

DeneySEL Diyabetin Serebellar CREB / BDNF Yolağı, Oksidatif Stres ve Motor Fonksiyona Etkisi

Birgül ALTUĞ¹ , İnci TURAN²  , Hale SAYAN ÖZAÇMAK² , V. Haktan ÖZAÇMAK² 

¹Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Programı, Zonguldak, Türkiye

²Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

Bu makaleye yapılacak atf: Altuğ B ve ark. DeneySEL diyabetin serebellar CREB / BDNF yolağı, oksidatif stres ve motor fonksiyona etkisi. Turk J Diab Obes 2021;3: 248-255.

ÖZ

Amaç: Diabetes mellitus (DM), mortalite ve morbidite oranı yüksek olan metabolik bir hastalıktır. DM'nin nörodavranışsal değişikliklere ve lökomotor aktivitede bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir. Siklik AMP Regülatuar Eleman Bağlayıcı Protein (CREB) ve Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) proteinleri, beyindeki hafıza, öğrenme ve ruh hâli değişiklikleri gibi sayısız işlevde düzenleyici bir rol oynar. Bu çalışmanın amacı, deneySEL olarak oluşturulan diyabetin serebellum üzerindeki etkilerini, diyabetin serebellar motor fonksiyonu nasıl etkilediğini ve diyabetin oksidatif stres parametreleri ve sinaptik proteinler üzerindeki etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmada toplam 24 adet erkek Wistar Albino rat (300-350 gr) rastgele olarak Kontrol grubu ve Diabetes mellitus grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı. DM oluşturmak için streptozotosin (STZ) 60 mg/kg tek doz (intraperitoneal) olarak uygulandı. Açlık kan şekeri, STZ uygulamasından üç gün sonra ölçüldü. Glikoz seviyesi >250 mg/kg olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Sıçanlarda motor fonksiyonu değerlendirmek için kiriş yürüme testi yapıldı. Serebellum dokusunda CREB/BDNF düzeyleri ELISA yöntemi ile oksidatif stres parametreleri (Malondialdehit (MDA) ve glutasyon (GSH) düzeyleri) biyokimyasal yöntemle değerlendirildi.

Bulgular: Kiriş yürüme testinde diyabetli grupta platformu geçme süresi kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha uzundu (p=0,001). Serebellum BDNF seviyeleri diyabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu (p=0,001). Serebellumda CREB ve GSH düzeyleri gruplar arasında farklı değildi (sırasıyla, p=0,99 p=0,394). Sıçanlarda MDA düzeyleri diyabet grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti (p=0,001).

Sonuç: Bu çalışma, diyabetin serebellumdaki BDNF düzeylerini azalttığını ve oksidatif stresi artırarak motor fonksiyonların bozulmasına neden olduğunu göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Diabetes mellitus, Serebellum, BDNF, CREB, Oksidatif stres, Motor koordinasyon

Effects of Experimental Diabetes on Cerebellar CREB/BDNF Pathway, Oxidative Stress and Motor Function

ABSTRACT

Aim: Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder with high mortality and morbidity rates. It is shown that DM causes neurobehavioral changes and locomotor disruption. Cyclic AMP Regulatory Element Binding Protein (CREB) and Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) proteins plays a regulatuar role in numoreus functions in the brain such as memory, learning, and mood changes. The aim of this study was to investigate the effects of experimentally induced diabetes on cerebellum, how diabetes affects cerebellar motor function and to investigate the effect of diabetes on oxidative stress parameters and synaptic proteins.

Material and Methods: In this study, a total of 24 male Wistar Albino rats (300-350 g) were divided into two groups as randomly, Control group and Diabetes mellitus group. Streptozotocin (STZ) was applied as a single 60 mg/kg dose (intraperitoneally) to perform DM. Fasting blood glucose was measured three days after STZ administration. Rats with a glucose level of >250 mg/kg were considered diabetic. The beam walking test was performed to evaluate motor function in rat. CREB/BDNF levels were assessed by ELISA method and oxidative stres parameters (Malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels) were evaluated by biochemical method in cerebellum tissue.

ORCID: Birgül Altuğ / 0000-0002-4193-4219, İnci Turan / 0000-0003-2211-3914, Hale Sayan Özaçmak / 0000-0002-3564-0468, V. Haktan Özaçmak / 0000-0003-2651-8353

Yazışma Adresi / Correspondence Address:

İnci TURAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye
E-posta: dr.incituran@gmail.com

DOI: 10.25048/tudod.976507

Geliş tarihi / Received : 30.07.2021

Revizyon tarihi / Revision : 14.12.2021

Kabul tarihi / Accepted : 14.12.2021

Results: In the beam walking test, the time to cross the platform was significantly longer in the diabetes group compared to the control group ($p=0.001$). The levels of BDNF in cerebellum were significantly lower in the diabetic group than in the control group ($p=0.001$). The levels of CREB and GSH in cerebellum were not different between the groups (respectively, $p=0.99$ $p=0.394$). The levels of MDA were higher in the diabetes group compared to the control group in the rat ($p=0.001$).

Conclusion: This study showed that diabetes reduces the levels of BDNF in the cerebellum and increases distortion of motor functions by increasing oxidative stress.

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

GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), insülin üretimi ve salgısının bozulmasına bağlı olarak kronik hiperglisemi bulgusuna sahip heterojen metabolik bir bozukluktur. Anormal derecede yüksek kan şekeri seviyeleri ile teşhis edilen bir endokrin sistem hastalığı olan DM, dünya çapında en yaygın ve en hızlı büyüyen hastalıklardan biridir ve 2045 yılına kadar 693 milyon yetişkini etkileyeceği düşünülmektedir (1-4). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yüksek mali yüke sahip olan DM, hem mikrovasküler hem de makrovasküler komplikasyonlarla (kardiyovasküler hastalık, diyabetik retinopati ve nöropati gibi) bireylerde morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerindedir (3-5).

Hiperglisemiye bağlı vasküler hasarın kesin mekanizmaları hem karmaşık hem de tam olarak anlaşılmamış olsa da yüksek hücre içi glikoz seviyelerine bağlı DM komplikasyonlarının altında yatan patofizyolojik mekanizma, reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminin artışıyla dört ana yolun aktivasyonuna neden olmaktadır. Bunlar; polyol yolağı aktivite artışı, glikasyon son ürünleri (AGE) artışı, protein kinaz C (PKC) aktivasyon artışı, heksosamin yolağının aşırı aktivitesidir. Aynı zamanda DM'de endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve prostasiklin sentaz etkisiz hâle gelmektedir (3,4,6-8). Hiperglisemik koşullarda, polyol yolu aktivitesi artar, bunu indirgenmiş glutatyon (GSH) ve nikotinamid adenin dinükleotide fosfat (NADPH) seviyelerinde bir azalma izler. Polyol yolunun aşırı aktivasyonu ROS birikimine yol açar ve AGE hücre içi sinyal iletim ve gen ekspresyon bozukluklarını, enflamatuvar yanıtları başlatabilen reseptörlere bağlanırlar. Sürekli olarak AGE reseptörü (RAGE) uyarılmasının kronik hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir (3,4,9).

Serebellum, hareketlerin koordinasyonu ve postür ile dengeyi kontrolünden sorumlu bir merkezdir. Serebellum hasarında en önemli bozukluklar hareket sırasında görülmekte ve hareketin hızı, sırası, gücü ve yönündeki aksaklıklarla karakterize olarak ataksi sık görülmektedir (10,11).

Nörotrofinler, sinir sisteminin gelişiminde ve işleyişinde önemli düzenleyicilerdir. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), hem santral sinir sisteminde hem de periferik sinir

sisteminde nöronal işlevleri düzenleyen önemli bir nörotrofindir. BDNF, Trk B reseptörüne bağlanır ve tirozin kinazı aktive eder. Trk B'nin ligand bağlanmasını takiben homodimerler oluşturduğu, tirozin kalıntıları üzerinde otofosforilasyonu indüklediği ve mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) yolu ve fosfoinositol 3-kinaz yolunu içeren aşağı akış sinyalleme kaskadlarını başlattığı bildirilmiştir (12-16). BDNF'nin, öğrenme ve hafızayı esas alan uzun süreli potansiyel (LTP) konusunda kritik bir rol oynadığı ve BDNF eksikliklerinin DM, Huntington hastalığı, Alzheimer hastalığı (AD) ve depresyon gibi birçok önemli hastalığın patogeneğine katkıda bulunduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (17-19). Siklik AMP Regülatuar Eleman Bağlayıcı Protein (CREB) sinir sisteminin gelişimi, korunması ve nöronal plastisitenin yanısıra öğrenme ve hafıza ile ilgili bir transkripsiyon faktörüdür (20).

Bu çalışmanın amacı streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diyabet modelinin serebellar motor fonksiyonu nasıl etkilediğini ve diyabetin oksidatif stres parametreleri ile CREB/BDNF proteinleri üzerindeki etkisini araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Deneylerde Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (etik kurul no: 2017-17-07/09) temin edilen ağırlıkları 300-350 gr arasında değişen 24 adet yetişkin erkek Wistar-Albino cinsi sıçan kullanılmıştır.

Deney Grupları ve Diyabet Oluşturma

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

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

lanan deneklerden 8 tanesinde DM oluşturulmuş ancak 4 tanesinde oluşturulamamıştır. Dört haftalık diyabet süresinin sonunda davranış testi yapılmıştır.

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

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

Davranış Testi

Beam Walking Test/Kiriş Yürüme Testi

Diyabet oluşturulduktan dört hafta sonra davranış testine başlanmıştır. Hayvanlarda motor koordinasyonu değerlendirmek için kiriş yürüme testi (Beam Walking test) uygulanmıştır. Davranış testi uygun ısı, aydınlatma ve ses kontrolünün sağlandığı laboratuvar ortamında yapılmıştır.

Yerden 50 cm yüksekte, 100 cm uzunluğunda ve 2,5 cm enindeki yürüme aparatında test uygulanmıştır. Hayvanlar, kirişin karşı ucundaki karanlık hedef kutusuna girme sürecinde test edildi. Test 3 gün boyunca 24 saat aralıklarla uygulandı. Test sürecinde kamera kaydı kullanılarak hayvanların kiriş üstünde platformu tamamlama süresi değerlendirildi (Şekil 1).

Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Bütün hayvanların davranış testi tamamlandıktan 24 saat sonra denekler yüksek doz anestezi (sodyum tiyopental) verilerek feda edildi. Serebellum dokuları buz üstünde hızlıca çıkarıldı. Dokular iki eşit parçaya ayrıldı ve çalışma zamanına kadar -80 °C de derin dondurucuda saklandı.

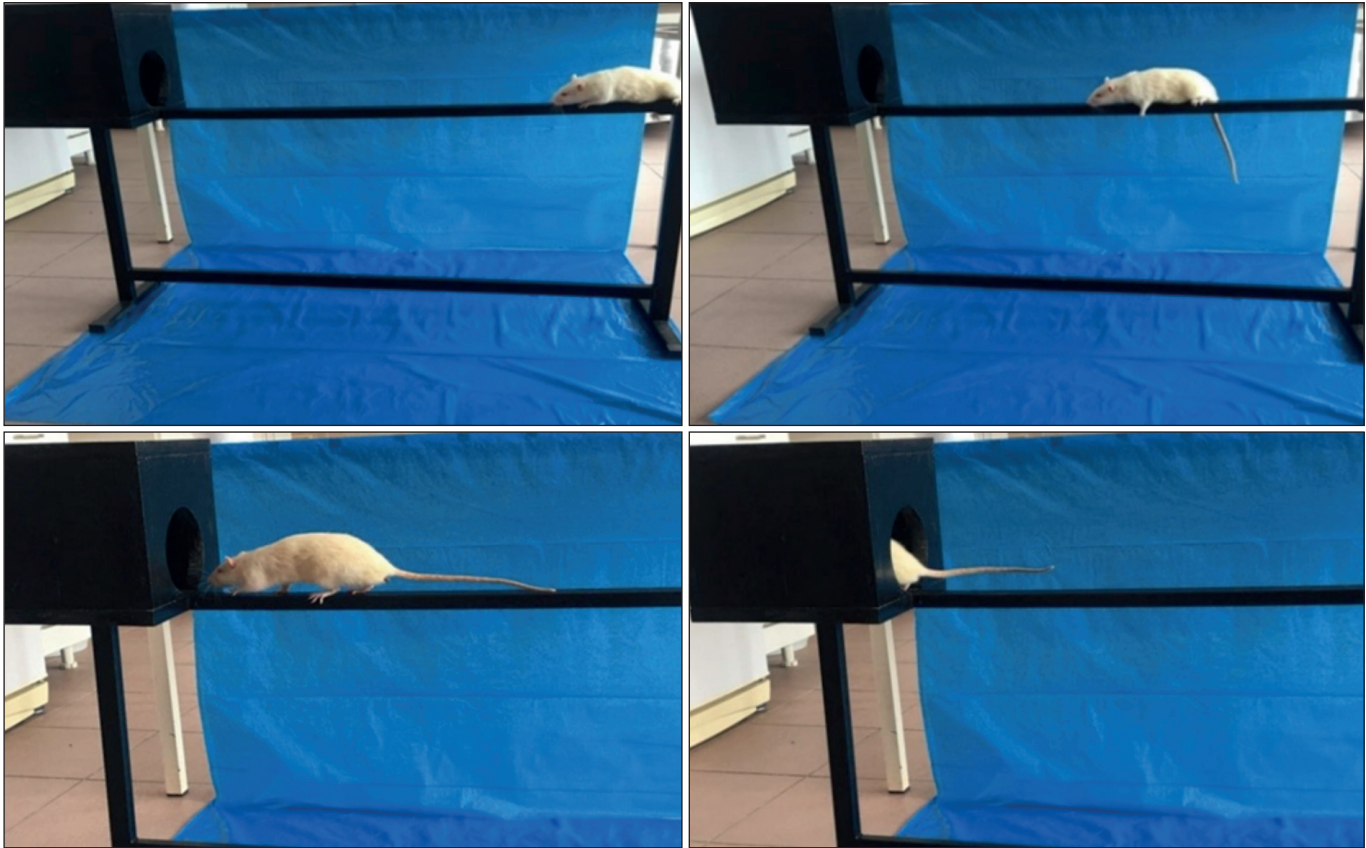
Değerlendirilen Parametreler

Doku Homejanatlarının Hazırlanma Süreci

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

Serebellar CREB ve BDNF Ölçümü

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



Şekil 1: 'Beam Walking' Test/Kiriş Yürüme Testi.

Biyokimyasal Ölçümler

MDA Tayini

MDA seviyesi, lipid peroksidasyon göstergesidir ve Casini ve ark.nın yöntemi ile çalışılmıştır. Serebellum örnekleri -80 derecede saklanmış olup buz içinde çözünmesi beklenildi ve dokular tartıldı. Tartılmış olan dokunun 1 gramına 9 ml olacak şekilde soğuk %10'luk triklorasetik asit (TCA, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) eklendi ve mekanik homojenizatörde homojenizasyon yapıldı. 18-20 °C'de 3000g'de 15 dakika homojenat santrifüj edildi. Oluşturulan 1,5 ml süpernatant mikrosantrifüj tüplerinde 18-20 °C de 3000g'de 8 dakika santrifüj edildi. 750 µl süpernatant üzerine %1'lik butilhidroksi toluenden (BHT, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 10 µl eklendi. 750 µl %0,67'lik tiyobarbitürik asit (TBA, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) eklendi ve 15 dakika kaynatma işlemi yapıldı. Oluşturulan örnekler spektrofotometrik olarak 535 nm'de okundu (21).

GSH Tayini

GSH seviyesi Aykac ve ark.nın metodu kullanılarak çalışıldı. GSH majör endojen bir antioksidandır. MDA tayininde elde edilen süpernatant kullanıldı. Mikrosantrifüj tüplerinde 1,5 ml süpernatant 18-20 °C'de 3000g'de 8 dakika santrifüj edil-

di. Oluşan 250 µl örnek süpernatana 1 ml 0,3M Na₂HPO₄ (Sigma Chemical Co., St.Louis, MO, USA) eklendi. 125 µl ditiobisnitrobenzoat (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) eklendi. Vorteksleme sonrası örnekler 412 nm'de spektrofotometrede okundu (22).

İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesi SPSS 22 istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerleriyle verilmiştir. Nicel değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Gruplar arasındaki fark Mann Whitney-U testi ile belirlenmiştir. Sonuçlar için p değeri 0,05'ten küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

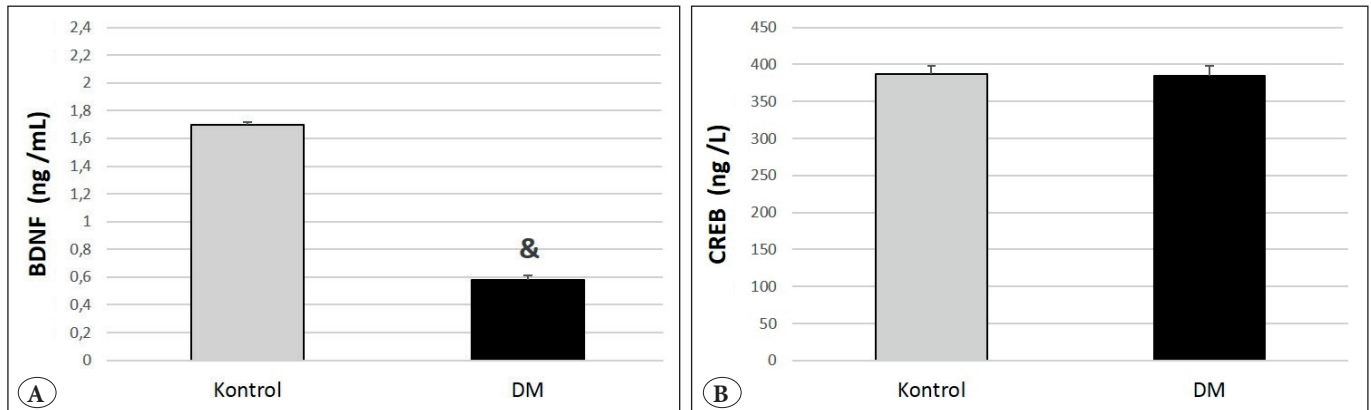
BDNF ve CREB Sonuçları

Serebellum BDNF ve CREB düzeyi Şekil 2'de verilmiştir. BDNF düzeyi diyabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p=0,001), (Şekil 2A, Tablo 1). Serebellum CREB düzeyinde kontrol ve diyabet grupları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0,99), (Şekil 2B, Tablo 1).

Tablo 1: Grupların BDNF, CREB, MDA, GSH düzeyleri ve platformu tamamlama değerleri. Değerler median (min-max) olarak verilmiştir.

Parametreler	Kontrol grubu	Diyabet grubu	p değeri
BDNF	1,7 (1,5-1,9)	0,58 * (0,21-1,08)	0,001
CREB	390 (316-470)	377 (311-462)	0,99
MDA	100,24 (78,08-124,72)	185,30 * (125,2-245,67)	0,001
GSH	6,23 (5,83-10,54)	6,23 (4,15-10,50)	0,394
Platformu tamamlama süresi (sn)	65,76 (36,06-73,23)	156,57* (128,54-179,81)	0,001

* Kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.



Şekil 2: Serebellum BDNF ve CREB düzeyleri, & kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.

Biyokimyasal Parametreler

MDA ve GSH Düzeyleri

Serebellum MDA düzeyleri Şekil 3A'da verilmiştir. Diyabet grubunda kontrol grubuna göre serebellum MDA seviyeleri yüksek saptanmıştır ($p=0,001$).

Serebellum GSH düzeyleri Şekil 3B'de verilmiştir. GSH düzeyleri diyabet grubunda düşük bulunmasına rağmen iki grup arasında anlamlı farklılık yoktur ($p=0,394$).

Davranış Testi Sonuçları

Beam Walking Test/Kiriş Yürüme Testi Sonuçları

Kiriş yürüme testinde platformu tamamlama süresi Şekil 4'de verilmiştir. Platformu tamamlama süresi diyabet grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p=0,001$).

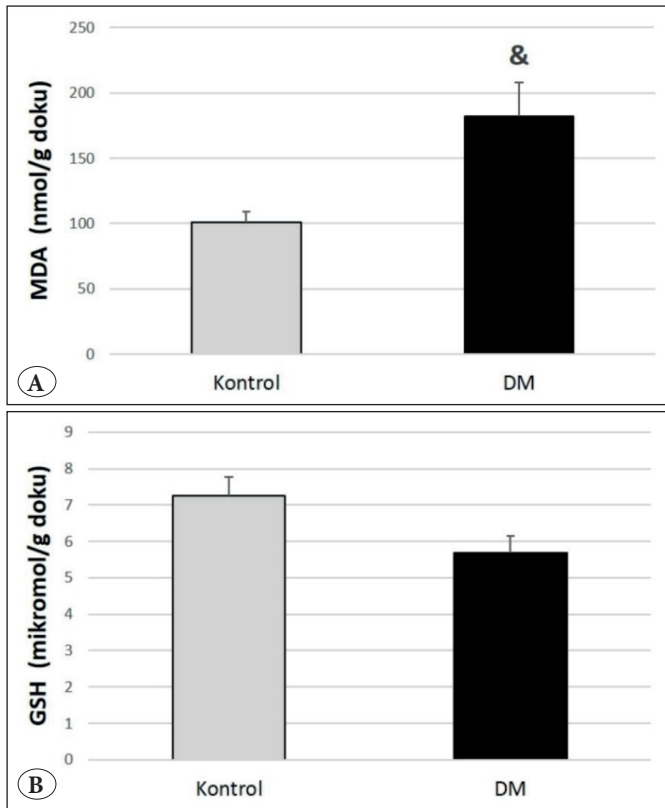
TARTIŞMA

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar diyabetin serebellumda oksidatif strese neden olduğunu ve ortaya çıkan oksidatif stres artışının motor fonksiyonları olumsuz etkilediğini göstermiştir. Ayrıca bir antioksidan molekül olan glutatyon düzeyleri diyabetle azalmasına rağmen bu azalma anlamlı bulunamamıştır. Diyabet serebellumda BDNF düzeyini ciddi

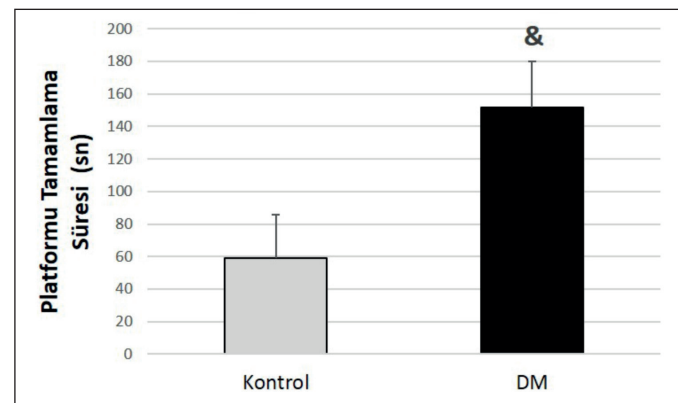
di bir şekilde azaltırken, CREB düzeyi ise diyabet ile değişiklik göstermemiştir.

Vücutta beyin de dahil olmak üzere birçok sistem diyabetten olumsuz yönde etkilenir. Beyindeki diyabet komplikasyonları kan-beyin bariyerinin ve bilişsel azalmanın bozulması ile beyin atrofisini içermektedir. Farklı beyin bölgelerinin diyabette gözlenen hiperglisemiye farklı yanıtlar verebileceği bildirilmiştir (23). Serebellum, motor öğrenmenin yanı sıra kas tonusu, koordinasyon ve ince hareketler üzerinde önemli bir rol oynar. Serebellar hasar, ince hareket, denge, duruş ve motor öğrenmede bozulmaya neden olabilir (24). Diyabet oluşturulmuş ratların serebellum dokularında histolojik ve immünohistokimyasal olarak nöroglial kayıp olduğu bildirilmiştir (25). Ayrıca diyabetli hastaların, hastalık süresinden ve glisemik kontrolden bağımsız olarak serebellumlarında atrofi tespit edilmiştir (26). Motor koordinasyon ve denge ratlarda kiriş yürüme testi ile değerlendirilebilir (24). Çalışmamızda kiriş yürüme testinde platformu tamamlama süresi diyabet oluşturulan ratlarda kontrol ratlarına göre daha uzundu. Bulgularımız literatüre uygun şekilde diyabetin lökomotor aktiviteyi olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir.

Diabetes mellitus ile ortaya çıkan hiperglisemi hücrelerde glukozun otooksidasyonuna, mitokodriyal enerji metabolizmasının bozulmasına neden olarak serbest oksijen radikallerinin oluşumunu artırıp oksidatif strese neden olmaktadır (27,28). Beyin oksidatif hasara oldukça duyarlıdır. İnsülin eksikliği, insülin direnci ile gelişen hiperglisemi, hiperlipidemi ve serbest oksijen radikallerinin artışı DM'ta gelişen komplikasyonların ana nedeni olarak görülmektedir. Önceki çalışmalarımızda diyabetik sıçanlarda oksidatif stres artışının kognitif fonksiyonları bozduğunu, kalp ve iskelet kasında anormalliklere neden olduğunu gösterdik (29,30). MDA oksidatif stresin ve lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir. GSH endojen olarak sentezlenen serbest



Şekil 3: Serebellum MDA ve GSH düzeyleri, & kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.



Şekil 4: Beam walking test/Kiriş yürüme testi, & kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir.

radikal toplayıcısı olarak görev yapan bir moleküldür. Çalışmamızda diyabet serebellum MDA düzeylerinin artmasına neden olarak oksidatif stres oluşmasına neden oldu. Ayrıca diyabetli ratların serebellum dokularında GSH seviyeleri düşüktü ancak bu düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Diyabetin birçok çalışmada ve farklı dokularda MDA içeriğinin artmasına ve GSH seviyelerinin düşmesine neden olduğu gösterilmiştir (31-33). Ixchel ve ark. STZ ile diyabet oluşturulan rat beyinlerinde GSH düzeylerinde değişiklik olmayabileceğini göstermişlerdir (23).

Diabetes mellitus ile gelişen hiperglisemi kognitif fonksiyon bozukluklarına da yol açmaktadır (30). Özellikle hiperglisemi ile artan oksidan maddeler amiloid-beta birikimi, tau fosforilasyonu ve nörofibriler yumakların tetiklenmesine aracılık etmektedir. Ayrıca serbest radikaller nöronal ölümüne neden olarak ve apoptozisi tetikleyerek sinaptik dejenerasyon ve sinaptik fonksiyonların bozulmasına neden olmaktadır (34). CREB nöron yenilenmesi, sinaps oluşumu, öğrenme ve hafıza ile ilgili fonksiyonel proteinleri regüle eden bir transkripsiyon faktörüdür (35). CREB'in en önemli hedef genleri arasında BDNF bulunmaktadır. BDNF santal sinir sisteminde nörogenez, noroplastisite ve nöronların korunmasında görevli bir büyüme faktörüdür (36, 37). Yüksek yağlı diyetle beslenen ve STZ uygulanan ratların hipokampusunda CREB ve BDNF seviyelerinin azaldığı ve öğrenmeyi olumsuz etkilediği gösterilmiştir (38). Yine STZ ile oluşturulmuş diyabet modelinde CREB, sinaptofizin ve BDNF'nin hipokampüste azaldığı ve dendritik dallanmaların azalmasına yol açarak öğrenme ve hafızayı etkilediği gösterilmiştir (35).

Beyinde BDNF seviyelerinin azalması Alzheimer ve Parkinson gibi birçok nörodejeneratif hastalıkla ilişkilendirilmiştir (37). Çalışmalar motor öğrenmenin hem serebellumda hem de motor kortekste sinaps oluşumunu tetiklediğini göstermiştir (39). Özellikle BDNF seviyeleri yüksek olduğunda, iskemik inme ve beyin hasarından sonra bozulan motor aktivitelerin tekrar kazanıldığı, BDNF azlığında ise motor iyileşmenin olmadığı gözlemlenmiştir (37). BDNF insan serebellumunda erken gelişim dönemlerinden itibaren bulunur. BDNF reseptörü olan TrkB reseptörleri serebellum purkinje nöronlarında yüksek miktarda ekspresyon edilmektedir ve bu nöronlarda sinaptik dallanma ve sinaptik bağlantıların güçlenmesinden sorumludur (36). He ve ark. serebellumda BDNF eksikliğinin apoptozisi tetikleyerek nöron ölümüne neden olduğunu ve motor fonksiyonları etkilediğini göstermiştir (40). Başka bir çalışmada STZ uygulamasının serebellar ve striat kortekslerde BDNF ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir (41). Çalışmamızda diyabetli grubun serebellumlarında ölçülen BDNF düzeyle-

ri azalmıştır. CREB seviyelerinde ise diyabetli grupta azalma olmasına rağmen anlamlılık bulunamamıştır. BDNF'nin azalmış olması diyabette gözlenen motor fonksiyonların bozulmasıyla ilişkili görünmektedir. Kiriş yürüme testinde diyabetli grubun motor aktivitelerindeki azalmaya bağlı olarak platformu tamamlama sürelerini uzattığını ve bu etkinin BDNF azalmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Ayrıca pedinkülotomi yapılarak serebellum hasarı oluşturulan ratlarda intraserebellar BDNF uygulaması motor fonksiyonlarda ve uzamsal öğrenmede geliştirici etki göstermiştir ve bu bizim bulgularımızı destekler niteliktedir (42). BDNF knock out farelerde yapılan çalışmalar farelerin hem hayatta kalma sürelerinin azaldığını hem de koordinasyon ve denge problemleri yaşadıklarını göstermiştir (39).

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

Teşekkür

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

Yazarların Makaleye Katkı Beyanı

Diyabet oluşturma, davranışsal testleri ve biyokimyasal ölçümleri yapma: **Birgül Altuğ**, Deneysel prosedürlerin uygulanması, verilerin toplanması, makale yazımı: **İnci Turan**, Deneysel prosedürlerin uygulanması, verilerin analizi: **Hale Sayan Özaçmak**, Verilerin analizi, makale yazımı: **V. Haktan Özaçmak**.

Çıkar Çatışması

Çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek

Bu çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (BAP No: 2017-26259946-02).

Etik Kurul Onayı

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden 2017-17-07/09 numaralı onay alınarak araştırma gerçekleştirilmiştir.

Hakemlik Süreci

Kör hakemlik süreci sonrası yayınlanmaya uygun bulunmuş ve kabul edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Astrid P, Dirk MW, Ulrich A, Müller R, Landgraf MN, Guido F, Lutz H, Erwin S. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2019;127(S 01): S1-S7.
- Ute Margaretha SG, Ulrich G, Franz K, Tanja G, Sandra H, Irene H, Mellita G, Matthias K, Christoph B, Alexandra KW, Katharina L, Dagmar BT. Gestational diabetes mellitus (GDM) - diagnosis, treatment and follow-up. Guideline of the DDG and DGGG. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2018;78(12): 1219-1231.
- Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, Rocha Fernandes D, Ohlrogge AW, Malanda B. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018;138:271-281.
- Joanne BC, Jose CF. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nat Rev Nephrol*. 2020;16(7):377-390.
- Joao RF, Ogurtsova K, Linnenkamp U, Guariguata L, Seuring T, Zhang P, Cavan D, Makaroff LE. IDF diabetes atlas estimates of 2014 global health expenditures on diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016;117:48-54.
- Folli F, Corradi D, Fanti P, Davalli A, Paez A, Giaccari A, Perego C, Muscogiuri G. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus micro- and macrovascular complications: Avenues for a mechanistic-based therapeutic approach. *Curr Diabetes Rev*. 2011;7(5):313-324.
- Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*. 2010;107(9):1058-1070.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414(6865):813-820.
- Solomon ES, Kuruvilla R. Mechanisms of neurotrophin trafficking via trk receptors. *Mol Cell Neurosci*. 2018;91:25-33.
- Widmaier EP, Raff H, Strang KT. *Vander İnsan Fizyolojisi* (Çev. Ed: Özgünen T). Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2014;174-177.
- Schmahmann JD, Sherman JC. Cerebellar cognitive affective syndrome. *Int Rev Neurobiol*. 1997; 41:433-440.
- Nakagawa T, Kishino MO, Sugaru E, Yamanaka M, Taiji M, Noguchi H. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) regulates glucose and energy metabolism in diabetic mice. *Diabetes Metab Res Rev*. 2002;18(3):185-191.
- Sharma E, Behl T, Mehta V, Kumar A, Setia D, Uddin MS, Zengin G, Arora S. Exploring the various aspects of Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in diabetes mellitus. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2021;20(1):22-33.
- Nakagawa T, Tsuchida A, Itakura Y, Nonomura T, Ono M, Hirota F, Inoue T, Nakayama C, Taiji M, Noguchi H. Brain-derived neurotrophic factor regulates glucose metabolism by modulating energy balance in diabetic mice. *Diabetes*. 2000;49(3):436-444.
- Fang W, Zhang J, Hong L, Huang W, Dai X, Ye Q, Chen X. Metformin ameliorates stress-induced depression-like behaviors via enhancing the expression of BDNF by activating AMPK/CREB-mediated histone acetylation. *J Affect Disord*. 2020;260:302-313.
- Chaturvedi P, Singh AK, Tiwari V, Thacker AK. Diabetes mellitus type 2 impedes functional recovery, neuroplasticity and quality of life after stroke. *J Family Med Prim Care*. 2020;9(2):1035-1041.
- He M, Wei JX, Mao M, Zhao GY, Tang JJ, Feng S, Lu XM, Wang YT. Synaptic plasticity in PTSD and associated comorbidities: The function and mechanism for diagnostics and therapy. *Curr Pharm Des*. 2018;24(34):4051-4059.
- Bathina S, Srinivas N, Das UN. Streptozotocin produces oxidative stress, inflammation and decreases BDNF concentrations to induce apoptosis of RIN5F cells and type 2 diabetes mellitus in Wistar rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 486(2):406-413.
- Bathina S, Srinivas N, Das UN. BDNF protects pancreatic β cells (RIN5F) against cytotoxic action of alloxan, streptozotocin, doxorubicin and benzo(a)pyrene in vitro. *Metabolism*. 2016; 65(5):667-684.
- Wang L, Hu XH, Huang ZX, Nie Q, Chen ZG, Xiang JW, Qi RL, Yang TH, Xiao Y, Qing WJ, Gigantelli G, Nguyen QD, Li DW. Regulation of CREB functions by phosphorylation and sumoylation in nervous and visual systems. *Curr Mol Med*. 2017;16(10):885-892.
- Casini AF, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. *Am J Pathol* 1986;123(3):520-531.
- Aykaç G, Uysal M, Yalçın AS, Koçak-Toker N, Sivas A, Oz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*. 1985;36(1): 71-76.
- Ixchel Osorio-Paz I, Ramírez-Pérez G, Hernández-Ramírez JE, Uribe Carvajal S, Salceda R. Mitochondrial activity in different regions of the brain at the onset of streptozotocin-induced diabetes in rats. *Mol Biol Rep*. 2018; 45(5):871-879.
- Rodrigues AF, Biasibetti H, Zanutto BS, Sanches EF, Schmitz F, Nunes VT, Pierozan P, Manfredini V, Magro DDD, Netto CA, Wyse ATS. D-galactose causes motor coordination impairment, and histological and biochemical changes in the cerebellum of rats. *Mol Neurobiol*. 2017;54(6):4127-4137.
- Nagayach A, Patro N, Patro I. Experimentally induced diabetes causes glial activation, glutamate toxicity and cellular damage leading to changes in motor function. *Front Cell Neurosci*. 2014;8:355.
- Lunetta M, Damanti AR, Fabbri G, Lombardo M, Di Mauro M, Mughini L. Evidence by magnetic resonance imaging of cerebral alterations of atrophy type in young insulin-dependent diabetic patients. *J Endocrinol Invest*. 1994;17(4):241-245.
- Sherif RN. Effect of cerebrolysin on the cerebellum of diabetic rats: An immunohistochemical study. *Tissue Cell*. 2017;49(6):726-733.

28. Muriach M, Flores-Bellver M, Romero FJ, Barcia JM. Diabetes and the brain: Oxidative stress, inflammation, and autophagy. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:102158.
29. Özenoğlu S, Turan İ, Sayan Özaçmak H, Özaçmak VH. Deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda kalp ve iskelet kası NRF2 yapımı ve oksidatif stres üzerine melatoninin etkisinin incelenmesi. *Türk Diyab Obez*. 2020;1:46-53.
30. Onar B, Sayan Özaçmak H, Turan İ, Özaçmak VH. Diyabete bağlı kognitif bozukluk sıçanların hipokampuslerinde nlrp3 ve nitro tirozin seviyelerinin artışı ile ilişkilidir. *Türk Diyab Obez*. 2019;3:123-129.
31. Patel SN, Lau-Cam CA. The effect of taurine and its immediate homologs on diabetes-induced oxidative stress in the brain and spinal cord of rats. *Adv Exp Med Biol*. 2017;975:337-351.
32. Catanzaro OL, Capponi JA, Di Martino I, Labal ES, Sirois P. Oxidative stress in the optic nerve and cortical visual area of streptozotocin-induced diabetic Wistar rats: Blockade with a selective bradykinin B (1) receptor antagonist. *Neuropeptides*. 2017; 66: 97-102.
33. Zhang S, Li H, Zhang L, Li J, Wang R, Wang M. Effects of troxerutin on cognitive deficits and glutamate cysteine ligase subunits in the hippocampus of streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus rats. *Brain Res*. 2017;1657:355-360.
34. Wang M, Yan W, Liu Y, Hu H, Sun Q, Chen X, Zang W, Chen L. Erythropoietin ameliorates diabetes-associated cognitive dysfunction in vitro and in vivo. *Sci Rep*. 2017;7(1):2801.
35. Xiang Q, Zhang J, Li CY, Wang Y, Zeng MJ, Cai ZX, Tian RB, Jia W, Li XH. Insulin resistance-induced hyperglycemia decreased the activation of Akt/CREB in hippocampus neurons: Molecular evidence for mechanism of diabetes-induced cognitive dysfunction. *Neuropeptides*. 2015;54: 9-15.
36. Mellesmoen A, Sheeler C, Ferro A, Rainwater O, Cvetanovic M. Brain derived neurotrophic factor (BDNF) delays onset of pathogenesis in transgenic mouse model of spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1). *Front Cell Neurosci*. 2019;12:509.
37. Inoue T, Ninuma S, Hayashi M, Okuda A, Asaka T, Maejima H. Effects of long-term exercise and low-level inhibition of GABAergic synapses on motor control and the expression of BDNF in the motor related cortex. *Neurol Res*. 2018;40(1):18-25.
38. Zhong Y, Zhu Y, He T, Li W, Yan H, Miao Y. Rolipram-induced improvement of cognitive function correlates with changes in hippocampal CREB phosphorylation, BDNF and Arc protein levels. *Neurosci Lett*. 2016;610:171-176.
39. Klintsova AY, Dickson E, Yoshida R, Greenough WT. Altered expression of BDNF and its high-affinity receptor TrkB in response to complex motor learning and moderate exercise. *Brain Res*. 2004;1028(1):92-104.
40. He YY, Zhang XY, Yung WH, Zhu JN, Wang JJ. Role of BDNF in central motor structures and motor diseases. *Mol Neurobiol*. 2013; 48: 783-793.
41. Grünblatt E, Koutsilieri E, Hoyer S, Riederer P. Gene expression alterations in brain areas of intracerebroventricular streptozotocin treated rat. *J Alzheimers Dis*. 2006;9(3):261-271.
42. Willson ML, McElnea C, Mariani J, Lohof AM, Sherrard RM. BDNF increases homotypic olivocerebellar reinnervation and associated fine motor and cognitive skill. *Brain*. 2008;131(Pt 4):1099-112.