyon; bir molekülün elektron kaybetmesi, redüksiyon ise elektron kazanmasıdır. Bu kimyasal tanımla birlikte canlı organizmalar için redüktan moleküller “antioksidan”, oksidan moleküller ise “prooksidan” olarak ifade edilebilir (Kohen ve Nyska 2002). Biyolojik sistemlerde oksidasyon süreçleri daima redüksiyonla beraber gerçekleşirken bu olaylar “redoks reaksiyonları” ve söz konusu iki süreç arasındaki denge “redoks potansiyeli” adıyla anılır (Kohen ve Nyska 2002). Redoks potansiyelinin (oksidasyon/redüksiyon potansiyeli) denge durumundan ayrılarak oksidasyon yönünde değişmesi şeklinde tanımlanabilecek olan oksidatif stres yıkıcı etkilere sahiptir. Özellikle proteinleri, membran lipitlerini ve nükleik asitleri hedef alarak oksidatif strese yol açan en önemli moleküller şunlardır (Toyokuni 1999):

- a) Reaktif oksijen türevleri:
 - i. süperoksit anyonu (O_2^-)
 - ii. hidrojen peroksit (H_2O_2)
 - iii. hidroksil radikali ($\cdot OH$)
- b) Lipid peroksidasyonu ürünleri:
 - i. lipit hidroperoksit ($ROOH$)
 - ii. lipit peroksil radikali ($ROO\cdot$)
- c) Reaktif nitrojen türevleri:
 - i. peroksinitrit ($OHOO\cdot$)
 - ii. peroksinitröz asit ($ONOOH$)

Oksidatif stres tarafından uyarılan membran peroksidasyonu, membranın akışkanlık gibi biyolojik özelliklerini ve membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin fonksiyonlarını bozması nedeniyle yıkıcıdır.

1.3.1. Reaktif Oksijen Türevleri

1.3.1.1. Süperoksit Anyonu

Başlıca mitokondride, kompleks I ve III'te üretilen süperoksit anyonu diğer reaktif oksijen türevlerine göre daha uzun yarı ömre sahiptir (Gutowski ve Kowalczyk 2013). Elektron transport zinciri dışında NADPH oksidazlar, ksantin oksidaz ve siklooksijenazlar tarafından da üretilen (Rochette ve ark. 2014) süperoksit anyonu moleküllerinin özellikle demir-kükürt içeren kısımlarını hedef alarak Fenton

reaksiyonuna girecek serbest demir açığa çıkmasına neden olur (Fridovich 2013). Süperoksit anyonu biyolojik moleküllerin doğrudan oksidasyonu yoluyla ve hidrojen peroksit ile hidroksil radikali oluşumuna yol açarak oksidatif hasara neden olur (Gutowski ve Kowalczyk 2013).

1.3.1.2. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit biyolojik sistemlerde en fazla bulunan reaktif oksijen türevidir ve diğer reaktif oksijen türevlerinden daha stabil olmasıyla ayrılır. Başlıca süperoksit anyonundan kaynaklanan hidrojen peroksit, hidroksil radikali öncülü olması nedeniyle önem taşır (Villamena 2013).

1.3.1.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali, çok kısa yarı ömrüne rağmen bilinen en reaktif oksijen radikali olması sebebiyle hemen tüm biyolojik moleküllerle kısa zamanda etkileşime geçebilir. Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleriyle (ör: ferröz demir) reaksiyonu (Fenton) veya süperoksit anyonunu hidrojen peroksitle (Haber-Weiss) reaksiyonu neticesinde oluşabilir (Gutowski ve Kowalczyk 2013).

1.3.2. Lipit Peroksidasyonu Ürünleri

Hücre membranındaki doymamış yağ asitleri (PUFA) oksidatif hasara doymuş yağ asitlerinden daha duyarlıdır. PUFA'ların bir serbest radikal tarafından oksidasyonu neticesinde lipit peroksil radikali ortaya çıkar. Peroksil radikali PUFA'ları okside edebilme yeteneğine sahip olduğu gibi daha stabil ve uzun ömürlü olması sayesinde uzak bölgelere göç edebilen hidroperoksite de dönüşür. Hidroperoksitin tekrar peroksil radikaline dönüşmesi ve lipid peroksidasyonunun bir döngü halinde devam etmesi nedeniyle bu olaya lipit otooksidasyonu da denir (Repetto ve ark. 2012).

1.3.3. Reaktif Nitrojen Türevleri

1.3.3.1. Peroksinitrit

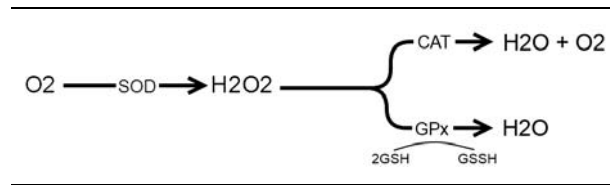
Nitrik oksit sinyalizasyonda görevli moleküllerin tiyol bölgelerini geri dönüşümlü şekilde nitrozile ederek ileri oksidasyondan korur. Bununla birlikte yüksek konsantrasyonlarda süperoksit anyonu ile birleşerek bir oksidan molekül olan

peroksinitrite (ONOO⁻) dönüşür (Griffiths ve ark. 2014). Peroksinitrit görece kısa yarı ömrüne rağmen anyon kanalları aracılığıyla membranları aşarak oksidasyona yol açabilir. Bu molekül doğrudan oksidasyon reaksiyonlarına katılabildiği gibi oldukça reaktif olan hidroksil, nitrojen dioksit ve karbonat radikaline dönüşerek de dolaylı yoldan oksidasyona neden olabilmektedir (Pacher ve ark. 2007).

1.3.3.2. Peroksinitröz Asit

Peroksinitröz asit (ONOOH), peroksinitritin alkali ortamda hidrojenle konjuge olmuş formudur ve güçlü bir oksidan moleküldür. Anyonik peroksinitritten farklı olarak diffüzyonla membranları kolayca aşabilir. Peroksinitrite benzer şekilde doğrudan ve dolaylı (nitrojen dioksit ve karbonat radikali aracılığıyla) oksidatif hasara yol açabilir (Trujillo ve ark. 2010).

1.3.4. Antioksidan Savunma



Şekil 1.5. Süperoksit radikalinin katalaz ve glutatyon peroksidaz yoluyla H₂O'ya dönüşümü.

Antioksidanlar serbest radikalleri hücrelerden uzaklaştırarak hücreleri oksidatif hasardan koruyan enzim veya moleküllerdir. Redoks potansiyeli dengesini sağlayan

antioksidanlar süperoksiti H₂O₂'ye dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD) ve H₂O₂'yi suya parçalayan katalaz (CAT) gibi “önleyici antioksidanlar” ve flavonoidler, vitamin C, vitamin E gibi “radikal temizleyici antioksidanlar” olmak üzere iki gruba ayrılabilir (Devasagayam ve ark. 2004). Eksojen antioksidanlar insan diyetinde özellikle sebze ve meyvelerde bol bulunurlar. Antioksidanlardan zayıf diyetle beslenmenin hücre hasarına neden olan oksidatif stres olasılığını arttıracığı ve antioksidanlar açısından zengin diyetle beslenmenin ise oksidatif stresle ilişkili hastalık riskini azaltacağı öne sürülmektedir. Bununla birlikte antioksidan moleküllerin yüksek dozlarının prooksidan aktivite sergilemesi nedeniyle düşük miktarlarda antioksidanların redoks dengesinin korunmasına katkı sunacağı; ancak yüksek miktarlarda bu dengeyi bozacağı düşünülmektedir (Rajendran ve ark. 2014).

1.3.4.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon süperoksit anyonunun hidrojen peroksite dönüştürülmesidir. İnsanda kofaktör olarak bakır-çinko (CuZnSOD) ve mangan (MnSOD) içeren formları bulunan süperoksit dismutaz endojen antioksidan savunmanın ilk basamağını teşkil eder (Fridovich 2013).

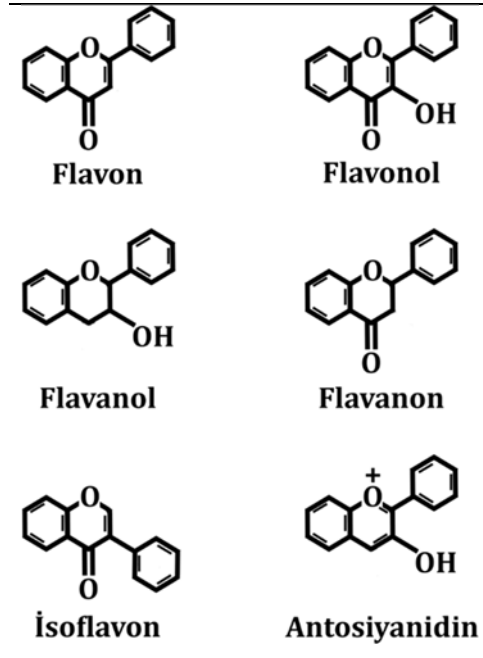
1.3.4.2. Katalaz

Katalaz başlıca peroksizomlarda bulunan ve hem proteini içeren bir endojen antioksidan enzimdir. Katalaz, hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene yıkılmasını katalizler (Zhu ve ark. 2013) (Şekil 1.5).

1.3.4.3. Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon; glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşur ve endojen bir radikal temizleyici antioksidan moleküldür. Glutatyon peroksidaz enzimi aracılığıyla hidrojen peroksitin suya dönüşümünde görev alır (Zhu ve ark. 2013) (Şekil 1.5).

1.3.5. Flavonoidler



Şekil 1.6. Flavonoid ailesinin başlıca üyeleri.

1930'da keşfedilen bir grup fenolik yapılu bileşik önceleri vitamin P olarak adlandırılmasına karşın bugün 4000'den fazla üyesi olduğu bilinen flavonoidler (Şekil 1.5) olarak tanımlanmıştır (Kumar ve Pandey 2013). Kimyasal açıdan bir heterosiklik piran halkasına bağlı iki benzen halkasına sahip 15 karbonlu bir iskeletten oluşurlar (Kumar ve Pandey 2013). Flavon, flavonol, flavanol, flavanon, isoflavon ve antosiyanidin olmak üzere altı temel gruba ayrılan (Kinoshita ve ark. 2006) flavonoidler insan diyetinde yoğun şekilde bulunan doğal bileşiklerdir (Liu ve ark. 2008) ve antibakteriyel, antitrombotik,

antihipertansif, antiinflamatuvar, antikarsinojenik ve kardiyoprotektif etkilere sahiplerdir (Knekt ve ark. 2002).

1.3.5.1. Kuersetin

Flavonoid ailesinin üyeleri içerisinde biyolojik aktivitesi en yüksek olanlar flavonol'ler (Morand ve ark. 1998); yani kuersetin ve kaempferoldür. Flavonoidlerin faydalı etkilerinin büyük kısmından antioksidan kapasitesi en fazla olan kuersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon) sorumludur (Knekt ve ark. 2002). Kuersetin, soğan, elma, brokoli gibi besinlerle beraber ginkgo biloba, yeşil ve siyah çay ve şarapta bolca bulunur (Kahraman ve ark. 2012). Kuersetin en güçlü radikal temizleyici flavonol olmakla birlikte endojen antioksidan savunmayı güçlendirir ve muhtemelen antioksidan karakteri sayesinde enflamasyonu baskılar (Boots ve ark. 2008). İntestinal absorpsiyonu %80'e ulaşan (Kelly 2011) kuersetinin tek ve/veya mükerrer oral uygulamalarının farelerde ve ratlarda mutajenik/genotoksik olmadığı ortaya konulmuştur (Harwood ve ark. 2007, Utesch ve ark. 2008).

STZ ile indüklenen deneysel diyabet modelinde kuersetin uygulamasının kan şekerini düşürmesinin yanında plazma insülin seviyelerini arttırdığı (Coskun ve ark. 2005, Kobori ve ark. 2009) ve STZ'ye bağlı pankreatik B-hücre nekrozunu azalttığı görülmüştür (Coskun ve ark. 2005). Ayrıca fare monogenik tip 2 diyabet modeli olarak kullanılan leptin dirençli db/db hayvanlarda kuersetin uygulamasının kan şekerinin düşürülmesinde ve insülin direncinin azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir (Jeong ve ark. 2012). Kuersetin nişastayı parçalayan intestinal α -glukozidaz enziminin inhibitörüdür (Kim ve ark. 2011a, Kim ve ark. 2011b) ve aynı özelliğe sahip oluşundan istifade edilerek tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan akarboza yakın seviyelerde post-prandiyal glukoz yanıtı üzerine etki sergiler (Kim ve ark. 2011a, Kim ve ark. 2011b).

Yüksek kuersetin içeren diyet, diyabet riskini azaltan önemli bir faktördür (Knekt ve ark. 2002). Diyabetin gelişiminde ve prognozunda önemi vurgulanan başlıca durumlar olan oksidatif stres ve enflamasyon açısından ele alındığında kuersetinin diyabet modellerinde görülen antiinflamatuvar (Maciel ve ark. 2013) ve antioksidan (Maciel ve ark. 2013) etkileri, söz konusu antidiyabetik karakterinin temel kaynağını teşkil ediyor olabilir. Diyabetiklerde kuersetin uygulaması TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 ve MCP-1 (monosit kemoatraktan protein-1) seviyelerinde azalma ile

sonuçlanır (Leisher ve ark. 2013). Proenflamatuar sitokinler ve oksidatif stres, enflamasyon ve apoptozisin önemli araçlarından olan nükleer faktör-kappa B (NF-KB) aktivasyonunda artışa yol açarken NF-KB, insülin reseptörü substratları aracılığıyla insülin direncinin gelişiminde rol oynar (Li ve ark. 2014). Kuersetinin NF-KB aktivasyonunu inhibe ediyor olması (Mahmoud ve ark. 2013) antidiyabetojenik etkisinin temellerine dair bir yaklaşım sunmaktadır. NF-KB aracılı olaylar aynı zamanda diyabet fizyopatogenezinde dikkat çeken enflamasyon ve oksidatif stres mekanizmalarının kesişim noktasını teşkil ediyor görünmektedir. Yüksek antioksidan kapasitesi bulunan kuersetinin (Knekt ve ark. 2002) diyabetik hayvanlarda redoks dengesi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalar, bu flavonolün oksidatif stres belirteçlerinde iyileşme sağladığını ortaya koymuştur (Dias ve ark. 2005, Abdelmoaty ve ark. 2010, Kanter ve ark. 2012).

Enflamasyon ve oksidatif stresin diyabetteki rolleri ortaya konulmuşken bu mekanizmaların depresyonda da etkili olduklarını söylemek mümkündür. Depresif bireylerde proenflamatuar sitokin düzeylerindeki artışı ele alan ve 136 çalışmanın incelendiği bir meta-analizde (Dowlati ve ark. 2010) söz konusu hasta popülasyonunda IL-6 ve TNF- α seviyelerinde artış olduğunu ortaya koymuştur. Yukarıda bahsedildiği üzere diyabet, kayda değer bir sistemik enflamasyon nedenidir. Enflamasyonun indolamin 2,3 dioksijenazı stimüle etmesi neticesinde triptofanın kinürenine yıkılması kullanılabilir serotonin seviyelerinde azalma ile sonuçlanır ve serotonin seviyelerindeki azalmaya ilaveten tek başına kinürenin muamelesinin de depresyon-benzeri davranışa yol açıyor olması diyabetik bireylerde gelişebilen depresyonun enflamatuar yönünü göstermektedir (Miller ve ark. 2009). Oksidatif stresin, depresif davranışla ilişkisine işaret eden çalışmalarla (Mazloom ve ark. 2013, Morais ve ark. 2014) birlikte proenflamatuar IL-6 ile pozitif, antienflamatuar IL-10 ile negatif korelasyon göstermesi (Rawdin ve ark. 2013) redoks dengesinin ciddi biçimde bozulduğu diyabet açısından bahsedilen iki durumun iç içe geçmişliğini göstermektedir. Kuersetinin antienflamatuar ve antioksidan karakterinden hareketle diyabete sekonder gelişen depresyonda faydalı etkiler sergileyeceği öne sürülebilir; ancak tıbbi literatürde kuersetin içeren çeşitli bitki özütlerinin diyabetik bireylerde antidepresan etkileri rapor edilmiş olmasına (Sakakibara ve ark. 2008, Herrera-Ruiz ve ark. 2011) karşın diğer etken moleküllerin göz ardı edilebilmesine imkan tanıyacak şekilde yalnızca kuersetin uygulanmasının diyabetik sıçan modelinde getirdiği

sonuçları ele alan sadece bir çalışma bulunmaktadır (Anjaneyulu ve ark. 2003). Söz konusu çalışma bu bağlamda bir ilk olmasına karşın fizyopatogeneze dair herhangi bir yaklaşım sunmaması nedeniyle sınırlı kalmıştır.

Sonuç olarak; kuersetinin diyabet ve çeşitli diyabetik komplikasyonlar açısından faydalarından söz edilebilir. Bu ifadenin temel dayanağı hayvan araştırmaları olmakla birlikte kohort çalışmalar da bu yaklaşımı desteklemektedir. Diyabetik deneklerde kuersetinin antidepresan benzeri etkilerini inceleyen ve elde edilen sonuçları fizyopatogenez penceresinden bakarak değerlendiren hayvan çalışmalarına ek olarak devam eden faz 2 çalışma sonuçlarının yayımlanmasıyla kuersetinin bu amaçla kullanımına dair sorulara daha açık yanıtlar verilebilecektir.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Kimyasallar

STZ (saflık $\geq 98\%$), sitrik asit, sodyum sitrat monobazik, sodyum karboksimetil sellüloz ve kuersetin (saflık $\geq 95\%$) Sigma-Aldrich (St.Louis, MO, A.B.D.) isimli firmadan satın alınmıştır. Sitrat tamponu (0,1 M; pH=4.5), 100 mL distile suya 955 mg sitrik asit ve 1478 mg sodyum sitrat eklenmesiyle elde edilmiştir. Sodyum karboksimetil sellüloz her gün, kuersetin uygulaması öncesinde taze olarak hazırlanmıştır.

2.2. Hayvanlar

Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (KONÜDAM) 45 adet Wistar cinsi albino, erişkin (16 – 18 haftalık) erkek sıçan temin edilmiştir. Hayvanlar polikarbonat kafeslerde, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsüyle, 22 ± 2 °C ortam sıcaklığında ve %50 nem ile klimatize edilen ortamda tutulmuşlardır. Standart sıçan yemi ve musluk suyu kısıtlamasız olarak sunulmuştur. Tüm deneysel uygulamalar için KONÜDAM Hayvan Etik Kurulu'nun onayı alınmıştır (Bkz. Ek-A). Hayvanlar rastgele şekilde “non-diyabetik” ($n=21$) ve “diyabetik” ($n=24$) olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Her iki ana gruptaki hayvanlar on iki saat boyunca aç bırakıldıktan sonra (Gomez ve Barros 2000) non-diyabetik gruptaki hayvanlara intraperitoneal (i.p.) yoldan tek doz 0,1 M (pH: 4,5) sitrat tamponu (taşıyıcı) ve diyabetik gruptaki hayvanlara ise intraperitoneal yoldan tek doz sitrat tamponu içerisinde çözünmüş 60 mg/kg STZ (Rithalia 2004) uygulanmıştır. STZ uygulamasından 4 – 8 saat sonra ortaya çıkması muhtemel hipoglisemiye bağlı ölüm ve konvülsiyon gibi komplikasyonların (Lenzen 2008) önüne geçmek amacıyla her iki gruptaki hayvanların 24 saat süreyle %10 sükröz solüsyonuna serbest erişimleri sağlanmıştır (Chan ve ark. 2005). Hayvanlar, taşıyıcı veya STZ enjeksiyonlarının ardından tekli kafeslerde tutulmuştur. Diyabet indüksiyonundan 72 saat sonra kuyruk kanından glukometre (Accu-check Go, Roche Diagnostics, Almanya) ile glukoz tayini yoluyla diyabetik durumlarının kontrolünü müteakip tekrar çoklu kafeslere alınmışlardır (Gomez ve Barros 2000). Kan glukoz düzeyi 250 mg/dL ve üzerindeki hayvanlar diyabetik olarak kabul edilmişlerdir (Kanter 2009). Hayvanların kan glukoz seviyeleri diyabetin doğrulandığı gün ile

birlikte diyabetin 14. ve 21. günlerinde ölçülmüştür. Diyabetik ana grubunda yer alan; yani STZ uygulanan hayvanların tamamının kan glukoz seviyelerinin 250 mg/dL'yi aştığı görülmüştür. Üçüncü günden itibaren diyabetik ana grubu, her alt grupta 7 hayvan ve non-diyabetik ana grubu, her alt grupta 8 hayvan olacak şekilde üçlü gruplara ayrılmıştır. Toplam 6 alt grup içerisinde, her bir ikili grubun bir diyabetik ve bir non-diyabetik grubu olmak üzere %0,5 sodyum karboksimetil sellüloz (CMC) i.p. uygulanan iki grup, %0,5 CMC'de çözülmüş 50 mg/kg/gün i.p. kuersetin (Amalia ve ark. 2007) uygulanan iki grup ve %0,5 CMC'de çözülmüş 100 mg/kg/gün i.p. kuersetin (Anjaneyulu ve ark. 2003) uygulanan iki grup yer almıştır. Çözücü veya kuersetin uygulamalarına 21 gün boyunca devam edilmiş ve enjeksiyonların tamamı günün aynı saatlerinde (08:00 – 11:00) gerçekleştirilmiştir. Buna göre deney grupları şu şekilde oluşturulmuştur:

Grup I (Kon; $n= 7$) : Tek doz i.p. sitrat tamponu enjeksiyonundan 72 saat sonra başlamak üzere 21 gün boyunca %0,5 CMC i.p. uygulanmıştır.

Grup II (Q50; $n= 7$) : Tek doz i.p. sitrat tamponu enjeksiyonundan 72 saat sonra başlamak üzere 21 gün boyunca %0,5 CMC içerisinde çözülmüş 50 mg/kg/gün i.p. kuersetin uygulanmıştır.

Grup III (Q100; $n= 7$) : Tek doz i.p. sitrat tamponu enjeksiyonundan 72 saat sonra başlamak üzere 21 gün boyunca %0,5 CMC içerisinde çözülmüş 100 mg/kg/gün i.p. kuersetin uygulanmıştır.

Grup IV (DKon; $n= 8$) : Tek doz 60 mg/kg i.p. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra başlamak üzere 21 gün boyunca %0,5 CMC i.p. uygulanmıştır.

Grup V (DQ50; $n= 8$) : Tek doz 60 mg/kg i.p. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra başlamak üzere 21 gün boyunca %0,5 CMC içerisinde çözülmüş 50 mg/kg/gün i.p. kuersetin uygulanmıştır.

Grup VI (DQ100; $n= 8$) : Tek doz 60 mg/kg i.p. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra başlamak üzere 21 gün boyunca %0,5 CMC içerisinde çözülmüş 100 mg/kg/gün i.p. kuersetin uygulanmıştır.

Hayvan ağırlıklarının farklı olması Porsolt testi sonuçlarını etkileyen önemli bir faktördür (Bogdanova ve ark. 2013). Bu nedenle çalışmamıza dahil edilen hayvanların ağırlıklarının homojen olmasına dikkat edilmiştir ($431,0 \pm 59,3$ g.).

Diyabetik kontrol (DKon) grubundan bir hayvan deneyin 7. gününde (diyabet indüksiyonu sonrası 4. gün), aynı gruptan bir başka hayvan deneyin 19. gününde (diyabet indüksiyonu sonrası 16. gün) ve diyabetik kuersetin 100 mg/kg (DQ100) grubundan bir hayvan deneyin 5. gününde (diyabetik indüksiyonu sonrası 2. gün), aynı gruptan bir başka hayvan deneyin 7. gününde (diyabet indüksiyonu sonrası 4. günü) ölmüştür. Non-diyabetik kuersetin 100 mg/kg (Q100) grubundan bir hayvan deneyin 5. gününde aynı kafeste bulunduğu diğer hayvanlar tarafından ısırılmak suretiyle yaralandığı için farklı bir kafese tek başına konulmuştur. Söz konusu hayvan deneyin 7., 9. ve 14. günlerinde ayrıldığı kafese tekrar konulmak istendiyse de kafesteki diğer hayvanlar tarafından saldırıya uğraması sebebiyle tek başına tutulmuştur. Sosyal izolasyonun depresyon-benzeri davranışı tetikleyecek olması (Bogdanova ve ark. 2013) sebebiyle bahsedilen hayvan çalışma dışı bırakılmıştır.

2.3. Porsolt Testi

STZ veya taşıyıcı uygulamasından 24 gün ve ilk kuersetin uygulamasından 21 gün sonra tüm hayvanlar, minör modifikasyonlarla Caletti ve ark.'nın (Caletti ve ark. 2012) uygulamasına benzer şekilde 25 x 25 x 55 cm ölçülerinde ve 35 cm yükseklikte ılık suyla ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) dolu bir havuzda Porsolt testine tabi tutulmuşlardır. Havuz suyu her hayvan için taze su ile değiştirilmiştir. Porsolt testinde iki yüzme seansı uygulanmıştır.

İlk seansta (aklimatizasyon) hayvanlar 15 dakika süreyle teste alıştırmışlardır. Aklimatizasyon aşamasında havuzun su ile dolu kısmının 1/3 alt bölümünde 2 saniyeden fazla burnu yukarıda olacak şekilde kalan hayvanlar çalışma dışı bırakılmışlardır; ancak dalma hareketi yaparak tekrar su yüzeyine çıkan hayvanlar deneye kabul edilmişlerdir. Buna göre non-diyabetik kontrol (Kon) grubundan iki hayvan çalışmaya alınmamıştır.

İkinci seans (test) 24 saat sonra gerçekleştirilmiş ve bu aşamada 5 dakika süreyle Porsolt testi yürütülmüştür. Her yüzme seansından sonra hayvanlar bir havlu yardımıyla kibarca kurulanmış ve tekrar kafeslerine alınmışlardır. Test seansından 24,

5 ve 1 saat önce hayvanlara içinde buldukları gruba göre %0,5 CMC, kuersetin 50 mg/kg ya da kuersetin 100 mg/kg i.p. uygulanmıştır (Nin ve ark. 2008, Caletti ve ark. 2012). Mobil eylemler dalma, yüzme ya da tırmanma hareketleridir. Hayvanın havuzun dibinden kaçmaya çalışması “dalma hareketi”, ön ayaklarını kullanarak havuz duvarı boyunca gerçekleştirdiği kuvvetli lateral hareket “yüzme hareketi” ve havuz duvarı boyunca ön ayaklarını kullanarak gerçekleştirdiği aşağı ve yukarı hareketler “tırmanma hareketi” olarak değerlendirilmiştir. Ani horizontal baş hareketleri (kafa sallama) de mobil eylem olarak kaydedilmiştir. Hayvanların mobil hareketler dışında kalan soluk alıp verme ve burunlarını su yüzeyinde tutmak için patilerini hafifçe oynatmaları ise immobilite olarak kabul edilmiştir. Test seansı video kamera ile kaydedilmiştir. Elde edilen video verileri üzerinden EthoVision XT v.9.0 (Noldus Information Technology, Hollanda) programı kullanılarak otomatik yolla alınan sonuç ile deneyimli bir gözlemcinin (Gergerlioğlu, H.S.) aynı program üzerinden manuel değerlendirmesiyle elde edilen sonucun ortalamasıyla total immobil süre ve gözlemcinin raporuna göre immobilite latensi tayini gerçekleştirilmiştir. Manuel değerlendirmede gözlemcinin deney gruplarına kör kalması sağlanmıştır.

Porsolt testinin aklimatizasyon seansında deney dışı bırakılan iki hayvan, enjeksiyonların gerçekleştirildiği süre boyunca ölen dört hayvan ve diğer hayvanlar tarafından yaralandığı için deney dışı bırakılan bir hayvan nedeniyle deney sonunda gruplar şöyle şekillenmiştir: Grup I (Kon; $n= 5$), grup II (Q50; $n= 7$), grup III (Q100; $n= 6$), grup IV (DKon; $n= 6$), grup V (DQ50; $n= 8$), grup VI (DQ100; $n= 6$)

2.4. Biyokimyasal Analizler

Porsolt testinin ikinci seansından hemen sonra ketamin + ksilazin (sırasıyla, 90 mg/kg ve 10 mg/kg, i.p.) anestezisi (Nieman ve Schalinske 2011) altında 21 G uçlu enjektör ksifoid kartilajın solundan penetre edilerek kardiyak kan alınmış ve eksanguinasyonu takiben derin anestezi altındaki hayvanlar servikal dislokasyon marifetiyle sakrifiye edilmişlerdir. Elde edilen kan buz üstünde K2-EDTA içeren tüplere alınmış ve 3500 r.p.m. hızla, 4 °C’de 15 dakika santrifüjasyondan sonra plazma ayrılarak biyokimyasal analizi yapılabildiği kadar derin dondurucuda (-70 °C) saklanmıştır. Adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve kortikosteron (CORT) analizleri ticari ELISA kitleri (DRG Instruments, Germany), nitrik oksit (NO) ve malondialdehit (MDA) analizleri ticari kolorimetrik analiz kitleri (Cayman Chemical,

MI, A.B.D.) kullanılarak, üreticinin talimatlarına uygun şekilde yürütülmüştür. t-CORT analizi için nihai örnek dilüsyonu sabit kalacak şekilde 20 µL örnek, mikrosantrifüj tüplerinde 1:100 dilüsyonda, 10 µL steroid ayırıcı reaktif (Enzo Life Sciences, A.B.D.) ile muamele edilmiştir.

Kolorimetrik analizler kısaca şu şekilde yürütülmüştür: a) MDA analizi için örnekler sodyum dodesil sülfat ve tiyobarbitürik asit/asetik asit reaktifi ile karıştırıldıktan sonra bir saat süreyle kaynar suda bekletilmiş ve müteakiben reaksiyonu durdurmak için on dakika süreyle buz banyosuna bırakılmıştır. Santrifüjasyonun ardından 540 nm absorbansta okuma gerçekleştirilmiştir. b) NO analizi, örneklerin nitratı nitrite dönüştüren nitrat redüktaz ile bir saat süreyle inkübasyonu sonrasında sulfanilamid ve N-(1-Naptil) etilendiamin içeren Griess reaktifi ile muamelesi nihayetinde nitritin koyu pembe – mor renkli bileşiğe dönüşümü sonrasında 540 nm absorbansta okunmasıyla gerçekleştirilmiştir.

MDA, NO, ACTH (450 nm ve 405 nm) ve CORT (450 nm) analizleri mikropate spektrometre (Biotek Epoch, A.B.D.) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ACTH sonuçları pg/mL, CORT sonuçları nmol/L, NO ve MDA sonuçları µmol/L cinsinden ifade edilmiştir. Üreticinin talimatlarına göre ACTH analizinde 150 pg/mL'nin altındaki sonuçlar için 450 nm, 150 pg/mL'nin üstündeki sonuçlar için 405 nm absorban değerleri nazara alınmıştır.

2.5. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler GraphPad Prism v.6.01 (San Diego, CA, A.B.D.) programında parametrik verilerde ikili karşılaştırmalar için Student t-testi, çoklu karşılaştırmalar için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrası *post hoc* Tukey testi ve parametrik olmayan verilerde çoklu karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis test sonrası *post hoc* Dunnet testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Normalite analizi Kolmogorov-Smirnov testi ve homojenite analizi Bartlett testi kullanılarak yürütülmüştür. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Ağırlık ve Kan Şekeri

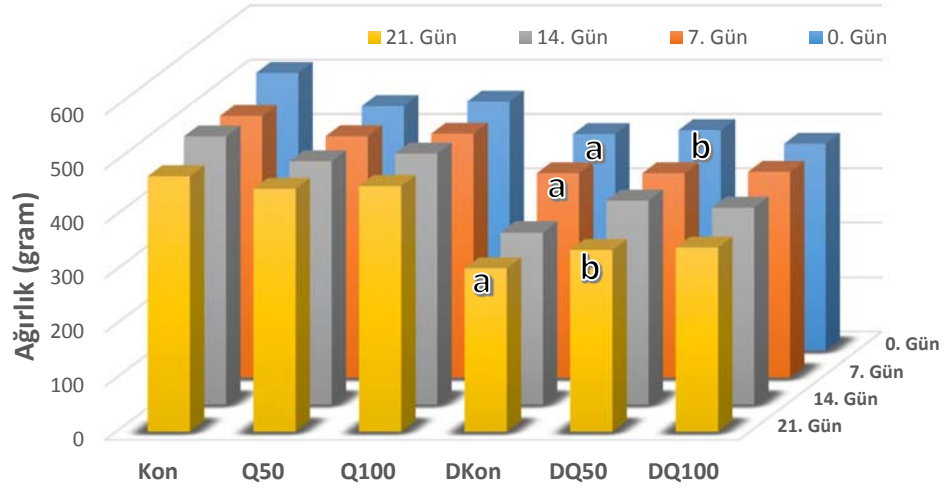
Deneyde kullanılan hayvanların ağırlıkları Çizelge 3.1’de gösterilmiştir. Hayvanların hem deneyin başlangıcında hem bitişinde ölçülen ağırlıkları normal dağılım ve homojenite (sırasıyla $p=0,843$ ve $p=0,817$) arz etmektedir. Diyabetik veya non-diyabetik oluşlarına bakılmaksızın hayvanların deney başlangıcındaki ağırlıkları ile deney sonundaki ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunduğu görülmüştür ($p=0,016$). Söz konusu farkın her iki ana grup için var olup olmadığı araştırıldığında ise non-diyabetik ana grupta deneyin başlangıcı ile sonundaki ağırlıklar açısından istatistiki fark bulunmazken ($p=0,318$) diyabetik ana grupta vücut ağırlığının azaldığı görülmüştür ($p=0,000$).

Çizelge 3.1. Diyabet doğrulaması ile başlayan ağırlık ölçümleri.

	0. gün	7. gün	14. gün	21. gün
Kon	510,7 ± 40,5 ^a	481,9 ± 48,7 ^a	494,3 ± 68,1 ^a	471,3 ± 58,4 ^a
Q50	449,6 ± 33,0 ^a	444,4 ± 38,1 ^a	448,6 ± 57,2 ^a	447,9 ± 42,3 ^a
Q100	457,9 ± 32,4 ^a	449,0 ± 45,1 ^a	462,7 ± 51,2 ^a	453,2 ± 59,3 ^a
DKon	398,1 ± 42,4 ^a	376,3 ± 52,5 ^{a,b}	318,0 ± 55,3 ^b	302,7 ± 70,8 ^b
DQ50	405,3 ± 52,7 ^a	376,3 ± 44,6 ^{a,b}	376,0 ± 48,5 ^{a,b}	336,5 ± 42,5 ^b
DQ100	380,1 ± 43,5 ^a	378,8 ± 54,8 ^a	363,0 ± 57,5 ^a	341,0 ± 51,7 ^a
	0. gün	21. gün		
Tüm Denekler	431,0 ± 59,3 ^a	392,7 ± 84,2 ^b		
Non-Diyabetik Denekler	472,7 ± 43,6 ^a	457,7 ± 51,7 ^a		
Diyabetik Denekler	394,5 ± 45,7 ^a	327,7 ± 54,5 ^b		

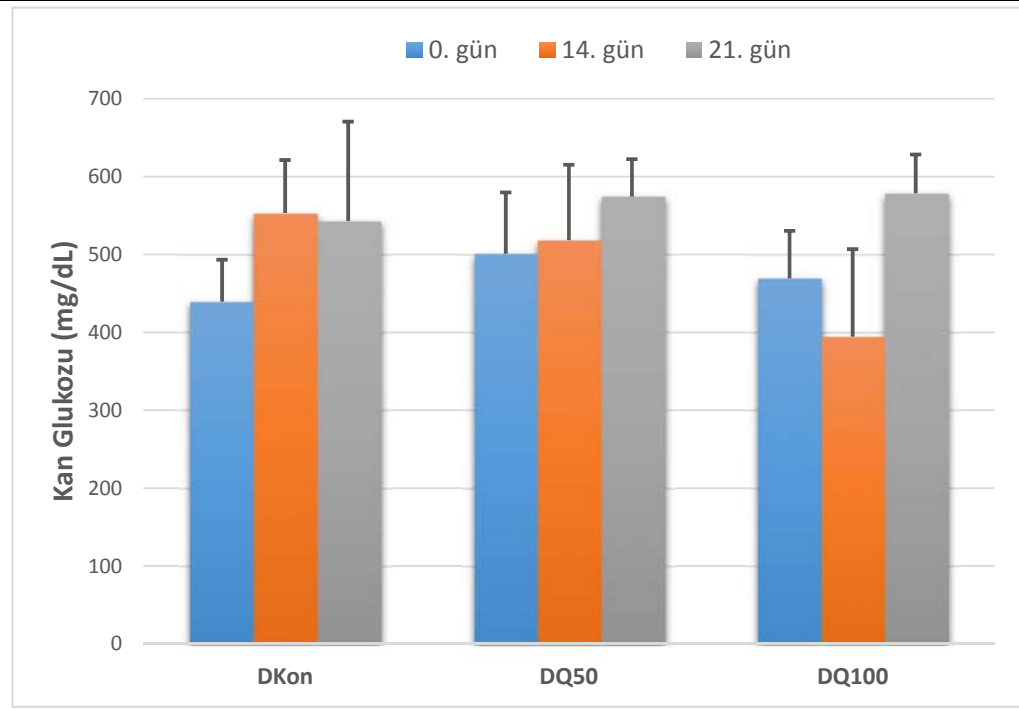
Aynı satırda farklı harf ile gösterilen değerler arasında istatistiki fark bulunmaktadır. Değerler gram ağırlık cinsinden ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir.

Söz konusu farkın alt gruplar içinde araştırılması neticesinde; iki farklı doz kuersetin uygulamasının non-diyabetik hayvanlarda ağırlık üzerine etkisi bulunmazken diyabetik hayvanlarda 21 gün boyunca 50 mg/kg kuersetin uygulamasının kilo kaybını engellemediği ($p=0,033$); 100 mg/kg kuersetin uygulamasının ise kilo kaybını azalttığı ($p=0,507$) bulunmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Diyabet doğrulaması ile başlayan ağırlık ölçümleri. Aynı deney grubu içerisinde istatistiki fark aynı harf ile gösterilmiştir (Tek yönlü ANOVA, anlamlılık $p < 0,05$).

Diyabetik kontrol grubundaki hayvanlarda kan glukoz değerlerinin diyabet doğrulamasından sonraki 14. ve 21. günlerde diyabet indüksiyonundan 72 saat sonrasına (0. gün) göre istatistiki anlamda farklı olmadığı görülmüştür (sırasıyla, $p=0,408$ ve $p=0,484$). Diyabet indüksiyonu gerçekleştirilen hayvanlarda 50 mg/kg veya 100 mg/kg kuersetin uygulamalarının 14. günde (sırasıyla, $p > 0,999$ ve $p > 0,999$) ve 21. günde (sırasıyla, $p > 0,999$ ve $p=0,562$) kan glukoz seviyeleri üzerine etkili olmadığı bulunmuştur (Şekil 3.2).

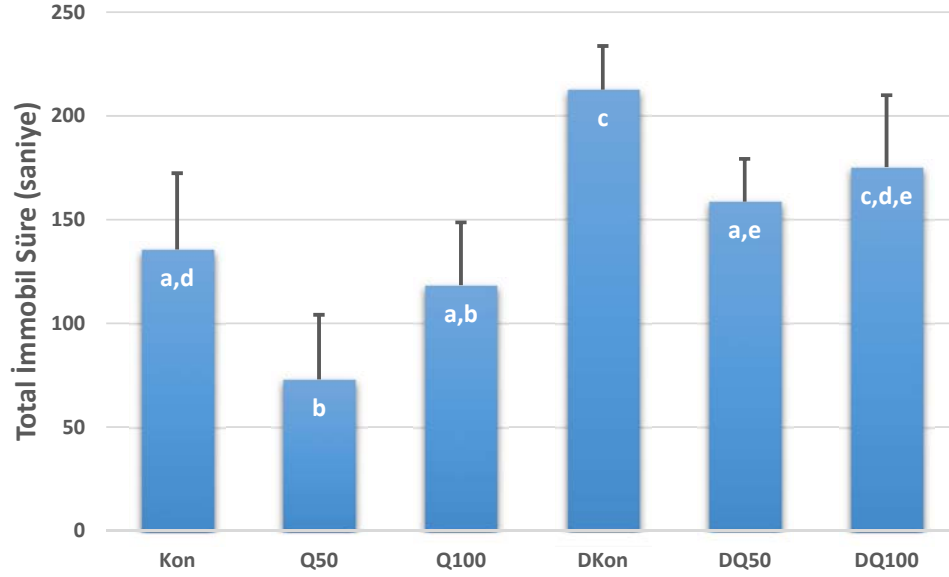


	0. gün	14. gün	21. gün
DKon	439,3 ± 53,9	553,1 ± 68,1	542,8 ± 127,7
DQ50	500,8 ± 78,9	518,4 ± 96,8	574,3 ± 48,1
DQ100	469,4 ± 61,1	394,5 ± 112,4	578,5 ± 49,8

Şekil 3.2. Diyabet doğrulaması ile başlayan kan glukoz seviyeleri. Değerler mg/dL cinsinden ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistiki fark bulunmamıştır (Tek yönlü ANOVA, anlamlılık $p < 0,05$).

3.2. Porsolt Testi

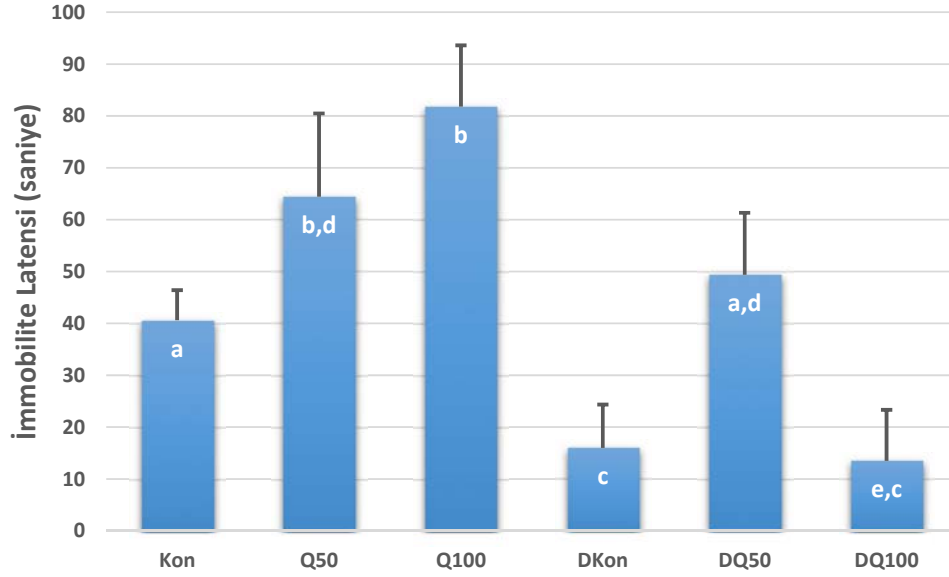
Diyabetin immobil süreyi önemli ölçüde arttırdığı ($p=0,001$) görülmüştür. Non-diyabetik hayvanlarda 50 mg/kg kuersetin uygulaması antidepresan benzeri aktiviteyi işaret edecek şekilde total immobil süreyi azaltmışken ($p=0,007$) 100 mg/kg kuersetin uygulaması ile bahsedilen etki elde edilmemiştir ($p=0,912$). Benzer şekilde diyabetik hayvanlarda 50 mg/kg kuersetin uygulamasının immobil süreyi azalttığı ($p=0,033$); ancak 100 mg/kg kuersetin uygulamasının immobil süre üzerinde istatistiki fark oluşturmadığı ($p=0,318$) görülmüştür. Porsolt testinde total immobil süreler için sonuçlar Şekil 3.3'te verilmiştir.



Kon	135,6 ± 36,8	DKon	212,7 ± 21,0
Q50	73,0 ± 31,2	DQ50	158,7 ± 20,6
Q100	118,4 ± 30,3	DQ100	175,3 ± 34,7
Çapraz Karşılaştırmada İstatistiksel Anlamlılık			
Kon – Q50	$p=0,007$	Q50 – DQ100	$p=0,000$
Kon – DKon	$p=0,001$	Q100 – DKon	$p=0,000$
Q50 – DKon	$p=0,000$	Q100 – DQ100	$p=0,024$
Q50 – DQ50	$p=0,000$	DKon – DQ50	$p=0,033$

Şekil 3.3. Porsolt testinde total immobil süreler. Değerler saniye cinsinden ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. Gruplar arası istatistiksel fark sunulmuştur (Tek yönlü varyans analizi, anlamlılık $p<0,05$). Grafikte farklı harf ile gösterilen gruplar arasında anlamlı fark vardır.

Diyabetin immobilité latensini önemli düzeyde kısalttığı ($p=0,023$) bulunmuştur. Non-diyabetik hayvanlarda hem 50 mg/kg hem 100 mg/kg kuersetin uygulamalarının latensi uzattığı (sırasıyla $p=0,015$ ve $p=0,000$) görülmekle birlikte iki farklı doz kuersetin uygulaması arasında anlamlı farka rastlanılmamıştır ($p=0,136$). Diyabetik ana grubu incelendiğinde 50 mg/kg kuersetin uygulamasının immobilité latensini anlamlı düzeyde uzattığı ($p=0,000$); ancak bu etkinin 100 mg/kg kuersetin uygulaması ile ortaya çıkmadığı ($p=0,999$) görülmüştür. Porsolt testinde immobilité latensi sürelerine ait sonuçlar Şekil 3.4'te verilmiştir.



Kon	40,6 ± 5,8	DKon	16,0 ± 8,3
Q50	64,4 ± 16,1	DQ50	49,4 ± 12,0
Q100	81,8 ± 11,8	DQ100	13,5 ± 9,8
Çapraz Karşılaştırmada İstatistiksel Anlamlılık			
Kon - Q50	<i>p</i> =0,015	Q100 - DKon	<i>p</i> =0,000
Kon - Q100	<i>p</i> =0,000	Q100 - DQ50	<i>p</i> =0,000
Kon - DKon	<i>p</i> =0,023	Q100 - DQ100	<i>p</i> =0,000
Kon - DQ100	<i>p</i> =0,006	DKon - DQ50	<i>p</i> =0,000
Q50 - DKon	<i>p</i> =0,000	DQ50 - DQ100	<i>p</i> =0,000
Q50 - DQ100	<i>p</i> =0,000		

Şekil 3.4. Porsolt testinde immobilite latensi süreleri. Değerler saniye cinsinden ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. Gruplar arası istatistiksel fark sunulmuştur (Tek yönlü varyans analizi, anlamlılık $p < 0,05$). Grafikte farklı harf ile gösterilen gruplar arasında anlamlı fark vardır.

3.3. Adrenokortikotropik Hormon ve Kortikosteron

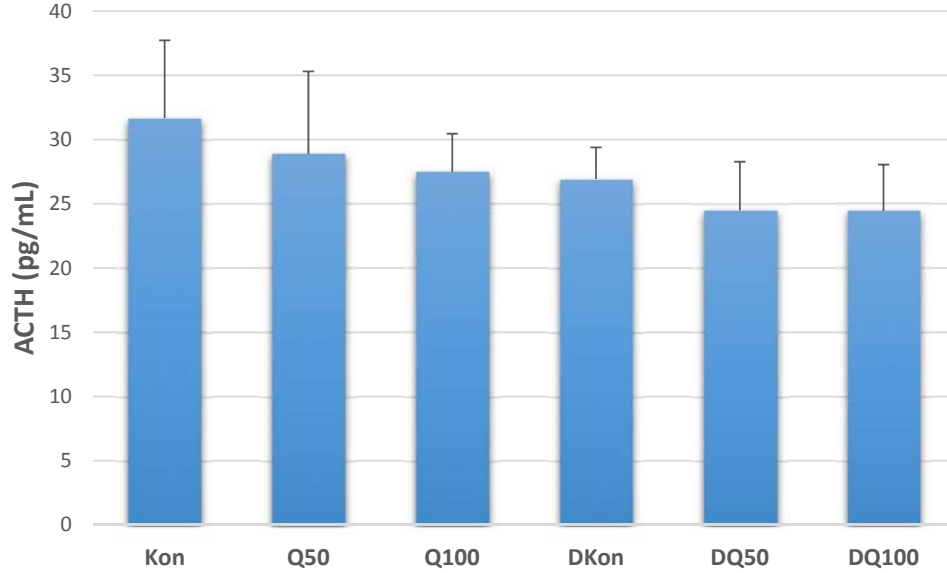
Deneyde kullanılan hayvanların plazma ACTH, t-CORT ve f-CORT sonuçları Çizelge 3.2’de gösterilmiştir. Mevcut deney sonuçlarına göre 21 gün süreli diyabetin plazma ACTH, t-CORT ve f-CORT seviyeleri üzerine istatistiksel önemde etkisinin bulunmadığı görülmüştür (sırasıyla $p=0,126$, $p=0,981$ ve $p=0,992$). Hem diyabetik hem non-diyabetik hayvanlarda 50 mg/kg kuersetin uygulamasının değerlendirilen ACTH seviyelerini değiştirmedeği (sırasıyla $p=0,925$ ve $p=0,916$) ve 100 mg/kg kuersetin uygulamasıyla da benzer sonuçların geliştiği görülmüştür (sırasıyla $p=0,765$ ve $p=0,925$). Değerlendirilen diğer HPA aksı parametreleri olan t-CORT ve f-CORT seviyeleri üzerine iki farklı doz kuersetin enjeksiyonunun etkileri incelendiğinde

Çizelge 3.2. ACTH, t-CORT ve f-CORT sonuçları

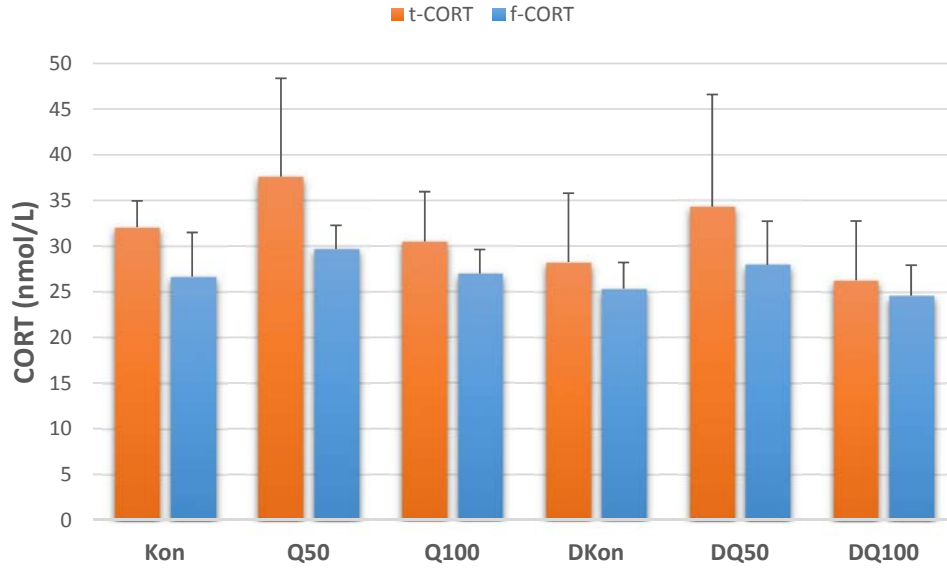
ACTH (pg/mL)		t-CORT (nmol/L)		f-CORT (nmol/L)	
Kon	31,7 ± 6,1	Kon	32,1 ± 2,9	Kon	26,7 ± 4,8
Q50	28,9 ± 6,4	Q50	37,6 ± 10,8	Q50	29,7 ± 2,6
Q100	27,5 ± 3,0	Q100	30,5 ± 5,5	Q100	27,0 ± 2,7
DKon	26,9 ± 2,5	DKon	28,2 ± 7,6	DKon	25,3 ± 2,9
DQ50	24,5 ± 3,8	DQ50	34,3 ± 12,3	DQ50	27,9 ± 4,8
DQ100	24,4 ± 3,6	DQ100	26,2 ± 6,5	DQ100	24,6 ± 3,4

Değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir

diyabetik hayvanlarda 50 mg/kg kuersetin uygulamasının t-CORT ve f-CORT seviyelerinde anlamlı değişikliğe yol açmadığı (sırasıyla $p=0,826$ ve $p=0,814$) ve benzeri sonucun 100 mg/kg kuersetin uygulamasında da görüldüğü (sırasıyla $p=0,998$ ve $p=0,545$) fark edilmiştir. Non-diyabetik ana grubundaki hayvanlara bakıldığında t-CORT ve f-CORT seviyelerinin 50 mg/kg kuersetin uygulamasıyla değişmediği (sırasıyla $p=0,886$ ve $p=0,726$), bu durumun 100 mg/kg kuersetin uygulaması için de geçerli olduğu (sırasıyla $p=0,999$ ve $p=0,999$) görülmüştür. Plazma ACTH seviyelerine dair grafikler Şekil 3.5'te, plazma t-CORT ve f-CORT seviyelerine dair grafikler Şekil 3.6'da sunulmuştur.



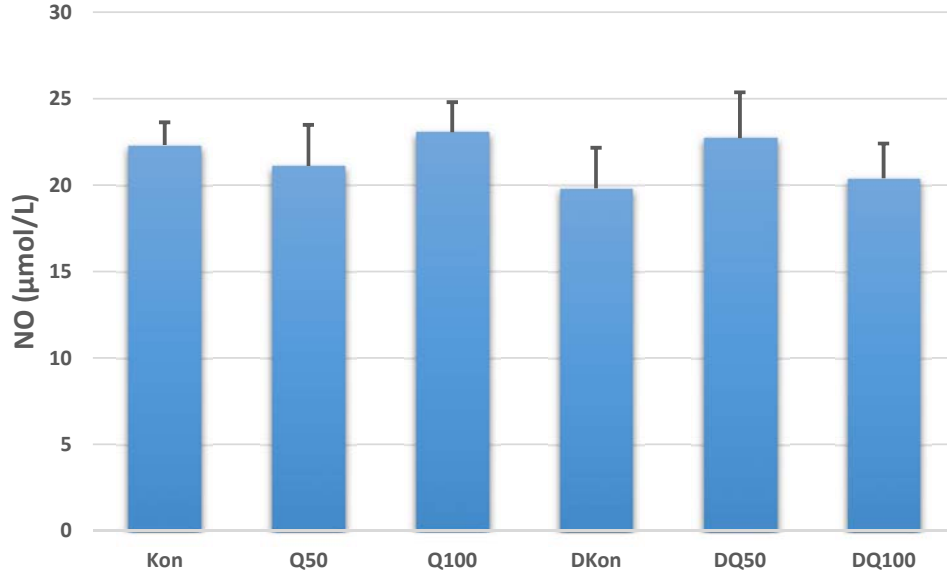
Şekil 3.5. Plazma ACTH seviyeleri. Gruplar arasında istatistiki fark bulunmamıştır (Tek yönlü ANOVA, anlamlılık $p<0,05$).



Şekil 3.6. Plazma t-CORT ve f-CORT seviyeleri. Gruplar arasında istatistiki fark bulunmamıştır (Tek yönlü ANOVA, anlamlılık $p < 0,05$).

3.4. Nitrik Oksit ve Malondialdehit

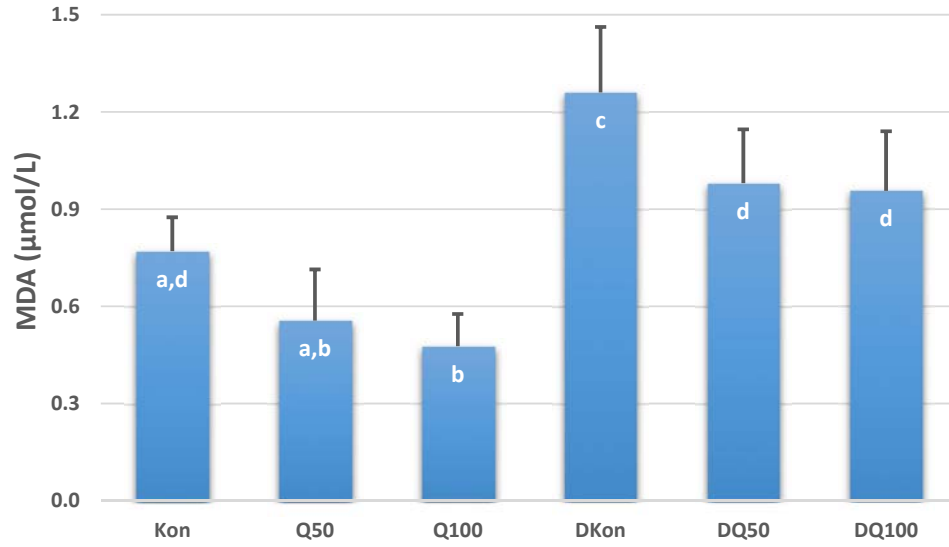
Diyabetik ve non-diyabetik kontrol grupları kıyaslandığında plazma NO seviyelerinin farklı olmadığı görülmüştür ($p=0,930$). Non-diyabetik hayvanlarda 50 mg/kg veya 100 mg/kg kuersetin uygulaması ile elde edilen plazma NO seviyelerinin farklı olmadığı bulunmuştur (sırasıyla $p=0,930$ ve $p=0,992$). Diyabetik ana grubunda da NO seviyeleri açısından benzer bir durumla karşılaşılmış; yani 50 mg/kg ve 100 mg/kg kuersetin uygulamaları ile anlamlı farklılık ortaya çıkmamıştır (sırasıyla $p=0,208$ ve $p=0,997$). Hem diyabetik hem non-diyabetik hayvanlarda kuersetin 50 mg/kg ve 100 mg/kg uygulamaları neticesinde ölçülen NO seviyeleri incelendiğinde fark bulunmadığı görülmüştür (sırasıyla $p=0,376$ ve $p=0,597$). Plazma NO seviyelerine dair ölçüm sonuçları Şekil 3.7’de gösterilmiştir.



Kon	22,3 ± 1,3	DKon	19,8 ± 2,4
Q50	21,1 ± 2,4	DQ50	22,7 ± 2,6
Q100	23,1 ± 1,7	DQ100	20,4 ± 2,0

Şekil 3.7. Plazma NO seviyeleri. Değerler µmol/L cinsinden ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistiki fark bulunmamıştır (Tek yönlü ANOVA, anlamlılık $p < 0,05$).

Diyabetin plazma MDA seviyesini önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür ($p=0,000$). Non-diyabetik hayvanlarda 50 mg/kg kuersetin uygulamasının plazma MDA seviyelerinde farka yol açmadığı görülmüştür ($p=0,211$). Aynı ana grupta 100 mg/kg kuersetin uygulamasının ise farka yol açtığı izlenmiştir ($p=0,044$). Diyabetik hayvanlarda kuersetin enjeksiyonlarının plazma MDA seviyeleri üzerine etkisi incelendiğinde, hem 50 mg/kg hem 100 mg/kg kuersetin uygulamalarının istatistiki fark oluşturduğu bulunmuştur (sırasıyla $p=0,040$ ve $p=0,047$). Söz konusu ana grupta iki farklı dozdaki kuersetin enjeksiyonları neticesinde ortaya çıkan plazma MDA seviyelerindeki azalmanın düzeyi göz önüne alındığında, 50 mg/kg veya 100 mg/kg kuersetin uygulamaları arasında istatistiki fark bulunmadığı görülmüştür ($p=0,999$). Plazma MDA seviyelerine dair ölçüm sonuçları Şekil 3.8’de gösterilmiştir.



Kon	0,8 ± 0,1	DKon	1,3 ± 0,2
Q50	0,6 ± 0,2	DQ50	1,0 ± 0,2
Q100	0,5 ± 0,1	DQ100	1,0 ± 0,2
Çapraz Karşılaştırmada İstatistiksel Anlamlılık			
Kon – Q100	<i>p</i> =0,044	Q100 – DKon	<i>p</i> =0,000
Kon – DKon	<i>p</i> =0,000	Q100 – DQ50	<i>p</i> =0,000
Q50 – DKon	<i>p</i> =0,000	Q100 – DQ100	<i>p</i> =0,000
Q50 – DQ50	<i>p</i> =0,000	DKon – DQ50	<i>p</i> =0,040
Q50 – DQ100	<i>p</i> =0,001	DKon – DQ100	<i>p</i> =0,047

Şekil 3.8. Plazma MDA seviyeleri. Değerler µmol/L cinsinden ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir (Tek yönlü varyans analizi, anlamlılık *p*<0,05). Grafikte farklı harf ile gösterilen gruplar arasında anlamlı fark vardır.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmanın sonuçları özetlenecek olursa; a) 21 gün süreli diyabetin hayvanlarda kilo kaybına yol açtığı ve 100 mg/kg kuersetin uygulamasının kilo kaybını azaltırken 50 mg/kg kuersetin uygulamasının bahsedilen etkiyi göstermediği, b) diyabetik hayvanlarda 50 mg/kg veya 100 mg/kg kuersetin uygulamalarının kan glukoz seviyeleri üzerine etkisinin bulunmadığı, c) 21 gün süreli diyabet neticesinde HPA aksı ile ilgili parametreler olan ACTH ve CORT düzeylerinde anlamlı bir fark ortaya çıkmadığı, d) her iki doz kuersetin uygulamasının plazma NO seviyelerinde farka neden olmazken MDA seviyelerinde azalmaya yol açtığı, e) Porsolt testinde diyabetin total immobil süreyi uzatırken ve immobilitate latensini kısaltırken diyabetik hayvanlarda 50 mg/kg kuersetin uygulamasının total immobil süreyi kısalttığı ve immobilitate latensini uzattığı; söz konusu etkinin 100 mg/kg kuersetin uygulaması ile elde edilemediği söylenebilir.

STZ enjeksiyonu neticesinde ortaya çıkan diyabet katabolik bir süreç olması nedeniyle kilo kaybına yol açar. Mevcut çalışmamızda 50 mg/kg kuersetin uygulamasıyla elde edilen sonuçlara benzer şekilde çeşitli araştırmacılar (Elbe ve ark. 2014, Mahmoud ve ark. 2013, Maciel ve ark. 2013) kuersetin uygulamasının diyabetik hayvanlarda ortaya çıkan kilo kaybının önlenmesi açısından faydalı olmadığını göstermiştir. Buna karşın çalışmamızda 100 mg/kg kuersetin uygulanan hayvanlarda görülene benzer şekilde az sayıda çalışmada (Kim ve ark. 2011a, Oršolić ve ark. 2011) kuersetinin kilo kaybını azalttığını gösteren verilere de rastlanabilmektedir. Kilo kaybının durması insülin sekresyonunun uyarılması ve/veya insülin direncinin kırılması yönünde pozitif bir bulgu olarak kabul edilebilmesine rağmen diyabet ve komplikasyonlarının prognozuna dair güvenilir bir kriter olmadığı görülmektedir. Buna karşın hayvanların genel iyilik hallerinin değerlendirilmesi açısından göz önünde bulundurulması faydalı olabilir.

Diyabetin en temel sonucunu ve çeşitlilik arz eden diyabetik komplikasyonların fizyopatogenez açısından merkezini teşkil eden hiperglisemi, tedaviye yönelik çabaların en önemli ayağını oluşturur. Bu noktada kuersetinin antihiperglisemik etkisine dair bilgilerin çelişkili olduğu göze çarpmaktadır. Mahesh ve Menon (2004), çalışmalarında 45 gün boyunca 50 mg/kg veya 80 mg/kg oral kuersetin uygulamasının diyabetik hayvanlarda kan glukoz seviyelerini düşürdüğünü

belirtmişlerdir. Keza Chougala ve ark. (2012) STZ enjeksiyonunu takiben 16 hafta boyunca hayvanların yemlerine ekledikleri %0,1 kuersetinin (w/w) çalışma sonunda ölçülen kan glukoz seviyelerinde azalma sağladığını göstermişlerdir. Buna karşın Mahmoud ve ark. (2013) ise 8 haftalık oral 50 mg/kg kuersetin uygulamasıyla diyabetik hayvanların kan glukoz seviyelerinde değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada (Maciel ve ark. 2013) STZ ile diyabet oluşturulmuş hayvanlarda 25 veya 50 mg/kg kuersetinin 40 gün süreyle oral yoldan uygulanmasının antihiperglisemik etki göstermediği ve pankreas β hücrelerinin sayısında artışa yol açmadığı ifade edilmiştir. STZ kullanılarak diyabet oluşturulan hayvanlarda deney sürelerinin yakın olduğu çalışmalarda dahi oral kuersetin uygulaması neticesinde ortaya çıkan kan glukoz seviyesi değişikliklerine dair farklı sonuçların bildirilmesi dikkat çekicidir. Yukarıda sözü edilen çalışmalarda kullanılan hayvanların cinslerine ve ağırlıklarına bakıldığında ciddi bir farkın söz konusu olmadığı anlaşılmaktadır. Tıbbi literatürde kuersetinin intestinal absorpsiyon yönünden yarışma içerisinde bulunduğu moleküllere dair yeterli veri bulunmamakla birlikte yağlı diyetin kuersetinin biyo-yararlanımını arttırdığı bilinmektedir (Ratnam ve ark. 2006). İlâveten, az sayıda çalışma (Kim ve ark. 2012, Lan ve ark. 2008, Silberberg ve ark. 2005) kuersetinin diğer biyomoleküllerle etkileşiminin ekskresyonu ve albümin affinitesini değiştirebileceği fikrini doğurmaktadır. Albümine bağlı moleküllerin biyolojik aktivite sergileyemeyecekleri bilgisinden hareketle bu tarz bir etkileşimin kan glukoz değerlerindeki farklılıkları kısmen izah etmesi mümkündür. Ayrıca bahsedilen çalışmalarda rapor edilen kan glukoz düzeyleri incelendiğinde, kuersetinin antihiperglisemik etki sergilediği bildirilen çalışmalarda diyabetik kontrol gruplarına ait kan glukoz seviyelerinin, kuersetinin böyle bir etkisinin bulunmadığını bildiren çalışmalara nazaran önemli düzeyde düşük olduğu göze çarpmaktadır. Bu durum glukozun, kuersetinin plazma proteinlerine affinitesini azaltıyor olmasıyla (Wang ve ark. 2012) ilişkili olabilir. Şöyle ki; yüksek kan glukoz seviyelerinde plazma proteinlerine bağlanamayan serbest kuersetin komponentinin ekskresyonunun artacağı öngörülebilir. Bu konuda son yaklaşım, STZ kullanılan hayvan modellerinde tip 1 diyabet benzeri tablonun ortaya çıkması için β hücrelerin % 80'inin haraplanması gerektiğini ve bu nedenle diyabet indüksiyonu; yani β hücresi harabiyeti gerçekleştikten sonra verilen kuersetin desteğinin deneklerin kan glukoz seviyeleri üzerine etkisinin bulunmayacağını ileri sürmektedir (Dias ve ark. 2005, Abdelmoaty ve ark. 2010, Maciel ve ark. 2013). Çalışmamızdaki diyabetik (kontrol, 50 mg/kg ve

100 mg/kg kuersetin) hayvanlarda hipergliseminin şiddetli olması ve kuersetinin diyabet indüksiyonu sonrasında verildiği dikkate alınarak bahsedilen diğer faktörlerin etkileri olasılık dahilinde kalmak üzere, kuersetinin antihiperglisemik etki göstermediği söylenebilir.

Porsolt testinde temel olarak total immobil süre göz önünde bulundurulmasına rağmen ilk immobil postürün ortaya çıktığı zamanı ifade eden immobilité latensinin, total immobil süre ile negatif korelasyon göstermesi antidepresan etkinliğin öne sürülebilmesi açısından testin güvenilirliğini artırır (Castagné ve ark. 2009). Kuersetinin doğadaki yaygınlığına ve depresyonun diyabet morbiditesi ve mortalitesi üzerindeki önemli etkilerine rağmen bu flavonoidin diyabet ve depresyon komorbiditesindeki faydalarını araştıran yegane çalışmada (Anjaneyulu ve ark. 2003) 50 mg/kg ve 100 mg/kg kuersetin uygulamasının doza bağımlı şekilde ve fluoksetin ile imipramine yakın düzeylerde antidepresan etki gösterdiğinden söz edilmiştir. Buna karşın söz konusu çalışma, denek olarak sıçan yerine fare kullanılması, test seansının daha uzun süre gerçekleştirilmesi, test yapılan saatlerin günün büyük bir kısmını kapsaması ve diyabet süresinin 6 hafta olması gibi noktalarda bizim çalışmamızdan farklıdır. Bahsedilen farklılıklar Porsolt testi sonuçlarını ciddi biçimde etkileyebilmektedir (Bogdanova ve ark. 2013). Bizim çalışmamızda 50 mg/kg kuersetin uygulanan diyabetik hayvanlarda total immobil süredeki kısalmanın immobilité latensindeki uzamayla birlikte olması, diyabetik deneklerde kuersetinin bu dozunun antidepresan benzeri etkinliğinin iddia edilebilirliğini güçlendirmektedir. Yüksek doz kuersetin uygulamasında total immobilité süresinin ve immobilité latensinin değişmemiş olması kuersetinin sınırlı bir terapötik aralıkta antidepresan aktivite sergilediğini düşündürmektedir.

Tıbbi literatürde depresyon ve HPA aksı arasındaki ilişkiden bahseden çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Benzer şekilde diyabetik bireylerde HPA aksının disregülasyonu güçlü şekilde ortaya konulmuştur. Antidepresanların faydalı etkilerinden, en azından kısmen, HPA aksı üzerindeki etkileri sorumludur (Maric ve Adzic 2013). Buna karşın mevcut çalışmamız, diyabetik hayvanlarda kuersetinin depresyon benzeri davranışla birlikte HPA aksını ne şekilde etkilediğini gösteren ilk çalışma olma özelliğine sahiptir. Tıbbi literatürde çalışmamızdakine yakın ve hatta daha kısa sürelerde uygulanan diyabetin HPA aksı hiperaktivitesine yol açtığına dair

bulgular (Chan ve ark. 2001, Barber ve ark. 2003, Radahmedi ve ark. 2006) dikkat çekmekle birlikte mevcut çalışmamızda 21 gün süreli diyabetin ve/veya diyabetik deneklerde kuersetin uygulamasının plazma ACTH ve CORT seviyeleri ile değerlendirilen HPA aksı üzerine herhangi bir etkisinin bulunmadığı kaydedilmiştir. Diyabetin HPA aksı disregülasyonu ile yakın ilişkisi iyi bilinmesine karşın çalışmamızda görülen bulguların hayvanların cinsi, yaşı gibi bireysel farklılıklar ve aynı kafes içerisinde barındırılan hayvan sayısı gibi faktörlerle ilişkili olabileceği düşünülebilir. Nihai olarak mevcut modelimizde STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda kuersetin tarafından sergilenen antidepresan benzeri aktivitenin HPA aksından bağımsız olduğu görülmüştür.

İnsan beyni yüksek oksijen ve glukoz ihtiyacı nedeniyle oksidatif strese duyarlıdır (Bélanger ve ark. 2011). Aynı zamanda beyinde proenflamatuar sitokinlerin seviyelerinin artması depresyonu da kapsayan çok sayıda davranışsal sorunu beraberinde getirir (Larson ve Dunn 2001, Schwarz 2003). Diyabetin yol açtığı hiperglisemi neticesinde gelişen oksidatif hasar ve enflamasyon, birbirlerini destekleyen bir kısır döngünün vücut bulmasına yol açar. Kuersetinin tip 1 ve tip 2 diyabetik hayvanlarda lipit peroksidasyonunun bir son ürünü olan ve oksidatif stres belirteci olarak kullanılan MDA seviyelerinde (Requena ve ark. 1996) azalma sağladığı bildirilmiştir (Mahesh ve Menon 2004, Jung ve ark. 2011). Çalışmamızda diyabetik hayvanlarda hem 50 mg/kg hem 100 mg/kg kuersetin uygulamaları ile lipit peroksidasyonunun azalmış olması kuersetinin iyi bilinen antioksidan karakterini desteklemektedir. Bununla birlikte çeşitli çalışmalarda kuersetin uygulamasının prooksidan aktivitesinden doğan ve özellikle boşaltım ve üreme sistemlerini etkileyen zararlı sonuçlarına dikkat çekilmiştir (Hsieh ve ark. 2010, Ranawat ve ark. 2013). Ayrıca in vitro ortamda kuersetinin, hidrojen peroksit ve süperoksit radikallerinin seviyelerinde artışa yol açan prooksidan konsantrasyonlarında MDA ile gösterilebilen lipit peroksidasyonu üzerindeki etkisinin aynı oranda olmadığı ortaya konulmuştur (Yen ve ark. 2003). Yani kuersetin konsantrasyonu prooksidan aktivite doğuracak kadar yüksek düzeylere ulaşmış olsa dahi bu durumun değerlendirilmesi açısından MDA seviyelerinin incelenmesi güvenilir sonuçlar vermeyebilmektedir. Buradan hareketle çalışmamızda 100 mg/kg kuersetin uygulaması ile antidepresan aktivitenin kaybolması yüksek doz kuersetinin prooksidan etkisiyle ilişkili olabilir.

Mevcut çalışmamızda diyabetin ve iki farklı doz kuersetin uygulamasının total nitrit seviyelerinde bir farklılığa yol açmadığı görülmüştür. 21 gün süreli diyabet veya kuersetin uygulamasının nitrozatif stres ile ilişkili olmadığı düşünülebilir. Bununla birlikte nitrik oksit fizyolojik şartlarda vasküler homeostatik, nörotransmitter ve antimikrobiyal görevleri nedeniyle (Lundberg ve ark. 2008) hassas bir şekilde kontrol edilir. Ayrıca bir süperoksit üretici olan ksantin oksidaz aktivitesi neticesinde ortaya çıkan ve doğal bir antioksidan olan ürik asitin nitrik oksiti 6-amino urasile dönüştürmesi (Khosla ve ark. 2005) nedeniyle redoks dengesini bozan olayların ve antioksidanların bu denge üzerine etkileri total nitrit düzeyleri ile korelasyon göstermeyebilir.

Oksidatif stresle birlikte diyabet ve depresyon fizyopatogenezinde rolü bulunan bir diğer faktör olan enflamasyonun da kuersetin tarafından baskılandığı bilinmektedir (Maciel ve ark. 2013). Diyabette izlenen proenflamatuar sitokin seviyelerinin ve NF-KB aktivitesinin artışında (Leisher ve ark. 2013, Li ve ark. 2014) apoptotik ve enflamatuar hücrelerden serbestlenerek doğal immün yanıtı stimüle eden HMGB1 (high-mobility group box 1) proteinin katkısı bulunur (Zhang ve ark. 2009). Kuersetin, HMGB1 proteininin serbestlenmesini azaltmasının yanı sıra bu proteinin proenflamatuar aktivitesini ve NF-KB'yi inhibe eder (Tang ve ark. 2009). Antidepresanların aynı zamanda antienflamatuar etkinlik gösteriyor olmaları (Patel 2013) ve benzer şekilde antienflamatuar ilaçların depresyonu baskılaması (Muller 2013), kuersetinin antidepresan etkinliğinde enflamasyonu azaltan karakterinin muhtemel katkısını desteklemektedir.

Dopamin eksikliği, serotonin ve norepinefrin ile birlikte depresyonun en iyi bilinen moleküler nedenlerinden biridir ve antidepresanların faydalı etkilerinde dopaminin de dahil olduğu bu nörotransmitterlerin yıkımının veya geri alınımının inhibe ediliyor olmasının rolü vardır (Dailly ve ark. 2004). Kuersetin, dopamin yıkımından sorumlu enzimler olan COMT ve MAO-B'yi inhibe eder ve bu özelliği antidepresan etkinliğinde rol oynayabilir (Lee ve ark. 2001, Singh ve ark. 2003). MAO-B, dopamin metabolizması neticesinde hidrojen peroksit oluşumuna neden olduğu (Singh ve ark. 2003) için bu enzimin inhibisyonu kuersetinin depresyonla ilişkili antioksidan etkinliğine katkıda bulunabilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, diyabetik sıçanlarda 50 mg/kg kuersetin uygulaması antidepresan benzeri aktiviteye yol açmaktadır. Mevcut deney modeli açısından kuersetinin diyabetik sıçanlardaki antidepresan benzeri aktivitesinin HPA aksından bağımsız olduğu görülmüştür. Çalışmamızda enflamatuvar parametrelerin ve redoks dengesinin sürdürülmesinden sorumlu enzimatik aktivitenin değerlendirilememiş olması bir kısıtlılık olarak kabul edilebilir. Ayrıca, her ne kadar kuersetinin yaygın bulunan bir doğal besin maddesi sıfatıyla güvenilirliği belirtilmişse de antioksidanların yüksek konsantrasyonlarının yol açtığı prooksidan etkiyle birlikte uzun süreli kuersetin uygulaması neticesinde gelişen patolojik durumlara dair bilgiler beraberce ele alındığında, kuersetin kullanımı tavsiye edilmeden önce farklı doz ve sürelerdeki uygulamaların yaygın etkilerinin araştırılması gereklidir.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STREPTOZOTOSİN İLE İNDÜKLENMİŞ DİYABETİK RAT MODELİNDE KUERSETİNİN HPA AKSI VE DEPRESYONA ETKİSİ

Enver Ahmet Demir

Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2014

Flavonoid ailesinin en güçlü flavonollerinden biri olan kuersetinin sağlık açısından çeşitli faydaları gösterilmiştir. Depresyon fizyopatogenezinde söz edilen oksidatif stres, enflamasyon ve hipotalamik-hipofizer-adrenal aks disregülasyonu diyabetik komplikasyonlarla da ilişkilidir. Bu çalışmada yan etkiler ve tedavi uyumsuzluğu nedeniyle geleneksel antidepresan ilaç tedavilerinin sınırlı fayda sunduğu diyabette kuersetinin antidepresan benzeri karakteri ve hipotalamik-hipofizer-adrenal aks üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla diyabetik ve non-diyabetik iki ana grupta; kontrol, 50 mg/kg ve 100 mg/kg i.p. kuersetin uygulanan üçer alt grup olacak şekilde toplam altı grupta 45 erişkin erkek sıçan kullanılmıştır. Tek doz streptozotosin (60 mg/kg) uygulamasından 72 saat sonra kan glukozu tayiniyle diyabet doğrulamasını takiben 21 gün süreyle kuersetin uygulamaları gerçekleştirilmiş ve haftalık ağırlık takibi yapılmıştır. 14. ve 21. günlerde kan glukozu ölçülmüştür. Porsolt testi amacıyla son uygulamadan bir gün önce 15 dakika süreyle aklimatizasyon ve son uygulamadan sonra 5 dakika süreyle test seansları yürütülmüştür. Test sonrasında elde edilen plazmadan adrenokortikotropik hormon, total kortikosteron, serbest kortikosteron, nitrik oksit (total nitrit) ve malondialdehit seviyeleri ölçülmüştür.

Diyabetin hayvanlarda kilo kaybına yol açtığı, 100 mg/kg kuersetin uygulamasıyla bu kaybın azaldığı görülmüştür. İki farklı dozdaki kuersetinin diyabete sekonder gelişen hiperglisemi üzerine etkilerinin bulunmadığı belirlenmiştir. Hem diyabetik hem non-diyabetik hayvanlarda 50 mg/kg kuersetin uygulamasının Porsolt testinde total immobil süre ve immobilite latensini uzattığı; ancak 100 mg/kg kuersetin uygulamasının diyabetik hayvanlarda total immobil süre ve immobilite latensi üzerine etkisinin bulunmadığı görülmüştür. Kuersetinin kullanılan iki dozunun da diyabetik ve non-diyabetik hayvanlarda adrenokortikotropik hormon, total kortikosteron ve serbest kortikosteron

seviyelerini etkilemediği belirlenmiştir. Diyabet veya kuersetin uygulamaları nitrik oksit düzeyini değiştirmediği halde malondialdehit seviyeleri diyabetle birlikte artış göstermiş ve kuersetin uygulamasıyla non-diyabetik hayvanlardaki seviyesine inmiştir.

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde 50 mg/kg kuersetin uygulamasının diyabetik deneklerde antidepresan benzeri aktivite sergilediği; ancak söz konusu etkinin 100 mg/kg kuersetin uygulanmasıyla oluşmadiği anlaşılmıştır. Diyabetin hipotalamik-hipofizer-adrenal aksı bozmaması, kullanılan modelin süresiyle ilişkilendirilmişken antidepresan etkinlik gösteren ve göstermeyen kuersetin dozlarının aksı değerştirmemesi nedeniyle kuersetinin diyabetik hayvanlarda görülen antidepresan benzeri etkinliğinin hipotalamik-hipofizer-adrenal akstan bağımsız olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Depresyon, diyabet, hipotalamik-hipofizer-adrenal aks, kuersetin, Porsolt testi

7. SUMMARY

Effect of Quercetin on HPA Axis and Depression in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Model

Quercetin, one of the most potent flavonol in the family of flavonoids, has been shown to have health-related beneficial effects. Oxidative stress, inflammation, and hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation that are regarded to the pathophysiology of depression are also involved in diabetic complications. In our present study, we investigated antidepressant-like properties of quercetin and its effects on hypothalamic-pituitary-adrenal axis in diabetes which conventional antidepressant treatments have limited efficacy due to side effects and poor treatment adherence. To this end, total 45 adult male rats in diabetic and non-diabetic main groups were divided into sub-groups as control, quercetin 50 mg/kg, and quercetin 100 mg/kg. Diabetes was confirmed with blood glucose test 72 hours after a single dose of streptozotocin (60 mg/kg), and quercetin administration and weekly weight measurement were established for 21 days. Blood glucose was measured at day 14 and 21. For the purpose of the forced swim test, acclimatization session was conducted for 15 minutes a day before the last quercetin administration and test session was conducted for 5 minutes just after the last administration. Obtained plasma was used for adrenocorticotropic hormone, total and free corticosterone, nitric oxide (total nitrite), and malondialdehyde evaluations.

We found that diabetes resulted to the weight loss, and 100 mg/kg quercetin alleviated this loss. Two separate doses of quercetin had no effect on hyperglycemia that occurred secondarily to diabetes. 50 mg/kg quercetin administration prolonged total immobile time while it shortened immobility latency in the forced swim test in both diabetic and non-diabetic animals, but 100 mg/kg quercetin did not change total immobile time and immobility latency in diabetic animals. Adrenocorticotropic hormone, total and free corticosterone were not affected by both doses of quercetin in diabetic and non-diabetic animals. Diabetes or quercetin administration did not alter nitric oxide levels, but malondialdehyde levels increased with diabetes whilst quercetin administration decreased it to that in non-diabetic animals.

We deduced that 50 mg/kg quercetin administration displayed an antidepressant-like activity in diabetics, but this effect had not emerged with 100 mg/kg quercetin administration. We proposed that hypothalamic-pituitary-adrenal axis not being disturbed by diabetes is associated with the used experimental protocol. We concluded that quercetin exhibits antidepressant-like effect in diabetic animals independently to hypothalamic-pituitary-adrenal axis because quercetin doses which showed antidepressant-like effect or not, did not disturb hypothalamic-pituitary-adrenal axis.

Key Words: Depression, diabetes, forced swim test, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, quercetin

8. KAYNAKLAR

1. Abdelmoaty MA, Ibrahim MA, Ahmed NS, Abdelaziz MA. Confirmatory studies on the antioxidant and antidiabetic effect of quercetin in rats. *Indian J Clin Biochem* 2010;25(2); 188–192.
2. Abelaira HM, Reus GZ, Quevedo J. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. *Rev Bras Psiquiatr* 2013;35 Suppl 2; S112-20.
3. Abou-Aly AMA. The Medical Writings of Rufus of Ephesus. Doctorate Thesis, University of London, 1992.
4. Amalia PM, Possa MN, Augusto MC, Francisca LS. Quercetin prevents oxidative stress in cirrhotic rats. *Dig Dis Sci* 2007;52(10); 2616–2621.
5. American Diabetes Association. Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003;26(90001); 103S.
6. American Diabetes Association. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*, 2010.
7. American Psychological Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5*. 5th ed., American Psychiatric Association, 2013.
8. Anderson RJ, Freedland KE, Clouse RE, Lustman PJ. The Prevalence of Comorbid Depression in Adults With Diabetes: A meta-analysis. *Diabetes Care* 2001;24(6); 1069–1078.
9. Anjaneyulu M, Chopra K, Kaur I. Antidepressant activity of quercetin, a bioflavonoid, in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Med Food* 2003;6(4); 391–395.
10. Antuna-Puente B, Feve B, Fellahi S, Bastard J. Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes Metab* 2008;34(1); 2–11.
11. Aschbacher K, O'Donovan A, Wolkowitz OM, Dhabhar FS, Su Y, Epel E. Good stress, bad stress and oxidative stress: insights from anticipatory cortisol reactivity. *Psychoneuroendocrinology* 2013;38(9); 1698–1708.
12. Barber M, Kasturi BS, Austin ME, Patel KP, MohanKumar SM, MohanKumar PS. Diabetes-induced neuroendocrine changes in rats: role of brain monoamines, insulin and leptin. *Brain Res* 2003;964(1); 128–135.
13. Bastaki A. Diabetes mellitus and its treatment. *Int J Endocrinol* 2005;13(3); 111.
14. Bélanger M, Allaman I, Magistretti PJ. Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab* 2011;14(6); 724–738.
15. Bogdanova OV, Kanekar S, D'Anci KE, Renshaw PF. Factors influencing behavior in the forced swim test. *Physiol Behav* 2013;118; 227–239.
16. Bondy B. Pathophysiology of depression and mechanisms of treatment. *Dialogues Clin Neurosci* 2002;4(1); 7–20.
17. Boots AW, Haenen, Guido R M M, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol* 2008;585(2-3); 325–337.
18. Boron WF, Boulpaep EL. *Medical physiology: A cellular and molecular approach*, Saunders Elsevier, 2012.
19. Bousquet J, Bousquet PJ, Godard P, Daures J. The public health implications of asthma. *Bull World Health Organ* 2005;83(7); 548–554.

20. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 2005;54(6); 1615–1625.
21. Buchanan TA, Xiang AH. Gestational diabetes mellitus. *J Clin Invest* 2005;115(3); 485–491.
22. Caletti G, Olguins DB, Pedrollo EF, Barros, Helena M T, Gomez R. Antidepressant effect of taurine in diabetic rats. *Amino Acids* 2012;43(4); 1525–1533.
23. Castagné V, Porsolt RD, Moser P. Use of latency to immobility improves detection of antidepressant-like activity in the behavioral despair test in the mouse. *Eur J Pharmacol* 2009;616(1-3); 128–133.
24. Cavanagh J, Mathias C. Inflammation and its relevance to psychiatry. *Advances in Psychiatric Treatment* 2008;14(4); 248–255.
25. Cernea S, Dobreanu M. Diabetes and beta cell function: from mechanisms to evaluation and clinical implications. *Biochem Med* 2013; 266–280.
26. Chan O, Chan S, Inouye K, Vranic M, Matthews SG. Molecular regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in streptozotocin-induced diabetes: effects of insulin treatment. *Endocrinology* 2001;142(11); 4872–4879.
27. Chan O, Inouye K, Akirav EM, Park E, Riddell MC, Matthews SG ve ark. Hyperglycemia does not increase basal hypothalamo-pituitary-adrenal activity in diabetes but it does impair the HPA response to insulin-induced hypoglycemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;289(1); R235-46.
28. Chang-Chen KJ, Mullur R, Bernal-Mizrachi E. β -cell failure as a complication of diabetes. *Rev Endocr Metab Disord* 2008;9(4); 329–343.
29. Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, Kamper E. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In Vivo* 2009;23(2); 245–258.
30. Chougala MB, Bhaskar JJ, Rajan, M G R, Salimath PV. Effect of curcumin and quercetin on lysosomal enzyme activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin Nutr* 2012;31(5); 749–755.
31. Christodoulou GN. *Psychosomatic Medicine: Past and Future*. 1st ed., Springer US, 1987.
32. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res* 2005;51(2); 117–123.
33. Cryan JF, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci* 2002;23(5); 238–245.
34. Dailly E, Chenu F, Renard CE, Bourin M. Dopamine, depression and antidepressants. *Fundam Clin Pharmacol* 2004;18(6); 601–607.
35. Danovaro R, Dell'Anno A, Puseddu A, Gambi C, Heiner I, Kristensen RM. The first metazoa living in permanently anoxic conditions. *BMC Biol* 2010;8; 30.
36. Deussing JM. Animal models of depression. *Drug Discov Today Dis Models* 2006;3(4); 375–383.
37. Devasagayam TP, Tilak JC, Bloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India* 2004;52; 794–804.

38. Dias AS, Porawski M, Alonso M, Marroni N, Collado PS, Gonzalez-Gallego J. Quercetin decreases oxidative stress, NF-kappaB activation, and iNOS overexpression in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr* 2005;135(10); 2299–2304.
39. Dimitriadis G, Mitrou P, Lambadiari V, Maratou E, Raptis SA. Insulin effects in muscle and adipose tissue. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;93; S52.
40. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK ve ark. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry* 2010;67(5); 446–457.
41. Dunmore SJ, Brown JE. The role of adipokines in -cell failure of type 2 diabetes. *J Endocrinol* 2013;216(1); T37.
42. Elbe H, Vardi N, Esrefoglu M, Ates B, Yologlu S, Taskapan C. Amelioration of streptozotocin-induced diabetic nephropathy by melatonin, quercetin, and resveratrol in rats. *Hum Exp Toxicol* 2014.
43. Ferrari AJ, Charlson FJ, Norman RE, Patten SB, Freedman G, Murray CJ ve ark. Burden of Depressive Disorders by Country, Sex, Age, and Year: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *PLoS Med* 2013;10(11); e1001547.
44. Florkowski C. HbA1c as a Diagnostic Test for Diabetes Mellitus - Reviewing the Evidence. *Clin Biochem Rev* 2013;34(2); 75–83.
45. Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Pezzino V, Squatrito S, Belfiore A ve ark. The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases. *Arch Physiol Biochem* 2008;114(1); 23–37.
46. Fridovich I. Oxygen: how do we stand it? *Med Princ Pract* 2013;22(2); 131–137.
47. Fursule R, Kulkarni J, Agarkar P. *Biochemistry: Basic and applied*. 4th ed., Nirali Prakashan, 2009.
48. Gale EA. To boldly go—or to go too boldly? The accelerator hypothesis revisited. *Diabetologia* 2007;50(8); 1571–1575.
49. Gan MJ, Albanese-O'Neill A, Haller MJ. Type 1 diabetes: current concepts in epidemiology, pathophysiology, clinical care, and research. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2012;42(10); 269–291.
50. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* 2010;107(9); 1058–1070.
51. Gois C, Akiskal H, Akiskal K, Figueira ML. Depressive temperament, distress, psychological adjustment and depressive symptoms in type 2 diabetes. *J Affect Disord* 2012;143(1-3); 1–4.
52. Gomez R, Barros HM. Ethopharmacology of the antidepressant effect of clonazepam in diabetic rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2000;66(2); 329–335.
53. Goodnick PJ, Hernandez M. Treatment of depression in comorbid medical illness. *Expert Opin Pharmacother* 2000;1(7); 1367–1384.
54. Griffiths HR, Dias, Irundika H K, Willetts RS, Devitt A. Redox regulation of protein damage in plasma. *Redox Biol* 2014;2; 430–435.
55. Guthrie RA, Guthrie DW. Pathophysiology of diabetes mellitus. *Crit Care Nurs Q* 2004;27(2); 113–125.
56. Gutowski M, Kowalczyk S. A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *Acta Biochim Pol* 2013;60(1); 1–16.

57. Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC. A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. *Food Chem Toxicol* 2007;45(11); 2179–2205.
58. Hasler G. Pathophysiology of depression: Do we have any solid evidence of interest to clinicians? *World Psychiatry* 2010;9(3); 155–161.
59. Herrera-Ruiz M, Zamilpa A, González-Cortazar M, Reyes-Chilpa R, León E, García MP ve ark. Antidepressant effect and pharmacological evaluation of standardized extract of flavonoids from *Byrsonima crassifolia*. *Phytomedicine* 2011;18(14); 1255–1261.
60. Hosokawa M, Dolci W, Thorens B. Differential sensitivity of GLUT1- and GLUT2-expressing beta cells to streptozotocin. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;289(5); 1114–1117.
61. Hsieh C, Peng C, Cheng Y, Lin L, Ker Y, Chang C ve ark. Quercetin and ferulic acid aggravate renal carcinoma in long-term diabetic victims. *J Agric Food Chem* 2010;58(16); 9273–9280.
62. Inoguchi T, Sonta T, Tsubouchi H, Etoh T, Kakimoto M, Sonoda N ve ark. Protein kinase C-dependent increase in reactive oxygen species (ROS) production in vascular tissues of diabetes: role of vascular NAD(P)H oxidase. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(8 Suppl 3); S227-32.
63. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 6th ed. 2013 [cited 2013 Feb 3]. Available from URL: <http://www.idf.org/diabetesatlas>.
64. Jackson SW. A History of Melancholia and Depression. In: Wallace ER, Gach J (eds). *History of psychiatry and medical psychology: With an epilogue on psychiatry and the mind-body relation*. New York: Springer, 2008; 443–460.
65. Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, Franceschi S, Hamidi M, Marchie A ve ark. Glycemic index: overview of implications in health and disease. *Am J Clin Nutr* 2002;76(1); 266S–73S.
66. Jeong S, Kang M, Choi H, Kim J, Kim J. Quercetin ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia and improves antioxidant status in type 2 diabetic db/db mice. *Nutr Res Pract* 2012;6(3); 201–207.
67. Jonge P de, Rosmalen, Judith G M, Kema IP, Doornbos B, van Melle, Joost P, Pouwer F ve ark. Psychophysiological biomarkers explaining the association between depression and prognosis in coronary artery patients: a critical review of the literature. *Neurosci Biobehav Rev* 2010;35(1); 84–90.
68. Jung JY, Lim Y, Moon MS, Kim JY, Kwon O. Onion peel extracts ameliorate hyperglycemia and insulin resistance in high fat diet/streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr Metab (Lond)* 2011;8(1); 18.
69. Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *The Lancet* 2014;383(9922); 1068–1083.
70. Kahraman A, Çakar H, Köken T. The protective effect of quercetin on long-term alcohol consumption-induced oxidative stress. *Mol Biol Rep* 2012;39(3); 2789–2794.
71. Kanter M. Protective effects of thymoquinone on streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *J Mol Histol* 2009;40(2); 107–115.
72. Kanter M, Aktas C, Erboğa M. Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food Chem Toxicol* 2012;50(3-4); 719–725.
73. Katon W. Depression and diabetes: unhealthy bedfellows. *Depress Anxiety* 2010;27(4); 323–326.
74. Kelly GS. Quercetin. *Monograph. Altern Med Rev* 2011;16(2); 172–194.

75. Khansari N, Shakiba Y, Mahmoudi M. Chronic Inflammation and Oxidative Stress as a Major Cause of Age- Related Diseases and Cancer. *IAD* 2009;3(1); 73–80.
76. Khosla UM, Zharikov S, Finch JL, Nakagawa T, Roncal C, Mu W ve ark. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. *Kidney Int* 2005;67(5); 1739–1742.
77. Kim HG, Lee JH, Lee SJ, Oh J, Shin E, Jang YP ve ark. The increased cellular uptake and biliary excretion of curcumin by quercetin: a possible role of albumin binding interaction. *Drug Metab Dispos* 2012;40(8); 1452–1455.
78. Kim J, Kang M, Choi H, Jeong S, Lee Y, Kim J. Quercetin attenuates fasting and postprandial hyperglycemia in animal models of diabetes mellitus. *Nutr Res Pract* 2011a;5(2); 107–111.
79. Kim S, Jo S, Kwon Y, Hwang J. Effects of Onion (*Allium cepa* L.) Extract Administration on Intestinal α -Glucosidases Activities and Spikes in Postprandial Blood Glucose Levels in SD Rats Model. *Int J Mol Sci* 2011b;12(6); 3757–3769.
80. King AJ. The use of animal models in diabetes research. *Br J Pharmacol* 2012;166(3); 877–894.
81. Kinoshita T, Lepp Z, Kawai Y, Terao J, Chuman H. An integrated database of flavonoids. *Biofactors* 2006;26(3); 179–188.
82. Knekt P, Kumpulainen J, Jarvinen R, Rissanen H, Heliovaara M, Reunanen A ve ark. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr* 2002;76(3); 560–568.
83. Kobori M, Masumoto S, Akimoto Y, Takahashi Y. Dietary quercetin alleviates diabetic symptoms and reduces streptozotocin-induced disturbance of hepatic gene expression in mice. *Mol Nutr Food Res* 2009;53(7); 859–868.
84. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002;30(6); 620–650.
85. Kuchlbauer V, Vogel M, Gausche R, Kapellen T, Rothe U, Vogel C ve ark. High birth weights but not excessive weight gain prior to manifestation are related to earlier onset of diabetes in childhood: ‘accelerator hypothesis’ revisited. *Pediatr Diabetes* 2013.
86. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *ScientificWorldJournal* 2013;2013(11-12); 1–16.
87. Lan K, He J, Tian Y, Tan F, Jiang X, Wang L ve ark. Intra-herb pharmacokinetics interaction between quercetin and isorhamnetin. *Acta Pharmacol Sin* 2008;29(11); 1376–1382.
88. Larson SJ, Dunn AJ. Behavioral effects of cytokines. *Brain Behav Immun* 2001;15(4); 371–387.
89. Lee EA, Seo JY, Jiang Z, Yu MR, Kwon MK, Ha H ve ark. Reactive oxygen species mediate high glucose-induced plasminogen activator inhibitor-1 up-regulation in mesangial cells and in diabetic kidney. *Kidney Int* 2005;67(5); 1762–1771.
90. Lee M, Lin R, Shen L, Yang L, Yen K, Hou W. Monoamine Oxidase B and Free Radical Scavenging Activities of Natural Flavonoids in *Melastoma candidum* D. Don. *J Agric Food Chem* 2001;49(11); 5551–5555.
91. Leiberer A, Mündlein A, Drexel H. Phytochemicals and their impact on adipose tissue inflammation and diabetes. *Vascul Pharmacol* 2013;58(1-2); 3–20.
92. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008;51(2); 216–226.
93. Leonard B, Maes M. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants

- play a role in the pathophysiology of unipolar depression. *Neurosci Biobehav Rev* 2012;36(2); 764–785.
94. Levinstein MR, Samuels BA. Mechanisms underlying the antidepressant response and treatment resistance. *Front Behav Neurosci* 2014;8; 208.
 95. Li Z, Geng Y, Jiang J, Kong W. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Berberine in the Treatment of Diabetes Mellitus. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014;2014(33); 1–12.
 96. Liu F, Agrawal SG, Movasaghi Z, Wyatt PB, Rehman IU, Gribben JG ve ark. Dietary flavonoids inhibit the anticancer effects of the proteasome inhibitor bortezomib. *Blood* 2008;112(9); 3835–3846.
 97. Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7(2); 156–167.
 98. Maciel RM, Costa MM, Martins DB, França RT, Schmatz R, Graça DL ve ark. Antioxidant and anti-inflammatory effects of quercetin in functional and morphological alterations in streptozotocin-induced diabetic rats. *Res Vet Sci* 2013;95(2); 389–397.
 99. Mahesh T, Menon VP. Quercetin alleviates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother Res* 2004;18(2); 123–127.
 100. Mahmoud MF, Hassan NA, El Bassossy, Hany M, Fahmy A. Quercetin protects against diabetes-induced exaggerated vasoconstriction in rats: effect on low grade inflammation. *PLoS One* 2013;8(5); e63784.
 101. Mariappan N, Soorappan RN, Haque M, Sriramula S, Francis J. TNF-alpha-induced mitochondrial oxidative stress and cardiac dysfunction: restoration by superoxide dismutase mimetic Tempol. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293(5); H2726–H2737.
 102. Maric NP, Adzic M. Pharmacological modulation of HPA axis in depression - new avenues for potential therapeutic benefits. *Psychiatr Danub* 2013;25(3); 299–305.
 103. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol* 2003;17(1); 24–38.
 104. Mazloom Z, Ekramzadeh M, Hejazi N. Efficacy of supplementary vitamins C and E on anxiety, depression and stress in type 2 diabetic patients: a randomized, single-blind, placebo-controlled trial. *Pak J Biol Sci* 2013;16(22); 1597–1600.
 105. McPhee SJ, Hammer GD. *Pathophysiology of disease: An introduction to clinical medicine*. 6th ed., McGraw-Hill Medical, 2010.
 106. Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P ve ark. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care* 2010;33(3); 676–682.
 107. Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry* 2009;65(9); 732–741.
 108. Molina PE. *Endocrine physiology*. 3rd ed., McGraw-Hill Medical, 2010.
 109. Morais H de, de Souza, Camila P, da Silva, Luisa M, Ferreira DM, Werner MF, Andreatini R ve ark. Increased oxidative stress in prefrontal cortex and hippocampus is related to depressive-like behavior in streptozotocin-diabetic rats. *Behav Brain Res* 2014;258; 52–64.
 110. Morand C, Crespy V, Manach C, Besson C, Demigne C, Remesy C. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *Am J Physiol* 1998;275(1 Pt 2); R212-9.

111. Muller N. The role of anti-inflammatory treatment in psychiatric disorders. *Psychiatr Danub* 2013;25(3); 292–298.
112. Müller N. Immunology of major depression. *Neuroimmunomodulation* 2014;21(2-3); 123–130.
113. Murray CJ, Vos T, Lozano R, Naghavi M, Flaxman AD, Michaud C ve ark. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet* 2012;380(9859); 2197–2223.
114. Nakae J, Kido Y, Accili D. Distinct and overlapping functions of insulin and IGF-I receptors. *Endocr Rev* 2001;22(6); 818–835.
115. Newsholme EA, Dimitriadis G. Integration of biochemical and physiologic effects of insulin on glucose metabolism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001;109(Suppl 2); S122.
116. Nieman KM, Schalinske KL. Insulin administration abrogates perturbation of methyl group and homocysteine metabolism in streptozotocin-treated type 1 diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011;301(3); E560-5.
117. Nin MS, Salles FB, Azeredo LA, Frazon, A P G, Gomez R, Barros, H M T. Antidepressant effect and changes of GABAA receptor gamma2 subunit mRNA after hippocampal administration of allopregnanolone in rats. *J Psychopharmacol* 2008;22(5); 477–485.
118. O'Connell MA, Donath S, Cameron FJ. Major increase in Type 1 diabetes: no support for the Accelerator Hypothesis. *Diabet Med* 2007;24(8); 920–923.
119. Oršolić N, Gajski G, Garaj-Vrhovac V, Dikić D, Prskalo ZŠ, Sirovina D. DNA-protective effects of quercetin or naringenin in alloxan-induced diabetic mice. *Eur J Pharmacol* 2011;656(1-3); 110–118.
120. Pabbidi RM, Cao D, Parihar A, Pauza ME, Premkumar LS. Direct role of streptozotocin in inducing thermal hyperalgesia by enhanced expression of transient receptor potential vanilloid 1 in sensory neurons. *Mol Pharmacol* 2008;73(3); 995–1004.
121. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007;87(1); 315–424.
122. Pariante CM, Lightman SL. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci* 2008;31(9); 464–468.
123. Parissis JT, Fountoulaki K, Filippatos G, Adamopoulos S, Paraskevaidis I, Kremastinos D. Depression in coronary artery disease: novel pathophysiologic mechanisms and therapeutic implications. *Int J Cardiol* 2007;116(2); 153–160.
124. Patel A. Review: the role of inflammation in depression. *Psychiatr Danub* 2013;25 Suppl 2; S216-23.
125. Patki G, Solanki N, Atrooz F, Allam F, Salim S. Depression, anxiety-like behavior and memory impairment are associated with increased oxidative stress and inflammation in a rat model of social stress. *Brain Res* 2013;1539; 73–86.
126. Pihoker C, Gilliam LK, Hampe CS, Lernmark A. Autoantibodies in Diabetes. *Diabetes* 2005;54(Supplement 2); S52.
127. Pipi E, Marketou M, Tsirogianni A. Distinct clinical and laboratory characteristics of latent autoimmune diabetes in adults in relation to type 1 and type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2014;5(4); 505–510.
128. Porter JR, Barrett TG. Braking the Accelerator Hypothesis? *Diabetologia* 2004;47(2); 352–353.

129. Porterfield SP, White BA. Endocrine and reproductive physiology. 4th ed., Elsevier/Mosby, 2013.
130. Pothion S, Bizot J, Trovero F, Belzung C. Strain differences in sucrose preference and in the consequences of unpredictable chronic mild stress. *Behav Brain Res* 2004;155(1); 135–146.
131. Radahmadi M, Shadan F, Karimian SM, Sadr SS, Nasimi A. Effects of stress on exacerbation of diabetes mellitus, serum glucose and cortisol levels and body weight in rats. *Pathophysiology* 2006;13(1); 51–55.
132. Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasaiiah U ve ark. Antioxidants and human diseases. *Clin Chim Acta* 2014;436C; 332–347.
133. Ranawat P, Pathak CM, Khanduja KL. A new perspective on the quercetin paradox in male reproductive dysfunction. *Phytother Res* 2013;27(6); 802–810.
134. Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar, M N V Ravi. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release* 2006;113(3); 189–207.
135. Rawdin BJ, Mellon SH, Dhabhar FS, Epel ES, Puterman E, Su Y ve ark. Dysregulated relationship of inflammation and oxidative stress in major depression. *Brain Behav Immun* 2013;31; 143–152.
136. Reddy MS. Depression: the disorder and the burden. *Indian J Psychol Med* 2010;32(1); 1–2.
137. Repetto M, Semprine J, Boveris A. Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. In: Catala A (ed). *Lipid Peroxidation: InTech*, 2012.
138. Requena JR, Fu MX, Ahmed MU, Jenkins AJ, Lyons TJ, Thorpe SR. Lipoxidation products as biomarkers of oxidative damage to proteins during lipid peroxidation reactions. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11 Suppl 5; 48–53.
139. Rithalia A. Effects of halothane on contraction and intracellular calcium in ventricular myocytes from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Anaesth* 2004;92(2); 246–253.
140. Robertson RP. Chronic Oxidative Stress as a Central Mechanism for Glucose Toxicity in Pancreatic Islet Beta Cells in Diabetes. *J Biol Chem* 2004;279(41); 42351–42354.
141. Rochette L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta* 2014;1840(9); 2709–2729.
142. Rosenthal MH. The challenge of comorbid disorders in patients with depression. *J Am Osteopath Assoc* 2003;103(8 Suppl 4); S10-5.
143. Rubin RR, Peyrot M. Was Willis right? Thoughts on the interaction of depression and diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2002;18(3); 173–175.
144. Rustad JK, Musselman DL, Nemeroff CB. The relationship of depression and diabetes: Pathophysiological and treatment implications. *Psychoneuroendocrinology* 2011;36(9); 1276–1286.
145. Sabaté E. Adherence to long-term therapies: Evidence for action, World Health Organization, 2003.
146. Sakakibara H, Yoshino S, Kawai Y, Terao J. Antidepressant-like effect of onion (*Allium cepa* L.) powder in a rat behavioral model of depression. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008;72(1); 94–100.
147. Sánchez-Castillo CP, Hudson GJ, Englyst HN, Dewey P, James, W Philip T. The importance of dietary carbohydrates. *Arch Latinoam Nutr* 2002;52(4); 321–335.

148. Schwarz MJ. Cytokines, neurophysiology, neuropsychology, and psychiatric symptoms. *Dialogues Clin Neurosci* 2003;5(2); 139–153.
149. Sheard NF, Clark NG, Brand-Miller JC, Franz MJ, Pi-Sunyer FX, Mayer-Davis E ve ark. Dietary Carbohydrate (Amount and Type) in the Prevention and Management of Diabetes: A statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2004;27(9); 2266–2271.
150. Silberberg M, Morand C, Manach C, Scalbert A, Remesy C. Co-administration of quercetin and catechin in rats alters their absorption but not their metabolism. *Life Sci* 2005;77(25); 3156–3167.
151. Singh A, Naidu PS, Kulkarni SK. Quercetin Potentiates *L*-Dopa Reversal of Drug-Induced Catalepsy in Rats: Possible COMT/MAO Inhibition. *Pharmacology* 2003;68(2); 81–88.
152. Siwek M, Sowa-Kucma M, Dudek D, Styczen K, Szewczyk B, Kotarska K ve ark. Oxidative stress markers in affective disorders. *Pharmacol Rep* 2013;65(6); 1558–1571.
153. Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *Indian J Med Res* 2007;125(3); 451–472.
154. Strelakova T, Couch Y, Kholod N, Boyks M, Malin D, Leprince P ve ark. Update in the methodology of the chronic stress paradigm: internal control matters. *Behav Brain Funct* 2011;7; 9.
155. Tamburrino MB, Nagel RW, Chahal MK, Lynch DJ. Antidepressant Medication Adherence. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry* 2009;11(5); 205–211.
156. Tang D, Kang R, Xiao W, Zhang H, Lotze MT, Wang H ve ark. Quercetin prevents LPS-induced high-mobility group box 1 release and proinflammatory function. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2009;41(6); 651–660.
157. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int* 1999;49(2); 91–102.
158. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006;12(7); RA130-47.
159. Trujillo M, Alvarez B, Souza JM, Romero N, Castro L, Thomson L ve ark. Mechanisms and Biological Consequences of Peroxynitrite-Dependent Protein Oxidation and Nitration. In: Ignarro LJ (ed). *Nitric oxide: Biology and pathobiology*, 2nd ed. London: Academic, 2010; 61–102.
160. Utesch D, Feige K, Dasenbrock J, Broschard TH, Harwood M, Danielewska-Nikiel B ve ark. Evaluation of the potential in vivo genotoxicity of quercetin. *Mutat Res* 2008;654(1); 38–44.
161. Villamena FA. Chemistry of Reactive Species. In: Villamena FA (ed). *Molecular Basis of Oxidative Stress*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc, 2013; 1–48.
162. Vollmayr B, Henn FA. Learned helplessness in the rat: improvements in validity and reliability. *Brain Res Protoc* 2001;8(1); 1–7.
163. Wang Y, Zhao Y, Yang F, Yuan Y, Wang H, Xiao J. Influences of glucose on the dietary hydroxyflavonoid-plasma protein interaction. *J Agric Food Chem* 2012;60(49); 12116–12121.
164. Weykamp C. HbA1c: a review of analytical and clinical aspects. *Ann Lab Med* 2013;33(6); 393–400.
165. Wilkin TJ. The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between Type I and Type II diabetes. *Diabetologia* 2001;44(7); 914–922.

166. Wilkin TJ. The convergence of type 1 and type 2 diabetes in childhood. *Pediatr Diabetes* 2012;13(4); 334–339.
167. World Health Organization. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia. 2006 [cited 2014 Aug 26]. Available from URL: http://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis_diabetes2006/en/.
168. World Health Organization. The top 10 causes of death. 2011 [cited 2014 Mar 14]. Available from URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>.
169. World Health Organization. Depression Fact Sheet. 2012 [cited 2014 Mar 10]. Available from URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>.
170. Yan H, Cao X, Das M, Zhu X, Gao T. Behavioral animal models of depression. *Neurosci Bull* 2010;26(4); 327–337.
171. Yen G, Duh P, Tsai H, Huang S. Pro-oxidative properties of flavonoids in human lymphocytes. *Biosci Biotechnol Biochem* 2003;67(6); 1215–1222.
172. Zatalia SR, Sanusi H. The role of antioxidants in the pathophysiology, complications, and management of diabetes mellitus. *Acta Med Indones* 2013;45(2); 141–147.
173. Zhang S, Zhong J, Yang P, Gong F, Wang C. HMGB1, an innate alarmin, in the pathogenesis of type 1 diabetes. *Int J Clin Exp Pathol* 2009;3(1); 24–38.
174. Zhu H, Wang J, Santo A, Li Y. Downregulation of Antioxidants and Phase 2 Proteins. In: Villamena FA (ed). *Molecular Basis of Oxidative Stress*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc, 2013; 113–122.

10. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Ankara'da doğdum. İlkokulu Ankara Gazi İlkokulu'nda, ortaokul ve liseyi ise Ankara Hacı Ömer Tarman Anadolu Lisesi'nde okudum. 2002 yılında başladığım Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi'ndeki eğitimimi 2008 yılında tamamladım. 2010 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladım. Evli ve bir çocuk babasıyım.