

Deneysel Araştırma

Streptozotosin ile Oluşturulmuş Diyabetik Sıçanların Beyin Dokusunda İrisin Üzerine Enalaprilin Etkileri

Ferhat BALGETİR^{1,a}, Nevin KOCAMAN²

¹Patnos Devlet Hastanesi, Nöroloji Kliniği, Ağrı, Türkiye

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

ÖZET

Amaç: Diabetes Mellitus'un (DM) uzun dönem etkileri sonucu; çeşitli hasarlar, disfonksiyonlar, organ yetmezlikleri, özellikle göz, böbrek, kalp ve damar hasarları oluşabilir. İrisin, nörodejenerasyonda oldukça etkili bir protein olan eşleşme bozucu proteinler (UCP)'in gen ekspresyonunu ve mitokondriyal yoğunluğunu artırmaktadır. Bu çalışmada streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan sıçan beyin dokusunda irisin immünreaktivitesi üzerine enalaprilin (EN) etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 18 adet Wistar albino cinsi erişkin erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 6 sıçan olmak üzere 3 eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubuna deney süresi olan 6 hafta süresince herhangi bir işlem yapılmadı. DM grubuna 50 mg/kg tek doz STZ i.p olarak verildi. DM+EN grubuna ise 50 mg/kg tek doz STZ i.p olarak verilip enalapril 5 mg/kg/gün dozunda oral olarak uygulandı. Deney sonunda anestezi altında dekapite edilen sıçanların beyin dokuları hızla çıkartıldı. Beyin dokuları histolojik takip sonrası parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklarından alınan kesitlere irisin immünreaktivitesi için avidin-biotin-peroksidaz metodu uygulandı. İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde; immünreaktivitenin yaygınlığı ve şiddeti esas alınarak histoskor oluşturuldu.

Bulgular: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında irisin immünreaktivitesi DM grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştı. DM grubu ile karşılaştırıldığında ise irisin immünreaktivitesi DM+ EN grubunda anlamlı olarak artmıştı.

Sonuç: Diyabetik beyin hasarına karşı efektif olduğu bilinen EN' in birçok mekanizma ile birlikte irisin üzerinden de etki edebileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Diabetes Mellitus, İrisin, Enalapril, Sıçan

ABSTRACT

Effects of Enalapril on Irisin Immunoreactivity in the Brain Tissue of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Objective: Various defects, dysfunctions and organ failures may occur due to long term effects of diabetes mellitus (DM) especially in eye, kidney, heart and vascular system. Irisin increases expression and mitochondrial density of uncoupling proteins (UCPs) which are very important in the neurodegenerative process. In this study we aimed to investigate the effects of enalapril (EN) on irisin immunoreactivity in the brain tissue of streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats.

Material and method: In this study, 18 adult Wistar albino male rats were used. The study group was divided into 3 equal groups each containing 6 rats. The control group wasn't exposed to any kind of drugs during the 6 weeks of study period. 50 mg/kg single dose STZ was injected to DM group intraperitoneally. DM+EN group rats were given single 50 mg/kg intraperitoneal injection of STZ, oral 5 mg/kg/day enalapril for 6 weeks. Brain tissues of the rats were removed just after the decapitation under the anesthesia. Tissues were embedded into paraffin blocks after the routine histological preparations. Avidin-biotin-peroxidase technique was used in determination of irisin expression. Histoscore was created based on the diffusiveness and severity of immunoreactivity in assessment of immunohistochemical staining.

Results: There was a significant decrease of irisin immunoreactivity in the DM group. Irisin immunoreactivity was found as significantly increased in DM+EN group compared to DM group.

Conclusion: We can conclude that EN shows its effects due to its relationship with irisin along with other various mechanisms.

Keywords: Diabetes Mellitus, Irisin, Enalapril, Rat

Diabetes Mellitus (DM) insülin sekresyonunda, insülin fonksiyonlarında veya her ikisindeki bozukluklar sonucu karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarındaki bozukluğa bağlı gelişen kronik hiperglisemi ile karakterizedir. DM' un uzun dönem etkileri sonucu; çeşitli hasarlar, disfonksiyonlar, organ yetmezlikleri, özellikle göz, böbrek, kalp ve damar hasarları oluşabilir. Hatta tedavi edilmediğinde; stupor, koma ve ölüm ile

sonuçlanabilen ketoasidoz ve nonketotik hiperozmolarite ile de teşhis edilebilir (1).

Diyabet serebral atrofi ve fokal beyaz cevher lezyonları için bir risk faktörü olup deneysel çalışmalar diyabetik hayvanlarda hipokampus, arkuat ve ventromediyal nükleus, neokorteks ve prefrontal kortekste nöronların yoğunluğunda anlamlı bir azalmanın olduğunu ve buna bağlı olarak beyin ağırlığında azalma olduğunu

^aYazışma Adresi: Dr. Ferhat BALGETİR, Patnos Devlet Hastanesi, Nöroloji Kliniği, Ağrı, Türkiye

Tel: 0533 4800994

Geliş Tarihi/Received: 11.05.2016

e-mail: ferhatbalgetir@hotmail.com

Kabul Tarihi/Accepted: 26.05.2016

göstermiştir (2). Oksidatif strese sebep olan serbest radikal gruplarından biri Reaktif oksijen türleri (ROS)'dir. Bunun ana kaynakları glukoz otooksidasyonunun ve metabolitlerinin dahil olduğu biyokimyasal reaksiyonlardır. ROS, diyabetlilerde önemli oranda artış gösterir ve hem diyabetin hem de diyabetik komplikasyonların oluşum mekanizmalarında rol oynar (3, 4) Günümüzde diyabetin kontrolünü sağlamak ve komplikasyonlarını azaltmada artık alternatif tedavilere ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir. Bir anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü olan enalapril, anjiyotensin II sentez yolunu bloke edip bradikinin düzeylerini arttırırken nitrik oksit sentaz (NOS) yolunu da stimüle etmektedir. Yapılan çalışmalar enalaprilin nitrik oksit sentaz enzimindeki değişimden bağımsız olarak da diyabetik sıçanlarda serebrovasküler disfonksiyonu önlediğini göstermiştir (5). Antioksidan özellikleri de olan enalaprilin diyabetik hastalarda kullanımı oldukça önem kazanmıştır.

Yeni keşfedilmesi ile birlikte araştırmacıların ilgisini çeken ve gelecekte obezite, diyabet başta olmak üzere birçok metabolik hastalığın tedavisinde umut ışığı olarak görülen bir hormon olan irisin, nörodejenerasyonda oldukça etkili bir peptittir (6). Bu çalışmada, antioksidan özelliği olan enalaprilin, streptozotosin ile oluşturulan deneysel diyabetik beyin dokusunda irisin hormonu ile ilgisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) birimi ile Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalı laboratuvarında yapıldı. Çalışmamızda FÜDAM'dan temin edilen Wistar albino cinsi 8-10 haftalık 18 adet erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları 3 eşit gruba ayrıldı.

Kontrol grubu (n=6): Bu gruptaki sıçanlara herhangi bir işlem yapılmadı.

DM grubu (n=6): Bu gruptaki sıçanlara 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M fosfat-sitrat taponunda çözülürerek i.p olarak uygulandı. Açlık kan glukoz düzeyi 250 mg/dl üzeri olan sıçanlar diyabetik kabul edildi.

DM + EN grubu (n=6): Bu gruptaki sıçanlara 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M fosfat-sitrat taponunda çözülürerek i.p olarak verilmesinden sonra oluşan diyabeti takiben enalapril 5 mg/kg/gün oral olarak uygulandı. Kan glukoz düzeyleri çalışma süresince glukometre ile ölçüldü.

Altı haftalık deney sonunda tüm gruptaki deney hayvanları ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) anestezisi altında dekapite edildikten sonra beyin dokuları çıkartılıp %10'luk formaldehitte tespit edilip rutin histolojik doku takibi sonrasında parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4-6 µm kalınlığında kesilen kesitler polilizinli lamalara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında

(750W) 10 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğuması için bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksid blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block, TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanan dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilüe edilen Irisin primary antibody (Rabbit Irisin primary antibody, H-067-17, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., California, USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasını takiben PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse/rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, Sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Negatif kontrol için Rabbit IgG kullanıldı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295). Pozitif kontrol olarak sıçan kalp dokusu kullanıldı.

Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <25, 0.4:%26-50, 0.6:%51-75, 0.9:%76-100) ve şiddeti (0: yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu. Histoskor= yaygınlık x şiddet

Elde edilen veriler ortalama ± standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirmede One-way ANOVA, grup içi değerlendirmede ise paired t testi kullanıldı. P<0.05 değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

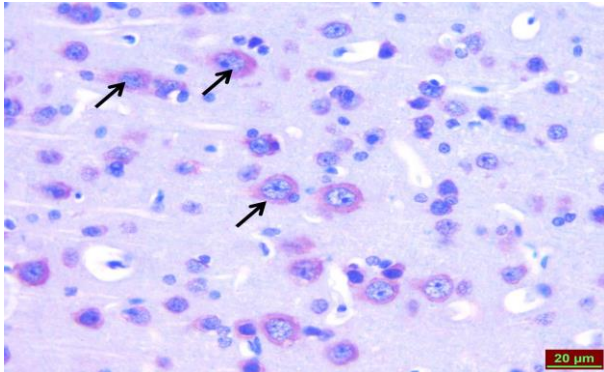
Kan glukoz değerleri için yapılan istatistiksel analiz sonucunda; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM ile DM+EN gruplarına ait sıçanların kan glukoz değerlerinde deneyin sonunda başlangıca göre anlamlı bir artış vardı (P<0.05). DM grubu ile DM+EN grubu arasında değişiklik görülmedi (P>0.05) (Tablo 1).

Tablo 1. Deney hayvanlarının başlangıç ve final kan glukoz değerleri

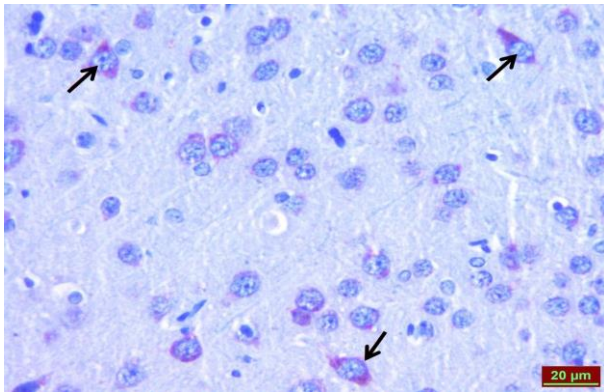
	Başlangıç kan glukozu (mg/dl)	Final kan glukozu (mg/dl)
Kontrol	112.50±12.95	109.00±13.56
DM	106.25±23.51	425.20±54.66 ^a
DM+EN	99.75±18.20	405.60±68.61 ^a

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, $P<0.05$.

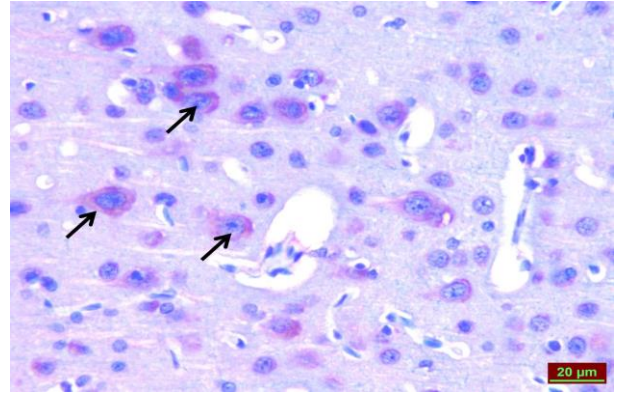
İrisin immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskop altında incelenmesi sonucu; İrisin immünreaktivitesi kontrol grubu (Şekil 1) ile karşılaştırıldığında DM grubunda (Şekil 2) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştı $P<0.05$. DM grubu ile karşılaştırıldığında ise İrisin immünreaktivitesi DM+EN grubunda (Şekil 3) anlamlı olarak artmıştı ve kontrole benzer izlendi $P<0.05$. Pozitif kontrol olarak kullanılan sıçan kalp dokusunda irisin immünreaktivitesi (Şekil 4) belirgin şekilde izlendi. Tüm gruplara ait İrisin immünreaktivitesine ait histoskor Tablo 2’de özetlenmiştir.



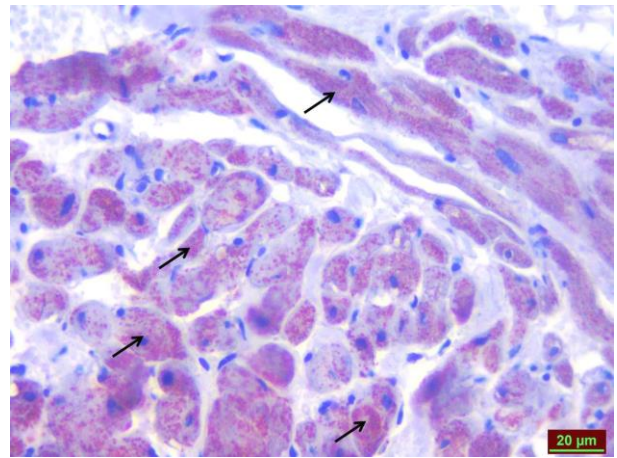
Şekil 1. Kontrol grubuna ait beyin dokusunda irisin immünreaktivitesi (→).



Şekil 2. DM grubuna ait beyin dokusunda irisin immünreaktivitesi (→).



Şekil 3. DM + EN grubuna ait beyin dokusunda irisin immünreaktivitesi (→).



Şekil 4. İrisin pozitif kontrol.

Tablo 2. Histoskor

	İrisin İmmünreaktivitesi
Kontrol	0.35±0.10
DM	0.15±0.05 ^a
DM+EN	0.38±0.11 ^b

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,
^b DM grubuna göre karşılaştırıldığında, $P<0.05$.

TARTIŞMA

Diabetes Mellitus (DM) karbonhidrat, yağ, protein metabolizması bozukluklarıyla ortaya çıkan kronik metabolik bir hastalık olmakla beraber aynı zamanda non-enzimatik glikozilasyon, sorbitol yol aktivitesi, heksozamin yolu aktivitesi, oksidatif glikozilasyon, protein kinaz C aktivitesi ve enerji metabolizmasındaki değişiklikler ile artmış bir oksidatif stres durumudur (7). Erken glikozillenme ürünleri; bazal membran, endotel hücreleri ve glomeruluslarda TNF- α ve IL-1 gibi sitokinler aracılığıyla tip IV kollojen sentezini arttırarak, endotel

hücrelerinde NO (Nitrik Oksit) inaktivasyonuna ve serbest oksijen radikallerinde artışa neden olarak arteroskleroz, doku ve organ patogenezinde önemli rol oynarlar (8).

Diyabetin eşlik ettiği metabolik bozukluklar pek çok organ yanında santral sinir sisteminin işlevlerinde aksaklıklara ve fizyopatolojik değişikliklere sebep olmaktadır (9). Deneysel diyabet oluşturulan hayvanların, beyin ve medulla spinalislerinde nöronal atrofi, glikojen birikimi, ensefalomalazi, aksonal dejenerasyon, demiyelinizasyon ve glial hücrelerde hasar oluşumu gibi organik değişiklikler rapor edilmiş olup Tip 1 diyabette meydana gelen nöron yoğunluğundaki azalmanın diyabetin süresi ile paralel olarak arttığı ve bunun apoptozis kaynaklı olduğu bildirilmiştir (2). Diyabete bağlı artan kan glikozunu azaltmak amacıyla poliol yolu aktif hale gelerek hücre içinde sorbitol ve fruktoz miktarında artışa sebep olmaktadır. Bu durum hücrelerde hidropik dejenerasyona, Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) kullanımında artışa dolayısıyla miyoinositol azalmasına neden olmaktadır. NADPH'ı enerji kaynağı olarak kullanan ve antioksidan savunma mekanizmasının önemli bir parçası olan glutasyon, redükte hale gelemeyen ise oksidatif stres tablosu kaçınılmaz hale gelir (8-10). DM kronik bir hastalık olduğundan insanlardaki bilimsel çalışmalar çok zaman almaktadır. Bu sebeple deneysel diyabetik hayvan modelleri oldukça önem kazanmıştır. Streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturulan sıçan beyin korteksinde glutamatın N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin sayılarında azalma olduğu, beyin ve medulla spinaliste nöronal atrofi, subkortikal alanda ve beyin sapında lezyonlar, aksonal dejenerasyon, glikojen birikimi, ensefalomalazi, demiyelinizasyon, glial hücrelerde hasar oluşumu gibi değişiklikler olduğu bildirilmiştir (11, 12).

Oksidatif stresin diyabetin kronik komplikasyonlarının gelişmesinde oldukça önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Bu bilgidan yola çıkarak eksojen olarak verilen antioksidanların bu komplikasyonların hafifletilmesinde ve/veya ortaya çıkmasının engellenmesinde yararlı olabileceği fikri ileri sürülmüş olup diyabet tedavisinde antidiyabetiklere ek olarak antioksidan maddelerin veya antioksidan özellikleri olan ajanların kullanılmasının oksidatif stresle başa çıkabilmek için gerekli olabileceği yönünde kanaat oluşmuştur (13).

Sülfidril içeren ACE inhibitörleri başta olmak üzere ACE inhibitörlerinin güçlü serbest radikal süpürücüler oldukları ve kalbi koruyucu etkileri dışında antioksidan etkilere de sahip oldukları gösterilmiştir (14). ACE inhibitörü olan enalapril, sıçanlarda yapılan bir çalışmada doksorubusin öncesi uygulanıp kontrol gruplarına kıyas edildiğinde; dokulardaki thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) konsantrasyonunun azaldığı ancak glutasyon seviyelerinin ise anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir (15).

Renin-anjiyotensin sisteminin genetik ya da farmakolojik olarak bloke edilmesi lipogenezisi azaltmış olup sıçan deneylerinde ACE inhibisyonu, ACE gen delesyonu ve uzun süreli anjiyotensin-1 reseptör blokajı ile

yağ dokusunda azalma sonucu kilo kaybının olduğu tespit edilmiştir (16). Yaşlı sıçanlarda enalaprilin fiziksel performansı düzelttiği ve hem genç hem de yaşlı sıçanlarda vücut ağırlığında ve vücut yağ oranında azalma yaptığı saptanmıştır (17). Yine enalapril tedavisi ile yağ dokuda lipolitik gen denilen peroksizom proliferasyonunu aktive edici reseptör gamma (PPAR γ)'nın ekspresyonunda ve hormon sensitif lipazın mRNA'sın da artışa neden olduğu gözlenmiştir ki PPAR γ 'nın salınımı ile enerji tüketiminde artma, glukoz, insulin ve trigliserit seviyelerinde azalma ve bunun sonucunda da kilo artışının azalması görülmüştür (18). Dahası PPAR γ tarafından situmule edildiği bilinen katalaz, bakır-çinko süperoksit dismutaz, manganez süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimler ve adiponektin hormon ekspresyonları enalapril ile tedavi edilmiş sıçanlarda artış göstermiştir (19).

Enalapril tüm bu etkilerine ilave olarak beyaz yağ dokusunda adiponektin düzeylerinde bir artışa sebep olmakta olup irisin, bu hormonlar içinde oldukça önemli bir yer teşkil etmektedir. Egzersiz sonucu kas hücrelerinde FNDC5 gen aktivasyonu sonucu oluşan FNDC5 (fibronectin type III domain containing 5) proteini olan irisin, çeşitli dokulardan salgılanarak beyaz yağ dokusunun kahverengi yağ dokusuna dönüşmesini sağlayarak enerji metabolizmasında rol oynar (20-21). FNDC5, iskelet kası ile adipoz doku arasındaki sinyal iletiminin yanında, merkezi sinir sisteminde de bir takım rollere sahiptir. Nöronal hücre kültürüne kısa süreli uygulanan eşleşme bozucu ajanların (UCP) mitokondriyal membran potansiyelini düşürerek kalsiyum girişini engellediği ve hücre ölümünü önlediği gösterilmiştir (22). Nöronal UCP'ler ROS üretimini azaltarak, buna bağlı oluşan oksidatif stres ile nörodejeneratif hasarın önlenmesinde önemli yapılarıdır (23). UCP4'ün aşırı ekspresyonu nöron kültüründe bazal mitokondriyal ROS üretimini azaltıp hücrel kalsiyum dengesinin korunmasını sağlar. Bu olaylar sonucu nörotoksisteye neden olacak herhangi bir patolojiye maruz kalındığında ROS üretimi sınırlanır ve apoptoza karşı hücreler korunmuş olur (24). Nöronal ağ içerisinde yer alan mitokondriyal başta sinirsel ileti için gerekli olan enerjiyi üretmenin yanı sıra nöronal yaşamın devamı için gerekli olan kalsiyum dengesini de sağlayan bir yapıdır. Nöronal UCP'lerin mitokondriyal membran potansiyelini düzenleyici etkisi, nöronal kalsiyum homeostazının korunmasına da temel oluşturmaktadır (25). Egzersiz tarafından uyarılan ve enerji harcanmasına neden olan PPAR γ , mitokondriyal biyogenez ile oksidatif metabolizmayı kontrol eden PPAR γ koaktivatör 1 alfa (PGC1- α) FNDC5 gen ekspresyonunun artışına aracılık etmektedir (26).

Başta kahverengi yağ dokusunda olmak üzere çok sayıda hücre grubunda mitokondriyal biyogenez ve oksidatif metabolizmayı düzenleyen uncoupling protein 1 (UCP1), PPAR gama co-aktivatörü olan PGC1 alfa uyarısı ile salınmaktadır. Kas dokusu ile yağ dokusu arasında iletişim PGC1 uyarısı ile kana salınan FNDC5 (irisin) sayesinde olmakta ve özellikle yağ dokudaki UCP1 düzeylerinin artması ile mitokondriyal biyogenez

ve oksidatif metabolizma düzenlenmektedir (27). İrisinin yok edilmesinin belirgin bir şekilde nöronların ve astrositlerin olgunlaşmasını etkilediği, dolayısıyla sinir sisteminin oluşum ve gelişim süreçlerinde önemli bir rolünün olduğu araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (28). Yine yapılan bir çalışmada hipokampal nöro-genezin irisin tarafından doz bağımlı olarak düzenlendiği belirtilmiştir (29).

Bu çalışmada diyabet, enalapril, irisin ilişkisi irdelenmiş olup, deney sonucu elde edilen beyin dokularının immünohistokimyasal olarak incelenmesi sonucu kontrol grup dokular ile karşılaştırıldığında diyabetik grup beyin dokularındaki irisin immünreaktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı gösterilmiştir. Bu bulgu zaten literatür bilgileriyle de uyumluydu. Enalaprilin dokularda bir adiponektin olan irisini artır-

mak yönünde etki ettiği bilinmektedir. Bu çalışma enalapril ilave edilen diyabetik sıçan beyin dokularındaki irisin immünreaktivitesinin kontrol gruplarındakine benzer şekilde arttığını gösterdi. Bu durum, serbest radikaller üzerine etkili olan enalaprilin diyabetik beyin dokusunda, oksidatif stres üzerine olan etkisini irisini artırma şeklinde gösterdiği kanaatini oluşturmuştur.

Sonuç olarak; diyabetik beyin hasarına karşı etkili olduğu bilinen enalaprilin farklı mekanizmalar ile irisin üzerinden de etki ettiği fikrini oluşturmuştur. Ancak irisinin merkezi sinir sistem üzerine etkilerini belirten çalışma sayısı oldukça azdır ve yapılacak çalışmalar irisinin merkezi sinir sisteminde ne gibi roller üstlendiğini veya hangi fizyolojik ve moleküler süreçlere aracılık ettiğini belirlemede etkili olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Kahn C, Weir G, King G, Jacobson A, Moses A, Smith R. Joslin's Diabetes Mellitus 2008; 14th ed. Çeviri editörü: Prof. Dr. Volkan Yumuk
2. Martínez-Tellez R, Gomez-Villalobos J, Flores G. Alteration in dendritic morphology of cortical neurons in rats with diabetes mellitus induced by streptozotocin. *Brain Res* 2005; 1048: 108-15.
3. Baynes JW. Role of oxidative stress in the development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405-12.
4. Baydas G, Reiter RJ, Nedzvetskii VS, *et al.* Melatonin protects the central nervous system of rats against toluene-containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis. *Toxicol Lett* 2003; 137: 169-74.
5. Kuzmicki M, Telejko B, Lipinska D, *et al.* Serum irisin concentration in women with gestational diabetes. *Gynecol Endocrinol* 2014; 30: 636-9.
6. Moreno JM, Ortega F, Serrano M, *et al.* Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: 769-78.
7. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev* 2004; 25: 612-28.
8. Heidland A, Sebekova K, Schinzel R. Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 100-6.
9. Yenigün M. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001: 237-43.
10. Kato N, Mizuno K, Makino M, *et al.* Effects of 15-month aldose reductase inhibition with fidarestat on the experimental diabetic neuropathy in rats. *Diabetes Res Clin Pract* 2000; 50: 77-85.
11. Bean L, Zheng H, Patel KP, Monaghan DT. Regional variations in NMDA receptor down regulation in streptozotocin-diabetic rat brain. *Brain Res* 2006; 1115: 217-22.
12. Reagan LP, Magarinos AM, McEwen BS. Neurological changes induced by stress in streptozotocin diabetic rats. *Ann NY Acad Sci* 1999; 893: 126-37.
13. Browlee M. The pathological implications of protein glycation. *Clin Invest Med* 1995; 18: 275-81.
14. Abd El-Aziz MA, Othman AI, Amer M, El-Missiry MA. Potential protective role of angiotensin-converting enzyme inhibitors captopril and enalapril against adriamycin-induced acute cardiac and hepatic toxicity in rats. *J Appl Toxicol* 2001; 21: 469-73.
15. Karim S, Bhandari U, Kumar H, Salam A, Siddiqui MAA, Pillai KK. Doksorubisin induced cardiotoxicity and its modulation by drugs. *Indian J Pharmacol* 2001; 33: 203-7.
16. Jayasooriya AP, Mathai ML, Walker LL, *et al.* Mice lacking angiotensin-converting enzyme have increased energy expenditure, with reduced fat mass and improved glucose clearance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 6531-6.

17. Santos EL, de Picoli Souza K, Guimaraes PB, *et al.* Effect of angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on body weight and composition in young rats. *Int Immunopharmacol* 2008; 8: 247-53.
18. Benson SC, Pershadsingh HA, Ho CI, *et al.* Identification of telmisartan as a unique angiotensin II receptor antagonist with selective PPARgamma-modulating activity. *Hypertension* 2004; 43: 993-1002.
19. Banga A, Unal R, Tripathi P, *et al.* Adiponectin translation is increased by the PPARgamma agonists pioglitazone and omega -3 fatty acids. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296: 480-9.
20. Santos EL, de Picoli Souza K, da Silva ED, *et al.* Long term treatment with ACE inhibitor enalapril decreases body weight gain and increases life span in rats. *Biochem Pharmacol* 2009; 78: 951-8.
21. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, *et al.* A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481: 463-8.
22. Stout AK, Raphael HM, Kanterewicz BI, Klann E, Reynolds IJ. Glutamate-induced neuron death requires mitochondrial calcium uptake. *Nat Neurosci* 1998; 1: 366-73.
23. Korshunov SS, Skulachev VP, Starkov AA. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS Lett* 1997; 416: 15-8.
24. Mattson M.P, Liu D. Mitochondrial potassium channels and uncoupling proteins in synaptic plasticity and neuronal cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 304: 539-49.
25. Teshima Y, Akao M, Jones S.P, Marban E. Uncoupling protein-2 overexpression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes. *Circ Res* 2003; 93: 192-200.
26. Austin S, St-Pierre J. PGC1alpha and mitochondrial metabolism-emerging concepts and relevance in ageing and neurodegenerative disorders. *J Cell Sci* 2012; 125: 4963-71.
27. Komatsu M, Tong Y, Li Y, *et al.* Multiple roles of PPARalpha in brown adipose tissue under constitutive and cold conditions. *Genes Cells* 2012; 15: 91-100.
28. Hashemi MS, Ghaedi K, Salamian A, *et al.* Fndc5 knockdown significantly decreased neural differentiation rate of mouse embryonic stem cells. *Neuroscience* 2013; 231: 296-304.
29. Moon H, Dincer F, Mantzoros CS. Pharmacological concentrations of irisin increase cell proliferation without influencing markers of neurite outgrowth and synaptogenesis in mouse H19-7 hippocampal cell lines. *Metabolism* 2013; 62: 1131-6.