

**HİPERGLİSEMİNİN UYARILMA POTANSİYELLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
STREPTOZOTOSİN İLE DİABET OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA İNCELENMESİ***

**The Effects of Hyperglycemia on Evoked Potentials in
Streptozotocin-Induced Diabetic Rats**

**Esra GÜMÜŞÇÜ KARAHAN¹, Çiğdem ÖZESMİ², Cem SÜER²,
Asuman GÖLGELİ², Nazan DOLU³**

Özet : Bu çalışmada hipergliseminin Uyarılma Potansiyelleri (UP) üzerine etkisinin Streptozotosin (SZ) ile diabet oluşturulmuş sıçanlarda incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada Sprague Dawley cinsi 5-6 aylık erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar Deney A grubu (60 mg/kg SZ uygulanan), Deney B grubu (80 mg/kg SZ uygulanan) ve plasebo [SZ'ye eşit hacimde intraperitoneal (i.p) serum fizyolojik (SF) uygulanan] olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Her grupta enjeksiyondan önce (0. gün) ve enjeksiyondan sonraki 1., 10. ve 20. günlerde ağırlık, idrar glukozu, kan glukozu değerleri ölçülmüş ve UP kayıtları alınmıştır. Plasebo grubuna göre deney gruplarında kan glukoz değerlerinde gözlenen artış ve ağırlık değerlerindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). UP kaydı poligraf, veri kazanım istasyonu ve uyarı kontrol ünitesinden oluşan deney sistemi yardımıyla alınmıştır. Uyarı olarak işitsel klasik Oddball paradigması kullanılmıştır. UP'nin endojen komponenti olan P300 amplitütü değerlendirildiğinde her iki deney grubunda da plasebo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. P300 latans bulguları incelendiğinde ise A grubunda 20. günde, B grubunda ise 10. ve 20. günde plasebo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir uzama tespit edilmiştir ($p<0,05$). Elde edilen bulgular ışığında uzun süren ve kontrol altına alınmayan hipergliseminin merkezi sinir sistemini etkilediği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Hiperglisemi, uyarılma potansiyeli, streptozotosin, diabetik sıçan, P300

Summary : This study aims to examine the effect of hyperglycemia on Evoked Potentials (EP) in streptozotocin-induced diabetic rats. Sprague Dawley rats aged 5-6 months were used. These rats were divided into three groups: group A (60 mg./kg Streptozotocin, i.p.), group B (80 mg./kg Streptozotocin, i.p.) and placebo (equal volumed of physiological saline-0.9 % NaCl-to Streptozotocin, i.p.). In all groups weight, urine glucose and blood glucose were measured, also EP were recorded before the injection (day: 0) and after the enjection in the days:1, 10 and 20. Placebo and test groups's weight, blood glucose values were compared. The results were found statistically significant ($p<0,05$). The recordings were taken with a system consisting of polygraph, data acquisition station and stimuli control unit. While recording evoked potentials, auditory oddball paradigm was used. When we compared P300 (the endogenous component of EP) amplitudes, there were no significant results. When P300 latencies were compared, in the group A, P300 latencies were found statistically longer on the 20th day. In the group B P300 latencies were found statistically longer both on the 10th. and 20th. day ($p<0,05$). As a result, we think that long term and uncontrolled hyperglycemia affects central nervous system.

Key words: Hyperglycemia, evoked potentials, streptozotocin, diabetic rat, P300

¹ Bilim Uz.Erciyes Ün.Sağlık Bil.Ens.Fizyoloji. AD, Kayseri

² Prof.Dr.Erc.ÜN.Tıp Fak. Fizyoloji AD, Kayseri

³ Doç.Dr.Erc.ÜN.Tıp Fak. Fizyoloji AD, Kayseri

Beynin spontan aktivitesi ölçülen bir insan veya deney hayvanına fiziksel bir uyarı uygulandığında spontan aktivitede yaklaşık bir saniye süreyle meydana gelen değişikliklerden oluşan cevaba

* Bu çalışma TÜBİTAK tarafından SBAG-AYD 364 (101S181) nolu proje ile desteklenmiştir.

“Uyarılma Potansiyelleri (UP)” adı verilir (1). UP'nin endojen ve eksojen komponentleri bulunmaktadır. Uyarı verildikten sonra birkaç milisaniyede oluşan erken cevaplar “eksojen komponent” olarak isimlendirilir. Uyarıdan 70-100 milisaniye sonra oluşan geç cevaplar ise “Kognitif UP” veya “Olay İlişkili Endojen Potansiyeller (OİP)” olarak isimlendirilir(2). Endojen potansiyellerin en iyi bilineni P300'dür. P300'ün incelenmesi; yüksek beyin fonksiyonlarının değerlendirilme-sine ileri, objektif ve kantitatif bir yaklaşım getirir (3). P300, bilişsel işlevlere bağlı nöral olayların bir belirteci olduğundan yoğun olarak psikofizyolojik araştırmalara konu olmuştur. Çeşitli araştırmacılar, P300'ün karar vermenin bir belirtisi (4), belirsizliğin çözümü (5), görevin yerine getirilmesi (6) gibi olaylar sonucu oluştuğunu bildirmişlerdir.

Diabetes mellitus (DM) insülinin etkisi veya salınımındaki tam ya da kısmi yetersizlikle ilişkili

olarak karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklar ve hiperglisemi ile karakterize bir hastalıktır (7). Uzun süreli hiperglisemi sonucunda vücutta diabetik ketoasidoz gelişir. Diabetik ketoasidozun yanısıra hiperglisemi durumunda gelişen ozmotik diürez tüm vücutta arterial kan basıncında düşmeye neden olur. Bu durumda beyin kan akımı yavaşlar ve beyin oksijenlenmesi düşer. Ketoasidoz ve hipoksi ise beyin fonksiyon bozukluğuna neden olur (8).

Çalışmamızda, diabet modeli oluşturulmuş sıçanlarda, P300 latansı ve amplitüdü birlikte değerlendirilerek hipergliseminin merkezi sinir sistemine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Tablo I. Deney grupları

A Grubu (n=15)	60 mg/kg Streptozotosin, i.p tek doz
B Grubu (n=15)	80 mg/kg Streptozotosin, i.p tek doz
Plasebo (n=10)	Streptozotosine eşit hacimde serum fizyolojik

Araştırma toplam 40 adet sıçan üzerinde gerçekleştirilmiş olup, Tablo I'de gösterildiği gibi gruplandırılmıştır.

Bu sıçanların her birinin enjeksiyondan önce (0. gün), enjeksiyondan sonra 1., 10. ve 20. günlerde ağırlıkları, kan glukoz seviyeleri ölçülmüş ve UP kayıtları alınmıştır. UP'nin endojen komponenti olan P300 kaydı ve analizi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Beyin Dinamiği Ünitesi'nde gerçekleştirilmiştir. Tüm kayıtlama işlemi bittikten sonra analiz işlemine geçilmiştir. Bu işlem veri kazanım istasyonunun analiz programında yapılmıştır. 0,3-70 Hz arasında filtre-

lenen 40 hedef uyarana verilen UP yanıtları içinden (100 µV üzeri olanlar artefakt olarak kabul edilmiştir) artefaktsız olanların ortalaması alınmıştır. Uyarıdan sonraki 250- 450 milisaniye arasındaki belirgin pozitif dalga P300 dalgası olarak kabul edilmiştir. Bilgisayar ortamında elde edilen P300 dalgalarının latansı (milisaniye-ms-cinsinden) ve genlik (mikrovolt -µV- cinsinden) ortalamaları kursor yardımıyla tespit edilerek kaydedilmiştir. Daha sonra gruplar içindeki tek tek ortalamalar üst üste getirilerek büyük ortalama (grand average) elde edilmiştir. İstatistiksel değerlendirme nonparametrik testler kullanılarak yapılmıştır. Gruplar birbirleriyle karşılaştırılırken Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testleri; gruplar ken-

di içlerinde karşılaştırılırken Friedmann ve Wilcoxon testleri kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi 0,05 olarak seçilmiştir.

BULGULAR

Deney gruplarında plasebo grubuna göre idrar ve kan glukoz düzeylerinin sıfırcı günde normal, 1., 10. ve 20. gün ölçümlerinde yüksek bulunması ve ağırlıkların deney gruplarında azalması diabetin oluştuğunu göstermektedir. Deney grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında ağırlık azalmasında ve kan glukozu artışında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo II ve Tablo III).

Günlere göre incelendiğinde A grubunda 20. günde, B grubunda ise 10. ve 20. günde P300 latansında istatistiksel olarak anlamlı bir uzama tespit edilmiştir. Diğer günlerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Deney A grubu P300 latansı plasebo grubu ile karşılaştırıldığında 20. günde istatistiksel olarak anlamlı uzama saptanmış, deney B grubu P300 latansı plasebo grubu ile karşılaştırıldığında ise 10. ve 20. günlerde istatistiksel açıdan önemli uzama tespit edilmiştir. Deney grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında sadece 10. günde anlamlı bir fark elde edilmiştir (Tablo IV).

Tablo II. Plasebo ve deney gruplarında ağırlığın (-g- olarak) günlere göre değerleri (n=9)

Gün	Plasebo (X ± SD)	A Grubu (X ± SD)	B Grubu (X ± SD)
0	314,33 ± 66,87	302,00 ± 32,27	327,44 ± 20,01
1	308,56 ± 67,53 *	286,56 ± 30,57 *	308,56 ± 20,73 *
10	316,67 ± 65,57 ▲	235,33 ± 31,93 * ▲ ♣	255,00 ± 21,77 * ▲ ♣
20	327,00 ± 66,93 * ▲ ♦	209,89 ± 37,53 * ▲ ♣	222,56 ± 20,34 * ▲ ♦ ♣

* : 0. güne göre p<0,05

♣ : Plaseboya göre p<0,05

▲ : 1. güne göre p<0,05

♦ : 10. güne göre p<0,05

Tablo III. Plasebo ve deney gruplarında kan glukozunun (-mg/dl- olarak) günlere göre değerleri (n=9)

Gün	Plasebo (X ± SD)	A Grubu (X ± SD)	B Grubu (X ± SD)
0	150,00 ± 34,38	134,56 ± 17,06	127,22 ± 11,20
1	144,22 ± 26,16	323,11 ± 76,61 * ♣	308,44 ± 40,03 * ♣
10	134,78 ± 13,54	430,78 ± 87,88 * ▲ ♣	386,00 ± 38,80 * ▲ ♣
20	132,33 ± 27,54	376,33 ± 58,42 * ♣	474,89 ± 70,06 * ▲ ♦ ♣

* : 0. güne göre p<0,05

♣ : Plaseboya göre p<0,05

▲ : 1. güne göre p<0,05

♦ : 10. güne göre p<0,05

Tablo IV. Plasebo ve deney gruplarında P300 latansının (-ms-olarak) günlere göre değerleri (n=9)

Gün	Plasebo (X ± SD)	A Grubu (X ± SD)	B Grubu (X ± SD)
0	332,51 ± 36,83	358,68 ± 41,59	358,43 ± 24,52
1	339,91 ± 25,60	347,32 ± 34,12	345,47 ± 52,59
10	342,87 ± 43,90	327,56 ± 28,59	400,65 ± 31,93 * ▲ ♣
20	331,02 ± 32,99	371,76 ± 38,75 * ♣	391,76 ± 23,36 * ♣

* : 0. güne göre p<0,05

♣: Plaseboya göre p<0,05

▲: 1. güne göre p<0,05

◆ : 10. güne göre p<0,05

Tablo V. Plasebo ve deney gruplarında P300 amplitüdünün (-µV-olarak) günlere göre değerleri (n=9)

Gün	Plasebo (X ± SD)	A Grubu (X ± SD)	B Grubu (X ± SD)
0	17,1917 ± 3,29	17,8090 ± 2,67	20,3537 ± 2,60
1	18,0404 ± 4,53	18,4143 ± 3,75	21,5137 ± 1,52
10	16,9547 ± 3,63	19,2671 ± 2,39	20,2920 ± 1,89
20	17,8475 ± 3,19	18,6780 ± 2,55	20,9367 ± 2,76

Plasebo ve deney gruplarının P300 amplitüt ortalama değerleri Tablo V'de sunulmuştur. Plasebo grubuna göre deney gruplarından elde edilen amplitüt değerlerinde, her ne kadar yükselme görülse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

TARTIŞMA

Deney grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında deney boyunca gözlenen ağırlık azalmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaması ağırlık azalmasının SZ'nin dozu ile ilişkili olmadığını göstermiştir.

Kan glukozu değerleri, plasebo ile karşılaştırıldığında SZ uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükselmiştir. Deney grupları kan glukozu değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu veriler ışığında SZ uygulamasının hiperglisemi oluşturduğu ancak kan glukozu yük-

selmesinin doza bağımlı olmadığı görülmüştür.

Çalışmamızda işitsel uyarın uygulanarak elde edilen P300 latans ve amplitüt değerleri incelendiğinde P300 latanslarında anlamlı değişiklikler saptanırken, P300 amplitütlerinde istikrarlı değerler ve anlamlı değişiklikler bulunmamıştır.

Deney hayvanlarında yapılan bir çalışmada, iki ay sonunda diabetli grubun UP amplitüdü değerleri kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmektedir (9). Tip I ve tip II diabetlilerde P300 amplitütleri sağlıklı gönüllülerle kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli farklılıkların görülmediği belirtilmektedir (3,10). Bizim çalışmamızda da deney grupları plasebo ile karşılaştırıldığında amplitüt değerleri arasında anlamlı değişiklikler gözlenmemiştir. P300 amplitüdünde anlamlı sonuçlar elde edilmemesi, amplitüdün bireyler arasında oldukça değişkenlik göstermesine bağlanmıştır. Bu durumun amplitüdün klinik değerlendirmede kullanımını

kısıtladığı belirtilmiştir (11).

Çalışmamızda deney gruplarında SZ enjeksiyonu sonrası birinci günde kan glukozu yükselmiş olmasına rağmen P300 latansında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Bu durum akut hipergliseminin P300 latansını etkilemediğini düşündürmektedir. Sağlıklı gönüllülere intravenöz glukoz verilerek oluşturulan akut hiperglisemide (12) ve henüz diabetik ketoasidoz gelişmemiş diabet hastalarında (13) P100 latansında istatistiksel olarak anlamlı bir uzama gözlenmediğinden söz edilmektedir. Bizim çalışmamızda P300 değişikliklerinin belli bir zaman sonra ortaya çıkması da bu çalışmadaki bulgularla paralellik göstermektedir. UP latanslarındaki uzamanın, diabetik ketoasidoz gözlenen grupta saptanması, bu olayların diabetik ketoasidoz sonucu oluşan değişikliklerden ileri gelebileceği fikrini uyandırmıştır.

Diabet modeli oluşturulmuş hayvanlarda UP latansları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, deney gruplarında UP latanslarının istatistiksel açıdan önemli şekilde uzadığı bildirilmektedir (9,14,15). Bu araştırmalarda gözlenen latans uzamaları araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçları destekleyici niteliktedir.

Tip II diabetli hastalarda P300 latansları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde uzun bulunduğu rapor edilmektedir (12, 16-21). P300'e ek olarak P100 (12), N200 (16) ve beyinsapı işitsel UP (17) parametrelerinin de incelendiği çalışmalarda da UP latanslarında istatistiksel olarak anlamlı uzamalar tespit edildiği belirtilmektedir.

Araştırmamızda kan glukoz seviyesi ile UP latansı değişimlerinin korelasyon göstermemesi, diabette sinir sistemi etkilenmesinin sadece hiperglisemi ile ilgili olmayıp hastalığın diğer parametrelerinin de latans değişimi üzerinde etkili olduğunu ve hipergliseminin P300 latansını direkt olarak etkilemediğini düşündürmüştür. Araştırmamızda; ağırlık kaybı ve kan glukozu yükselmesinin SZ dozuna bağlı olmadığı, amplitüdün bireysel farklılıklar göstermesi nedeniyle P300 amplitüd değerlerinde ista-

tistiksel önemlilik bulunmadığı, diabette gözlenen P300 latansı uzamasının diabet oluşuktan hemen sonra değil de, uzun süren ve kontrol altına alınmayan hiperglisemi sonucu vücutta gelişen bozukluklardan ileri geldiği ve sonuçta mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, diabetin merkezi sinir sistemini etkileyen bir olgu olduğu tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Özemi Ç. Sinir sisteminin elektrofizyolojisi ve kayıt yöntemleri. Tübitak Beyin Dinamiği Multidisipliner Lisansüstü Yaz Okulu Ders Notları, Dicle Üniversitesi Diyarbakır 19-30 Temmuz 1999, ss 1-15
2. Gooding DS. Event related (endogenous) potentials. In: Aminoff MJ (ed), *Electrodiagnosis in Clinical Neurology* (3rd ed). Churchill Livingstone, New York, 1992, pp 627-648
3. Tandon OP, Verma A, Ram BK. Cognitive dysfunction in NIDDM: P3 event related evoked potential study. *Indian J Physiol Pharmacol* 1999, 43: 383-8
4. Smith DBD, Donchin E, Cohen L, et al. Auditory averaged potentials in man during selective binaural listening. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1970, 28: 16-152
5. Sutton S, Braren M, Zubin J, et al. Evoked potentials correlates of stimulus uncertainty. *Science* 1965, 150: 1187-8
6. Sutton S, Tueting P, Zubin J, et al. Information delivery and sensory evoked potential. *Science* 1967, 155: 1436-9
7. Koloğlu S. Diabetes Mellitus. In: Koloğlu S (ed), *Endokrinoloji Temel ve Klinik. Medical Network Nobel, Ankara, 1996, 367-394*
8. Vander JA, Sherman HJ, Luciano SD. İnsan Fizyolojisi Vücut Fonksiyon Mekanizmaları. Kaymak K (çev ed). Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı, 1994, 618-621
9. Yargıçoğlu P, Agar A, Edremilioğlu M, et al. The effect of cadmium on visual evoked

- potentials in alloxane-induced diabetic rats: relation to lipid peroxidation. *Acta Diabetol* 1999, 36: 197-204
10. Uberall MA, Renner C, Edl S, et al. VEP and ERP abnormalities in children and adolescents with prepubertal onset of insulin-dependent diabetes mellitus. *Neuropediatrics* 1996, 27: 88-93
 11. Aminoff MJ. *Electroencephalography: General principles and clinical applications*. In: Aminoff MJ (ed), *Electrodiagnosis in Clinical Neurology* (3rd ed). Churchill Livingstone, New York 1992, pp 41-91
 12. Mooradian AD, Perryman K, Fitten J, et al. Cortical function in elderly non-insulin dependent diabetic patients. *Behavioral and electrophysiologic studies*. *Arch Intern Med* 1988, 148: 2369-72
 13. Seidl R, Birnbacher R, Hauser E, et al. Brainstem auditory evoked potentials and visually evoked potentials in young patients with IDDM. *Diabetes Care* 1996, 19: 1220-4
 14. Biessels G, Cristino N, Rutten G, et al. *Neurophysiological changes in the central and peripheral nervous system of streptozotocin-diabetic rats*. *Brain* 1999, 122: 757-768
 15. Agar A, Kucukatay V, Yargicoglu P, et al. The effect of sulfur dioxide inhalation on visual evoked potentials, antioxidant status, and lipid peroxidation in alloxan-induced diabetic rats. *Arch Environ Contam Toxicol* 2000, 39:257-64
 16. Mochizuki Y, Oishi M, Hayakawa Y, et al. Improvement of P300 latency by treatment in non insulin dependent diabetes mellitus. *Clin Electroencephalogr* 1998, 29: 194-6
 17. Kurita A, Mochio S, Isogai Y. Changes in auditory P300 event-related potentials and brainstem evoked potentials in diabetes mellitus. *Acta Neurol Scand* 1995, 92: 319-23.
 18. Kurita, Katayama K, Mochio S. Neurophysiological evidence for altered higher brain functions in NIDDM. *Diabetes Care* 1996, 19: 360-364.
 19. Hissa MN, D'Almedia JA, Cremasco F., et al. Event related potential in NIDDM patients without cognitive impairment and its relationship with previous hypoglycemic episodes. *Neuroendocrinol Lett* 2002, 23: 226-30
 20. Takeda M, Tachibana H, Sugita M, et al. Event related potential in patients with diabetes mellitus. *Rinsho Byori* 1992, 40:896-900
 21. Chen X, Chen W, Chen SR, et al. Event-related potentials P300 in type 2 diabetes mellitus. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2003, 23:257-9

