



ARAŞTIRMA/RESEARCH

Mianserin'in sıçanlarda streptozotosin ile indüklenen hiperglisemi ve metabolik değişiklikler üzerine etkisi

Effect of mianserin on streptozotocin-induced hyperglycemia and metabolic alterations in rats

Özgür Devrim Can¹, Umut İrfan Üçel¹, Ümide Demir Özkay¹, Miriş Dikmen²

¹Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, ²Klinik Eczacılık Anabilim Dalı, Eskişehir, Turkey

Cukurova Medical Journal 2017;42(1):103-119.

Abstract

Purpose: The aim of this study was to investigate possible effects of atypical antidepressant mianserin on glycemia levels and metabolic parameters of normoglycemic and diabetic rats.

Material and Methods: Effects of mianserin administration on blood glucose levels in rats were assessed by measuring "fasting blood glucose", "glycosylated haemoglobin" levels and conducting the "oral glucose tolerance test". Changes in metabolic parameters such as food and water consumption and urine and faeces excretion were observed using metabolic cages.

Results: Administration of mianserin for 7 and 14 days at doses of 30 and 45 mg/kg significantly reduced the hyperglycemia and elevated HbA1c levels; also improved hyperglycemia induced polydipsia, polyuria, polyphagia, and increased faeces amounts. Mianserin, at both of the administered doses, reduced the weight loss observed in diabetic animals. With regard to the anti-hyperglycaemic effect, mianserin administered at a dose of 30 mg/kg was found to be as effective as the reference drug metformin (dose, 1 g/kg).

Conclusion: This study showed that the anti-hyperglycemic effect of mianserin, an atypical antidepressant, was comparable to those of the reference drug metformin. However, the pharmacological mechanisms underlying this anti-hyperglycemic effect of mianserin remain to be elucidated.

Key words: Diabetes mellitus, HbA1c, metabolic cage, metformin, mianserin, streptozotocin

Öz

Amaç: Bu çalışmada, atipik bir antidepresan olan mianserin'in normoglisemik ve diyabetik sıçanlarda glisemi düzeyi ve metabolik parametreler üzerine olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Mianserin'in subkütan uygulamasının, streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulmuş sıçanların kan glukoz seviyeleri üzerine etkileri, "açlık kan glukozu ölçümleri", "glikozile hemoglobin ölçümleri" ve "oral glukoz tolerans testi" ile değerlendirilmiştir. Yem ve su tüketimi, idrar ve dışkı atılımı gibi metabolik parametrelerin değişimi ise metabolik kafes düzenekleri ile izlenmiştir.

Bulgular: Mianserin'in 30 ve 45 mg/kg dozlarda 7 ve 14 gün süre uygulamasının diyabetik sıçanlardaki hiperglisemiye ve artmış HbA1c düzeylerini azalttığı; söz konusu hiperglisemiye bağlı olarak gelişen polidipsiyi, poliüriyi, polifajiyi ve dışkı atılımındaki artışı anlamlı biçimde düzelttiği belirlenmiştir. Mianserin uygulandığı iki dozda da diyabetik hayvanların vücut ağırlıklarındaki kaybı azaltmıştır. Antihyperglisemik etki açısından mianserin'in 30 mg/kg dozu referans ilaç metformin (1 g/kg) kadar etkili bulunmuştur.

Sonuç: Bu çalışma ile atipik bir antidepresan olan mianserin'in metformin ile kıyaslanabilir ölçüde antihyperglisemik etkinlik gösterdiği ortaya konulmuştur. Bununla birlikte, mianserin'in antihyperglisemik etkinliğinin altında yatan farmakolojik mekanizmalar aydınlatılmayı beklemektedir.

Anahtar kelimeler: Diabetes mellitus, HbA1c, metabolik kafes, metformin, mianserin, streptozotosin

GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM) karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında bozukluklarla karakterize, yüksek plazma glukoz seviyeleriyle seyreden kronik bir hastalıktır¹. Diyabet hastalarında plazma glukoz düzeylerinin uygun tedavi ile kontrol altına alınmadığı durumlarda yaşamı tehdit edebilecek ölçüde önemli olabilen “akut” ve uzun süren metabolik düzensizlikler nedeniyle çeşitli sistem, organ veya dokularda hasarlara neden olan “kronik” komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir^{2,3}.

Tip I ve tip II DM'li hastalarda yapılan çalışmalar insülin işlevlerindeki bozulmanın ve kronik hipergliseminin MSS komplikasyonlarının gelişimi; çeşitli nörodejeneratif hastalıkların ve duygu durum hastalıklarının oluşumu açısından patolojik önemi olduğunu ortaya koymuş ve ‘diyabetik ensefalopati’ DM'nin bir komplikasyonu olarak rapor edilmiştir⁴⁻⁶.

Antidepresanlar diyabetik hastalarda insidansı yüksek olan duygu-durum bozukluklarının ve nöropatik ağrının tedavisi için sıklıkla kullanılan ilaçlardır. Yapılan çalışmalar, diyabetik hastalarda söz konusu endikasyonlar için kullanılan antidepresanların hastaların kan glukoz seviyelerini etkilediğine ve diyabetik hastalarda glisemik kontrolün bozulmasına neden olabildiğine işaret etmektedir. Diyabetik hastalarda depresyon tedavisi için başlanan bazı ilaçların hipoglisemik etki gösterdiğine⁷⁻¹⁰ işaret eden çalışmaların yanı sıra antidepresan kullanımına bağlı hiperglisemi gelişimini bildiren raporlar da bulunmaktadır¹¹⁻¹². Bu bilgilerden hareketle, antidepresan ilaçların kan glukozu üzerine potansiyel etkilerinin deneysel diyabet modellerinde araştırılması klinik açıdan önem taşımaktadır.

Mianserin, çeşitli ülkelerde major depresyon tedavisi için onaylanmış tetrasiklik yapılu bir ilaçtır. Bu ilacın antidepresan etkisinin presinaptik, oto- ve hetero- α_2 -adrenoreseptörlerin blokajı sonucu noradrenerjik ve serotonerjik

nörotransmisyonundaki artış ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir^{13,14}. Mianserin'in antidepresan etkinliğinin yanı sıra analjezik etkinliğe de sahip olduğu rapor edilmiştir^{15,16}. Ancak, literatürde bu ilacın normoglisemik ya da hiperglisemik koşullarda kan glukozu üzerine etkilerine ilişkin detaylı bir deneysel araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada antidepresanların glisemi üzerine etki potansiyelinden yola çıkılarak, atipik bir antidepresan olan mianserin'in normoglisemik ve diyabetik sıçanlarda kan glukozu ve ilişkili metabolik parametreler üzerine olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney hayvanları

Çalışmalarda aynı yaşta 250-300 gr ağırlığında erkek Wistar sıçanlar kullanılmıştır. Deneysel olarak kullanılan hayvanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde (ışıklar 8⁰⁰-20⁰⁰ arasında açılmaktadır), 24 \pm 1°C sıcaklıktaki iyi havalandırılan odalarda bulundurulmuş ve standart hayvan yemi ile beslenmişlerdir. Bu çalışmanın deneysel protokolü Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 5.4.2011 tarihli ve 9-11 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

Kullanılan kimyasal maddeler

Bu çalışmada kullanılan streptozotosin (STZ), mianserin hidroklorür, metformin hidroklorür, pregabalin, morfin sülfat ve nalokson hidroklorür Sigma (St. Louis, MO, ABD)'dan; sitrik asit, trisodyum sitrat ve etanol Merck (Darmstadt, Almanya)'dan; serum fizyolojik ise Adeka (Samsun, Türkiye)'dan satın alınmıştır. Ketamin ve ksilazin için sırasıyla Alfamine® ve Alfazyne® preparatları kullanılmıştır.

Deneysel diyabetin oluşturulması

Diyabet oluşturulacak sıçan grupları bir gece aç bırakıldıktan sonra kuyruk venlerinin içine 50 mg/kg tek doz STZ uygulanmıştır¹⁷. Uygulanan STZ, pH=4.5, 0.1 M sitrat tamponu içerisinde

hazırlanmıştır. STZ enjeksiyonundan sonra hiperinsülinemiyi ve hipoglisemik şoku azaltmak ve/veya önlemek amacıyla sıçanların bulunduğu kafeslere 5 mmol/L glukoz solüsyonu içeren suluklar yerleştirilmiştir¹⁸.

Enjeksiyon yapıldıktan 72 saat sonra alınan kan örneklerinden Glukotrend® (Roche, Basel, İsviçre) ile kan şekeri ölçümleri yapılmıştır. Kan glukoz düzeyi 300 mg/dL üzerinde olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edilmiştir. Diyabetik sıçanların kontrolü olarak kullanılan tüm sağlıklı sıçanlara *i.v* olarak aynı hacimde sitrat tamponu enjekte edilmiştir¹⁹.

Deney gruplarının oluşturulması

Subakut uygulama yapılan normoglisemik deney grupları aşağıdaki biçimde oluşturulmuştur:

Kontrol grubu	14 gün süre ile serum fizyolojik uygulanan grup
MNS-30 grubu	14 gün süre ile 30 mg/kg mianserin ²⁰ uygulanan grup
MNS-45 grubu	14 gün süre ile 45 mg/kg mianserin uygulanan grup

Subakut uygulama yapılan diyabetik deney grupları ise aşağıdaki biçimde oluşturulmuştur:

Kontrol (Normoglisemik) grubu	İ.v sitrat tamponu enjekte edilen ve enjeksiyondan 4 hafta sonra 14 gün süre ile serum fizyolojik uygulanan grup
DM grubu	İ.v STZ enjekte edilen ve enjeksiyondan 4 hafta sonra 14 gün süre ile serum fizyolojik uygulanan grup
Metformin+ DM grubu	İ.v STZ enjekte edilen ve enjeksiyondan 4 hafta sonra 14 gün süre ile günde iki kez 500 mg/kg metformin ²¹ uygulanan grup
MNS-30+DM grubu	İ.v. STZ enjekte edilen ve enjeksiyondan 4 hafta sonra 14 gün süre ile 30 mg/kg mianserin uygulanan grup
MNS-45+DM grubu	İ.v. STZ enjekte edilen ve enjeksiyondan 4 hafta sonra 14 gün süre ile 45 mg/kg mianserin uygulanan grup

Gerek mianserin, gerekse metformin uygulamaları oral (p.o) yoldan yapılmıştır.

Her bir deney grubu 7 adet sıçandan oluşmaktadır.

Açlık kan glukozunun ölçümü

Hayvanların açlık kan glukoz düzeyleri, 12 saat açlıktan sonra kuyruk veninden alınan kandan Glukotrend® cihazı yardımıyla ölçülmüştür.

Oral glukoz tolerans testi (OGTT)

OGTT, gece boyunca aç bırakılmış sıçanlara uygulanmıştır. Sıçanların glukoz yüklemesi yapılmadan önceki (0. dakika) kan glukoz seviyeleri kuyruk venlerinden alınan kandan Glukotrend® cihazı yardımıyla ölçülmüştür. Daha sonra, sıçanlara 2 g/kg glukoz solüsyonu oral gavaj ile uygulanmıştır. Glukoz yüklemesinden 30, 60, 90 ve 120 dakika sonra kan glukoz seviyeleri tekrar ölçülerek kaydedilmiştir²².

Metabolik kafes ölçümleri

Kontrol ve deney gruplarındaki hayvanlar deney süresi boyunca metabolik kafeslerde tutulmuş ve aşağıdaki parametreler ölçülmüştür.

- Günlük su tüketimi
- Günlük idrar atılımı
- Günlük yem tüketimi
- Günlük dışkı miktarları

Metabolik kafes ölçümleri her gün aynı saate yapılmıştır. Sıçanların vücut ağırlığı ölçümleri ise deney süresince haftada bir kez yapılmıştır.

Hemoglobin A1c değerlerinin ölçülmesi

In vivo deney protokolünün tamamlanmasını takiben, diyabetik sıçanlar ketamin ve ksilazin kombinasyonu ile anestezisi altına alınmış ve intrakardiyak yolla kan toplanmıştır. HbA1c miktarları, sıçan glikozile HbA1c ELISA Kit (USB katalog no: CSB-E08140r) yöntemine göre ölçülmüştür. Bu yöntemde kit içerisinde yer alan sıçan HbA1c proteinine özgü bir poliklonal antikor kaplanmış 96'lı plaka kuyucukları kullanılarak deney gruplarına ait HbA1c miktarları kolorimetrik yöntemle ölçülmüştür.

Tüm deney grupları aynı anda çalışılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda plaka kuyucuklarındaki numunelerin absorbanı 450 nm dalga boyunda Cytation 3 Cell Imaging Multi-Mode Reader (Biotek) cihazı kullanılarak okunmuştur. Örneklerin HbA1c miktarları, kit içerisinde bulunan ve HbA1c

miktarları bilinen standart konsantrasyonlar (0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 ng/ml) ile çizilen standart grafiğe göre, ng/ml olarak hesaplanmıştır²³.

Sıçan pankreas dokusunda INS-1 mRNA ekspresyonlarının gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile analizi

Anestezi altındaki sıçanlardan kan alımı işlemi tamamlandıktan sonra, hayvanların pankreas dokuları hızla çıkartılmıştır. Her bir deney grubundaki sıçanlarda insülin ekspresyon miktarını ölçmek için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) metodu kullanılmıştır. Bu yöntemde RNA'dan komplementer deoksiribonükleik asid (cDNA) sentezi ve cDNA'dan da Insulin-1 (Ins-1) (Roche Lot: 90007141) geninin amplifikasyonu yapılarak, Ins-1 geninin mesajcı ribonükleik asid (mRNA) ekspresyon düzeyleri araştırılmıştır. Housekeeping gen olarak β -aktin (Actb) (Roche Lot Number: 90006540) kullanılmıştır.

Total ribonükleik asid izolasyonu

Alınan pankreas doku örneklerinden (0.2 gr) total RNA, izolasyon robotu (MagNA Pure Compact) kullanılarak izole edilmiştir. RNA verimi 260 nm ve 280 nm optik dansitede, nanodrop spektrofotometrik ölçüm yapılarak belirlenmiştir. Daha sonra cDNA sentezi için her bir örnekten eşit miktarda RNA (100 ng/örnek), cDNA sentezi için kullanılmıştır.

Komplementer deoksiribonükleik asid sentezi

cDNA sentezi için Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis kit (katolog no:05091284001, Roche) prosedürü uygulanmıştır. PCR tüplerine örnek başına 100 ng total RNA, 1 μ l Oligo (dT)18 primeri (2.5 μ M) koyularak toplam hacim 11.4 μ l'ye distile su ile tamamlanmıştır. Tüpler PCR Thermal Cycler'da 10 dakika 65°C'de denature edilmiştir. Tüplerin içeriğine, 4 μ l Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase Reaction Buffer (1X ve 8 mM MgCl₂ içerir), 0.5 μ l RNase inhibitörü (20 U), 2 μ l dNTP karışımı (nükleotid trifosfatlar) (her biri 10mM), 1 μ l DTT (dithiothreitol) (5mM), 1.1 μ l Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase (10 U) ilave edilerek toplam hacim 20 μ l'ye tamamlanmıştır. Daha sonra tüpler PCR Thermal

Cycler'da 55°C'de 30 dk, 85 °C'de 5dk inkübe edilmiştir. Elde edilen cDNA'lar, Light Cycler 480 PCR cihazında amplifikasyon için kullanılmıştır.

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile mRNA ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi

Mianserin'in Ins-1 mRNA ekspresyon düzeylerine olan etkileri RT-PCR ile araştırılmıştır. RT-PCR yöntemi, cihaza uygun kit ve primerler kullanılarak uygulanmıştır. Elde edilen cDNA'lar, LightCycler 480 RT-PCR cihazında, TaqMan'lı primerler (Ins-1 ve housekeeping gen olarak da β -aktin (Actb)) ve PCR kit (Light Cycler 480 Probe Master, Roche Lot Number: 14944920) kullanılarak kit protokolüne göre, cihazda optimize edilerek çoğaltılmıştır. House keeping gen olarak Actb kullanılmıştır.

Light Cycler PCR 480 cihazında 96'lık well plate'lere sırasıyla; H₂O (4 μ l), Prob Master (10 μ l), Primer (1 μ l) ve cDNA (5 μ l) kimyasalları yüklenmiştir. Hazırlanan bu karışım 96'lık plakaya Ins-1 ve Actb için ayrı ayrı yüklenmiştir. Yükleme işleminden sonra 96'lık plaka LightCycler 480 RT-PCR cihazına yerleştirilip örneklerin niceliksel ölçüm miktarları belirlenmiştir. Sonuçlar 'Advanced Relative Quantification' programı (Software Release 1.5.0 SP4 version 1.5.0.39) kullanılarak, herbir grubun Ins-1 mRNA ekspresyonunun eşik değerleri (crossing point, CP) analiz edilmiş ve grupların Ins-1 geni mRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmıştır.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler için Graphpad Prism paket programı kullanılmıştır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi kullanılarak incelenmiştir. Serum fizyolojik, 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg mianserin uygulanan normoglisemik sıçan gruplarına ait olan ve haftalar arasında karşılaştırma yapmayı gerektiren veriler, çift yönlü varyans analizi (ANOVA)-tekrarlı ölçüm testi ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testi uygulanarak değerlendirilmiştir. Serum fizyolojik uygulanan normoglisemik ve serum fizyolojik, referans madde (metformin), 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabetik sıçan gruplarına ait olan ve haftalar arasında karşılaştırma yapmayı gerektiren veriler, çift yönlü varyans analizi (ANOVA)-tekrarlı ölçüm testi ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testi uygulanarak değerlendirilmiştir. HbA1c miktarlarına ilişkin veriler

ise tek yönlü varyans analizini takiben Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, ortalama±ortalamanın standart hatası olarak verilmiştir. $P<0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir. Grafik çizimleri için Microsoft Office Excell programlarından yararlanılmıştır.

BULGULAR

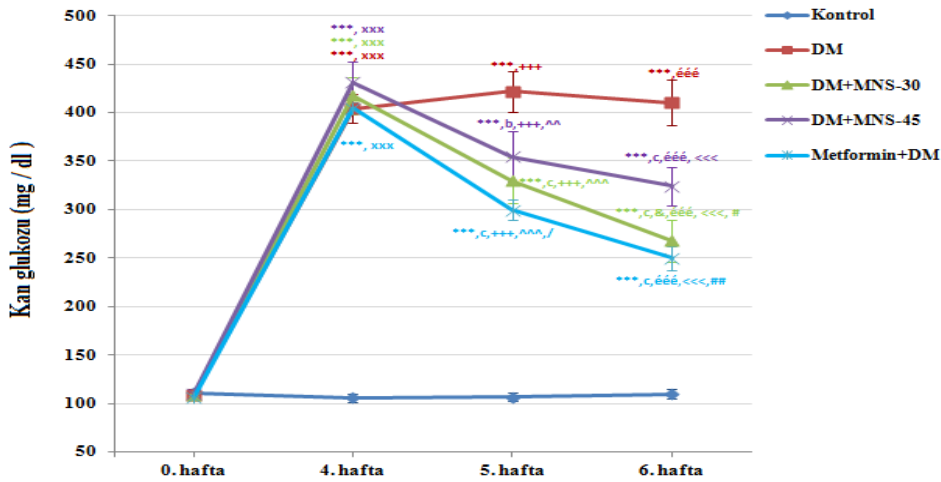
Açlık kan glukoz değerlerine ilişkin bulgular

7 ve 14 gün boyunca her gün düzenli olarak 30 ve 45 mg/kg mianserin uygulanan normoglisemik sıçanların açlık kan glukoz değerleri, serum fizyolojik uygulanan normoglisemik sıçanların açlık kan glukoz değerlerinden farklı bulunmamıştır. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların açlık kan glukoz değerleri üzerinde ne tedavi faktörünün [$F(6,54)=0.98, P>0.05$] ne de zaman faktörünün [$F(6,54)=0.33, P>0.05$] etkili olmadığını ortaya koymuştur. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [$F(6,54)=0.51, P>0.05$] (Tablo 1).

Şekil 1, 14 gün boyunca her gün düzenli olarak serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (kontrol) ve serum fizyolojik, 1 g/kg metformin, 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg mianserin uygulanan

diyabetik sıçanların açlık kan glukoz değerlerinin değişimini göstermektedir. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların açlık kan glukoz değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [$F(12,90)=105.2, P<0.001$] hem de zaman faktörünün [$F(12,90)=272.4, P<0.001$] etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [$F(12,90)=22.88, P<0.001$].

Çoklu karşılaştırma için uygulanan Bonferroni testi, diyabet (DM), 1 g/kg metformin uygulanan diyabet (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin uygulanan diyabet (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabet (MNS-45+DM) gruplarında bulunan hayvanların STZ uygulamasını izleyen 4. haftada ölçülen kan glukoz değerlerinin, 0. hafta değerlerine göre anlamlı biçimde arttığını göstermiştir. Bonferroni testi, referans madde olarak kullanılan metformin'in (1 g/kg) 7 ve 14 gün subakut uygulamasının diyabetik sıçanların artmış kan glukoz seviyelerini anlamlı biçimde azalttığını ortaya koymuştur. Metformin'in yanı sıra mianserin'in 30 ve 45 mg/kg dozlarının 7 ve 14 günlük subakut uygulamaları da diyabetik sıçanların artmış kan glukoz seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı biçimde azaltmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (Kontrol) ve serum fizyolojik (DM), 1 g/kg metformin (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin (MNS-45+DM) uygulanan diyabetik sıçanların açlık kan glukoz değerleri

0. haftaya göre anlamlı farklılık *** $p<0.001$; 4. haftaya göre anlamlı farklılık ^b $p<0.01$, ^c $p<0.001$; 5. haftaya göre anlamlı farklılık ^a $p<0.05$; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ^{xxx} $p<0.001$; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ⁺⁺⁺ $p<0.001$; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ^{eee} $p<0.001$; 5. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık [~] $p<0.01$, ^{^^} $p<0.001$; 6. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık ^{<<<} $p<0.001$; 5. hafta MNS-45 grubuna göre anlamlı farklılık ['] $p<0.05$; 6. hafta MNS-45 grubuna göre anlamlı farklılık [#] $p<0.05$, ^{##} $p<0.01$, Çift yönlü tekrarlı varyans analizi, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=7$.

Tablo 1. Serum fizyolojik (kontrol), 30 mg/kg mianserin (MNS-30) ve 45 mg/kg mianserin (MNS-45) uygulanan normoglisemik sıçanların kan glukozlarındaki (mg/dl), metabolik parametrelerindeki ve vücut ağırlıklarındaki değişime ilişkin değerler.

		Tedavi öncesi (0. hafta)	Tedavi öncesi (4. hafta)	7 gün tedavili (5. hafta)	14 gün tedavili (6. hafta)	
Kan glukozu (mg/dl)	Kontrol	124.1±4.1	122.7±5.5	123.3±4.4	124.4±4.9	
	MNS-30	120.0±4.9	119.1±4.5	118.1±5.6	117.6±5.6	
	MNS-45	112.9±6.6	114.6±5.9	113.0±5.8	112.0±7.1	
		Zaman (dak)				
		0	30	60	90	120
Kan glukozu, (OGTT) (mg/dl)	Kontrol	124,4±4.9	160.6±11.1	189.4±6.1	173.0±10.5	151.7±6.3
	MNS-30	117.6±5.6	149.9±6.3	179.6±4.7	168.0±5.6	146.1±2.8
	MNS-45	112.0±7.1	145.6±11.1	168.4±8.1	161.7±4.8	137.3±6.4
Tüketilen su hacmi (ml)	Kontrol	35.2±2.9	39.3±3.0	37.5±3.5	36.3±2.5	
	MNS-30	34.2±2.4	37.3±3.2	36.3±3.3	38.3±2.9	
	MNS-45	32.5±3.0	35.3±1.3	33.8±2.7	36.1±3.0	
Atılan idrar hacmi (ml)	Kontrol	12.8±1.5	14.2±1.2	14.0±0.9	13.5±1.2	
	MNS-30	13.1±0.8	13.71±1.5	13.50±1.1	14.0±1.1	
	MNS-45	12.3±1.0	13.9±1.3	12.8±1.0	13.9±1.2	
Tüketilen yem miktarı (g)	Kontrol	19.6±1.2	18.6±1.4	19.9±1.8	18.8±1.1	
	MNS-30	19.1±1.6	18.0±1.5	16.8±1.7	18.1±1.8	
	MNS-45	18.5±1.4	19.4±1.5	16.8±1.3	17.2±0.8	
Atılan dışkı miktarı (g)	Kontrol	14.7±1.4	13.8±1.3	15.0±1.1	14.1±1.1	
	MNS-30	14.1±0.9	13.6±1.2	11.8±1.3	13.9±1.3	
	MNS-45	13.1±1.5	14.0±1.6	12.0±1.4	12.5±1.0	
Vücut ağırlığı (g)	Kontrol	265.6±11.8	273.3±9.3	284.9±8.9	298.7±10.9*	
	MNS-30	272.9±7.2	279.0±10.1	285.4±7.9	293.1±8.9	
	MNS-45	268.0±9.1	274.3±7.9	292.1±11.2	296.4±17.9	

Oral glukoz tolerans testine ilişkin bulgular

7 ve 14 gün boyunca her gün düzenli olarak 30 ve 45 mg/kg mianserin uygulanan normoglisemik sıçanların 2 g/kg glukoz yüklemesinden sonra 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda ölçülen kan glukoz değerleri, kontrol grubu normoglisemik sıçanların glukoz yüklemesinden sonra ölçülen kan glukoz değerlerinden farklı bulunmamıştır. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların OGTT'de ölçülen kan glukoz değerleri üzerine tedavi faktörünün [F (8,72)=2.34, P>0.05] etkili olmadığını ortaya koymaktadır. Diğer yandan, süre faktörünün kan glukozu üzerinde anlamlı etki gösterdiği belirlenmiştir [F (8,72)=47.12, P<0.001]. Tedavi ile zaman faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmamaktadır [F (8,72)=0.14, P>0.05] (Tablo 1).

Şekil 2, 14 gün boyunca her gün düzenli olarak

serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (kontrol) ve serum fizyolojik, 1 g/kg metformin, 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabetik sıçanların OGTT sonrası ölçülen kan glukoz değerlerini göstermektedir. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların glukoz yüklemesini takiben ölçülen kan glukoz değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (16,120)=84.94, P<0.001] hem de süre faktörünün [F (16,120)=142.10, P<0.001] etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (16,120)=11.37, P<0.001]. Çoklu karşılaştırma için uygulanan Bonferroni testi, DM grubunda bulunan sıçanların OGTT'yi takiben 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda ölçülen kan glukoz değerlerinin karşılık gelen normoglisemik kontrol grubu değerlerinden anlamlı biçimde yüksek olduğunu göstermiştir. 1 g/kg metformin, 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg

mianserin tedavisi almış olan diyabetik hayvanların OGTT'yi takiben ölçülen kan glukoz değerleri ise, serum fizyolojik uygulanan DM grubunun karşılık gelen değerlerinden anlamlı biçimde düşüktür (Şekil 2).

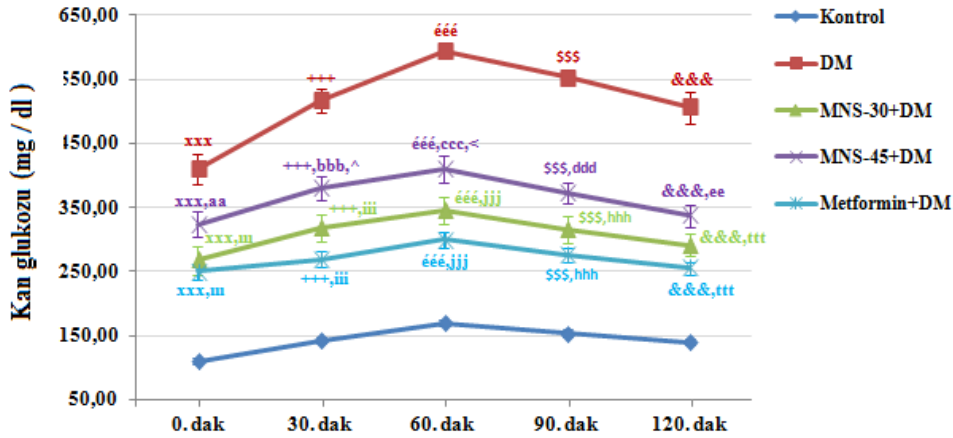
Metabolik kafes ölçümlerine ilişkin bulgular

Su tüketimine ilişkin bulgular

7 ve 14 gün boyunca her gün düzenli olarak 30 ve 45 mg/kg mianserin uygulanan normoglisemik sıçanların su tüketim değerleri, serum fizyolojik uygulanan normoglisemik sıçanların su tüketim değerlerinden farklı bulunmamıştır. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların su tüketim değerleri üzerinde ne tedavi faktörünün [F (6,54)=0.32, P>0.05] ne de zaman faktörünün [F

(6,54)=2.70, P>0.05] etkili olmadığını ortaya koymuştur. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [F (6,54)=0.41, P>0.05] (Tablo 1).

Şekil 3, 14 gün boyunca her gün düzenli olarak serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (kontrol) ve serum fizyolojik, 1 g/kg metformin, 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabetik sıçanların su tüketim değerlerini göstermektedir. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların su tüketim değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (12,90)=24.86, P<0.001] hem de zaman faktörünün [F (12,90)=322.8, P<0.001] etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunmamaktadır [F (12,90)=38.04, P<0.001].



Şekil 2. 14 günlük uygulamaların bitiminde, serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (Kontrol) ve serum fizyolojik (DM), 1 g/kg metformin (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin (MNS-45+DM) uygulanan diyabetik sıçanların OGTT'de ölçülen kan glukoz değerleri,

0. dakika kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $xxxp<0.001$; 30. dakika kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $+++p<0.001$; 60. dakika kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $ééé,ccc,<$; 90. dakika kontrol grubuna göre anlamlı farklılık sss,ddd ; 120. dakika kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $&&&p<0.001$; 0. dakika DM grubuna göre anlamlı farklılık xxx,aa ; 30. dakika DM grubuna göre anlamlı farklılık $+++bbb,^$; 60. dakika DM grubuna göre anlamlı farklılık $ééé,ccc,<$; 90. dakika DM grubuna göre anlamlı farklılık sss,ddd ; 120. dakika DM grubuna göre anlamlı farklılık $&&&ee$; 0. dakika MNS-30+DM grubuna göre anlamlı farklılık xxx,iii ; 30. dakika MNS-30+DM grubuna göre anlamlı farklılık $+++iii$; 60. dakika MNS-30+DM grubuna göre anlamlı farklılık $ééé,jjj$; 90. dakika MNS-30+DM grubuna göre anlamlı farklılık sss,hhh ; 120. dakika MNS-30+DM grubuna göre anlamlı farklılık $&&&,ttt$; 0. dakika Metformin+DM grubuna göre anlamlı farklılık xxx,iii ; 30. dakika Metformin+DM grubuna göre anlamlı farklılık $+++iii$; 60. dakika Metformin+DM grubuna göre anlamlı farklılık $ééé,jjj$; 90. dakika Metformin+DM grubuna göre anlamlı farklılık sss,hhh ; 120. dakika Metformin+DM grubuna göre anlamlı farklılık $&&&,ttt$; Çift yönlü tekrarlı varyans analizi, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, n=7.

Çoklu karşılaştırma için uygulanan Bonferroni testi, diyabet (DM), 1 g/kg metformin uygulanmış diyabet (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin uygulanmış diyabet (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin uygulanmış diyabet (MNS-45+DM) gruplarında

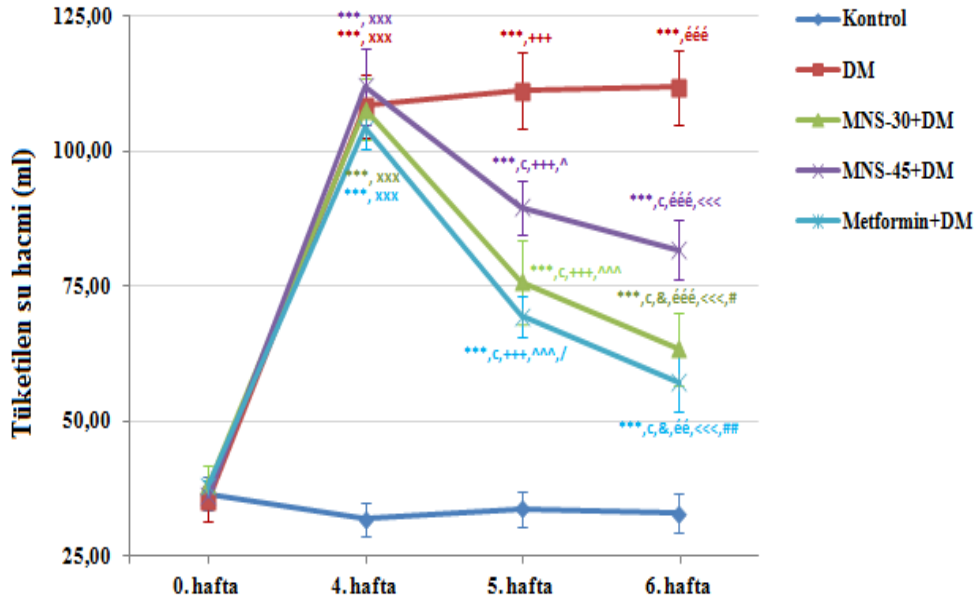
bulunan hayvanların STZ uygulamasını izleyen 4. haftada ölçülen su tüketim değerlerinin, 0. hafta değerlerine göre anlamlı biçimde arttığını göstermiştir. Diyabetik hayvanlarda artmış olan su tüketim değerleri referans madde olarak kullanılan

metformin'in (1 g/kg) 7 ve 14 günlük subakut uygulamaları ile anlamlı ölçüde azalmıştır. Metformin'in yanı sıra mianserin'in 30 ve 45 mg/kg dozlarının 7 ve 14 gün subakut uygulamaları da diyabetik sıçanların artmış su tüketim değerlerini istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaltmıştır (Şekil 3).

İdrar atılımına ilişkin bulgular

7 ve 14 gün boyunca her gün düzenli olarak 30 ve 45 mg/kg mianserin uygulanan normoglisemik sıçanların idrar atılım değerleri, serum fizyolojik uygulanan normoglisemik sıçanların idrar atılım değerlerinden farklı bulunmamıştır. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların idrar atılım değerleri üzerinde ne tedavi faktörünün [F

(6,54)=0.05, P>0.05] ne de zaman faktörünün [F (6,54)=2.55, P>0.05] etkili olmadığını ortaya koymuştur. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [F (6,54)=0.47, P>0.05] (Tablo 1). Şekil 4. 14 gün boyunca her gün düzenli olarak serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (kontrol) ve serum fizyolojik, 1 g/kg metformin, 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabetik sıçanların idrar atılım değerlerini göstermektedir. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların idrar atılım değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (12,90)=30.33, P<0.001] hem de zaman faktörünün [F (12,90)=263.7, P<0.001] etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunmamaktadır [F (12,90)=30.6, P<0.001].



Şekil 3. Serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (Kontrol) ve serum fizyolojik (DM), 1 g/kg metformin (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin (MNS-45+DM) uygulanan diyabetik sıçanların su tüketim değerleri,

0. haftaya göre anlamlı farklılık ***p<0.001; 4. haftaya göre anlamlı farklılık ρ <0.001; 5. haftaya göre anlamlı farklılık ρ <0.05; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ***p<0.001; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ***p<0.001; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ρ <0.01, ρ <0.001; 5. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık ρ <0.05, ρ <0.001; 6. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık ρ <0.001, ρ <0.001; 5. hafta MNS-45 grubuna göre anlamlı farklılık ρ <0.05; 6. hafta MNS-45 grubuna göre anlamlı farklılık #p<0.05, ##p<0.01, Çift yönlü tekrarlı varyans analizi, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, n=7.

Çoklu karşılaştırma için uygulanan Bonferroni testi, diyabet (DM), 1 g/kg metformin uygulanmış diyabet (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin uygulanmış diyabet (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin uygulanmış diyabet (MNS-45+DM) gruplarında

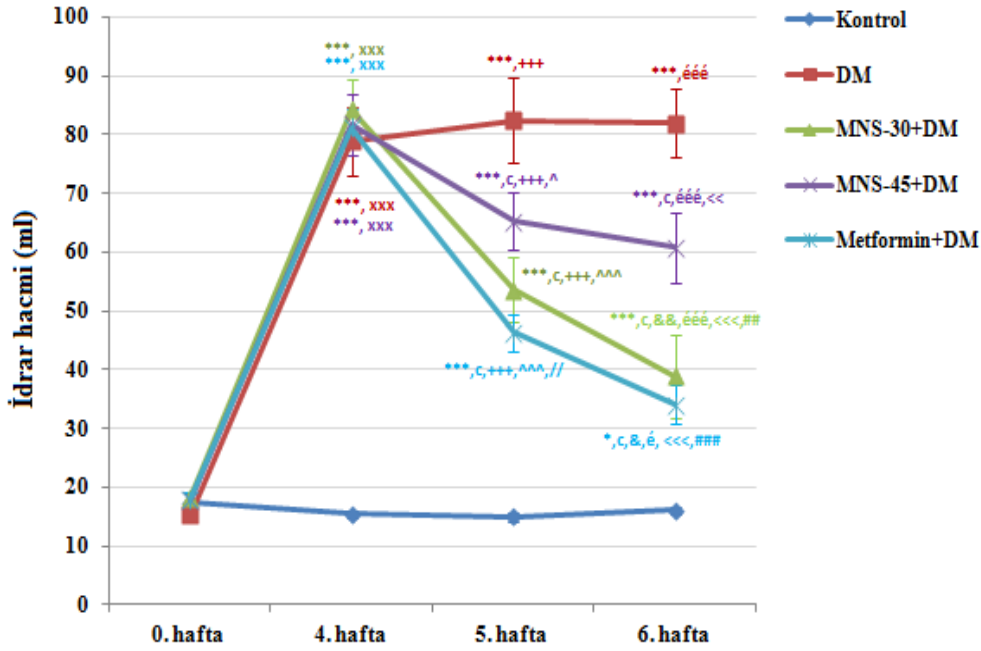
bulunan hayvanların STZ uygulamasını izleyen 4. haftada ölçülen idrar atılım değerlerinin, 0. hafta değerlerine göre anlamlı biçimde arttığını göstermiştir. Diyabetik hayvanlarda artmış olan idrar atılım değerleri, referans madde olarak kullanılan

metformin'in (1 g/kg) 7 ve 14 günlük subakut uygulamaları ile anlamlı ölçüde düzelmiştir. Metformin'in yanı sıra mianserin'in 30 ve 45 mg/kg dozlarının 7 ve 14 günlük subakut uygulamaları da diyabetik sıçanların artmış idrar atılım değerlerini istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaltmıştır (Şekil 4).

Yem tüketimine ilişkin bulgular

7 ve 14 gün boyunca her gün düzenli olarak 30 ve 45 mg/kg mianserin uygulanan normoglisemik sıçanların yem tüketim değerleri, serum fizyolojik uygulanan normoglisemik sıçanların yem tüketim değerlerinden farklı bulunmamıştır. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların yem tüketim değerleri üzerinde ne tedavi faktörünün [F

(6,54)=0.30, P>0.05] ne de zaman faktörünün [F (6,54)=1.63, P>0.05] etkili olmadığını ortaya koymuştur. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [F (6,54)=1.52, P>0.05] (Tablo 1). Şekil 5, 14 gün boyunca her gün düzenli olarak serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (kontrol) ve serum fizyolojik, 1 g/kg metformin, 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabetik sıçanların yem tüketim değerlerini göstermektedir. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların yem tüketim değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (12,90)=30.17, P<0.001] hem de zaman faktörünün [F (12,90)=92.43, P<0.001] etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (12,90)=10.89, P<0.001].



Şekil 4. Serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (Kontrol) ve serum fizyolojik (DM), 1 g/kg metformin (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin (MNS-45+DM) uygulanan diyabetik sıçanların idrar atılım değerleri,

0. haftaya göre anlamlı farklılık * $p<0.05$, *** $p<0.001$; 4. haftaya göre anlamlı farklılık $p<0.001$; 5. haftaya göre anlamlı farklılık $p<0.05$, &#x26; $p<0.01$; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık *** $p<0.001$; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık +++ $p<0.001$; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $p<0.05$, &#x26; $p<0.001$; 5. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık * $p<0.05$, *** $p<0.001$; 6. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık << $p<0.01$, <<< $p<0.001$; 5. hafta MNS-45 grubuna göre anlamlı farklılık // $p<0.01$; 6. hafta MNS-45 grubuna göre anlamlı farklılık ## $p<0.01$, ### $p<0.001$, Çift yönlü tekrarlı varyans analizi, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, n=7.

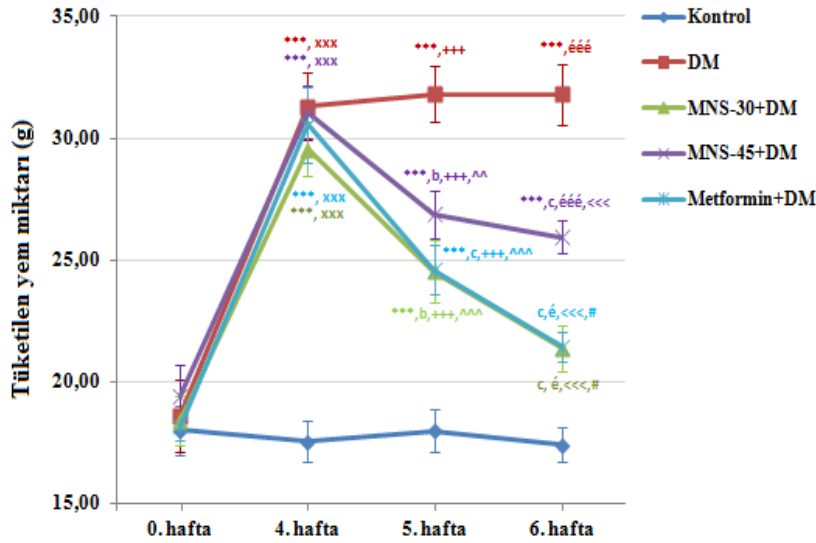
Çoklu karşılaştırma için uygulanan Bonferroni testi diyabet (DM), 1 g/kg metformin uygulanmış diyabet

(Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin uygulanmış diyabet (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin

uygulanmış diyabet (MNS-45+DM) gruplarında bulunan hayvanların STZ uygulamasını izleyen 4. haftada ölçülen yem tüketim değerlerinin, 0. hafta değerlerine göre anlamlı biçimde arttığını göstermiştir.

Diyabetik sıçanların yem tüketiminde ortaya çıkan söz konusu artış, referans madde olarak kullanılan

metformin'in (1 g/kg) 7 ve 14 günlük subakut uygulamaları ile anlamlı ölçüde azalmıştır. Metformin'in yanı sıra mianserin'in 30 ve 45 mg/kg dozlarının 7 ve 14 günlük subakut uygulamaları da diyabetik sıçanların 4. haftadaki yüksek yem tüketim değerlerini istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaltmıştır (Şekil 5).



Şekil 5. Serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (Kontrol) ve serum fizyolojik (DM), 1 g/kg metformin (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin (MNS-45+DM) uygulanan diyabetik sıçanların yem tüketim değerleri,

0. haftaya göre anlamlı farklılık $***p<0.001$; 4. haftaya göre anlamlı farklılık $^b p<0.01$, $^c p<0.001$; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $^{xxx} p<0.001$; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $^{+++} p<0.001$; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $^c p<0.05$, $^{eee} p<0.001$; 5. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık $^{**} p<0.01$, $^{***} p<0.001$; 6. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık $^{<<<} p<0.001$; 6. hafta MNS-45 grubuna göre anlamlı farklılık $^# p<0.05$, Çift yönlü tekrarlı varyans analizi, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=7$.

Dışkı atılımına ilişkin bulgular

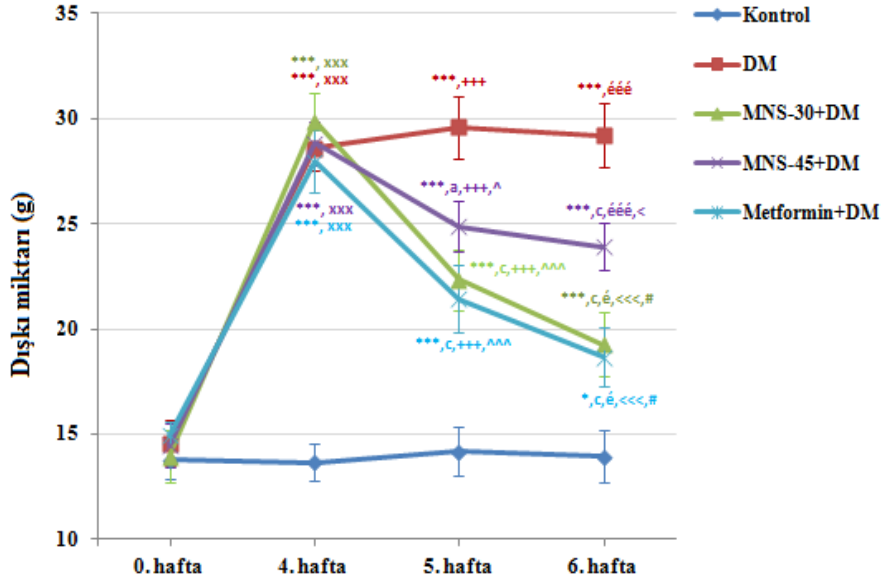
7 ve 14 gün boyunca her gün düzenli olarak 30 ve 45 mg/kg mianserin uygulanan normoglisemik sıçanların dışkı atılım değerleri, serum fizyolojik uygulanan normoglisemik sıçanların dışkı atılım değerlerinden farklı bulunmamıştır. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların dışkı atılım değerleri üzerinde ne tedavi faktörünün [F (6,54)=0.63, $P>0.05$] ne de zaman faktörünün [F (6,54)=0.72, $P>0.05$] etkili olmadığını ortaya koymuştur. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim de bulunmamaktadır [F (6,54)=0.91, $P>0.05$] (Tablo 1). Şekil 6, 14 gün boyunca her gün düzenli olarak serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (kontrol) ve serum fizyolojik, 1 g/kg

metformin, 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabetik sıçanların dışkı atılım değerlerini göstermektedir. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların dışkı atılım değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (12,90)=19.54, $P<0.001$] hem de zaman faktörünün [F (12,90)=144.6, $P<0.001$] etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (12,90)=15.34, $P<0.001$].

Çoklu karşılaştırma için uygulanan Bonferroni testi, diyabet (DM), 1 g/kg metformin uygulanan diyabet (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin uygulanan diyabet (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabet (MNS-45+DM) gruplarında

bulunan hayvanların STZ uygulamasını izleyen 4. haftada ölçülen dışkı atılım değerlerinin, 0. hafta değerlerine göre anlamlı biçimde arttığını göstermiştir. Diyabetik sıçanlarda dışkı atılımında görülen artış, referans madde olarak kullanılan metformin'in (1 g/kg) 7 ve 14 günlük subakut

uygulamaları ile anlamlı ölçüde azalmıştır. Metformin'in yanı sıra mianserin'in 30 ve 45 mg/kg dozlarının 7 ve 14 günlük subakut uygulamaları da diyabetik sıçanların 4. haftadaki yüksek dışkı atılım değerlerini istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaltmıştır (Şekil 6).



Şekil 6. Serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (Kontrol) ve serum fizyolojik (DM), 1 g/kg metformin (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin (MNS-45+DM) uygulanan diyabetik sıçanların dışkı atılım değerleri,

0. haftaya göre anlamlı farklılık * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$; 4. haftaya göre anlamlı farklılık $\#p < 0.05$, $\#p < 0.001$; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $^{xxx}p < 0.001$; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $^{+++}p < 0.001$; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $\#p < 0.05$, $^{ccc}p < 0.001$; 5. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık $\#p < 0.05$, $^{ccc}p < 0.001$; 6. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık $\#p < 0.05$, $^{ccc}p < 0.001$; 6. hafta MNS-45 grubuna göre anlamlı farklılık $\#p < 0.05$, Çift yönlü tekrarlı varyans analizi, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=7$.

Vücut ağırlıklarına ilişkin bulgular

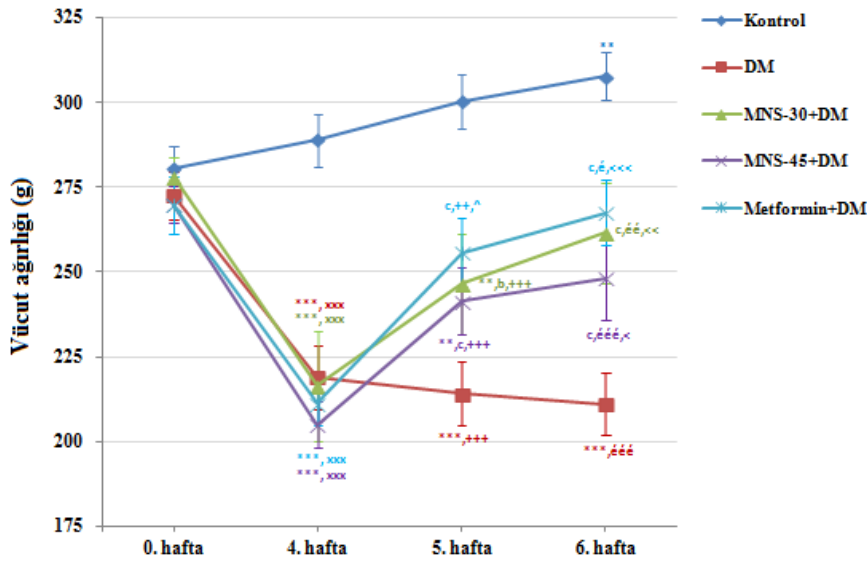
7 ve 14 gün boyunca her gün düzenli olarak 30 ve 45 mg/kg mianserin uygulanan normoglisemik sıçanların vücut ağırlıkları, serum fizyolojik uygulanan kontrol grubu normoglisemik sıçanların vücut ağırlıklarından farklı bulunmamıştır. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların vücut ağırlığı üzerinde tedavi faktörünün [F (6,54)=0.03, $P > 0.05$] etkili olmadığını ortaya koymaktadır. Diğer yandan, zaman faktörünün vücut ağırlığı üzerinde anlamlı etki gösterdiği belirlenmiştir [F (6,54)=6.06, $P < 0.01$]. Tedavi ile zaman faktörleri arasında anlamlı bir etkileşim bulunmamaktadır [F (6,54)=0.19, $P > 0.05$]. Çoklu karşılaştırma için uygulanan Bonferroni testi, kontrol grubunda bulunan sıçanların vücut ağırlıklarının 14 gün içerisinde

başlangıç değerlerine göre anlamlı bir biçimde arttığını ortaya koymuştur (Tablo 1). Şekil 7, 14 gün boyunca her gün düzenli olarak serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (kontrol) ve serum fizyolojik, 1 g/kg metformin, 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabetik sıçanların vücut ağırlıklarının değişimini göstermektedir. Çift yönlü tekrarlı varyans analizi sonuçları sıçanların vücut ağırlığı değerleri üzerinde hem tedavi faktörünün [F (12,90)=8.76, $P < 0.001$] hem de zaman faktörünün [F (12,90)=51.65, $P < 0.001$] etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, tedavi ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim bulunmaktadır [F (12,90)=9.12, $P < 0.001$].

Çoklu karşılaştırma için uygulanan Bonferroni testi diyabet (DM), 1 g/kg metformin uygulanmış diyabet

(Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin uygulanmış diyabet (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin uygulanmış diyabet (MNS-45+DM) gruplarında bulunan hayvanların 4. hafta ölçülen vücut ağırlığı değerlerinin 0. hafta değerlerine göre anlamlı biçimde azaldığını göstermiştir. Diyabetik sıçanlarda vücut ağırlıklarında görülen azalma, referans madde

olarak kullanılan metformin'in (1 g/kg) 7 ve 14 günlük subakut uygulamaları ile anlamlı ölçüde düzelmiştir. Metformin'in yanı sıra mianserin'in 30 ve 45 mg/kg dozlarının 14 günlük subakut uygulamaları da diyabetik sıçanların 4. haftadaki azalmış vücut ağırlıklarını istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttırmıştır (Şekil 7).



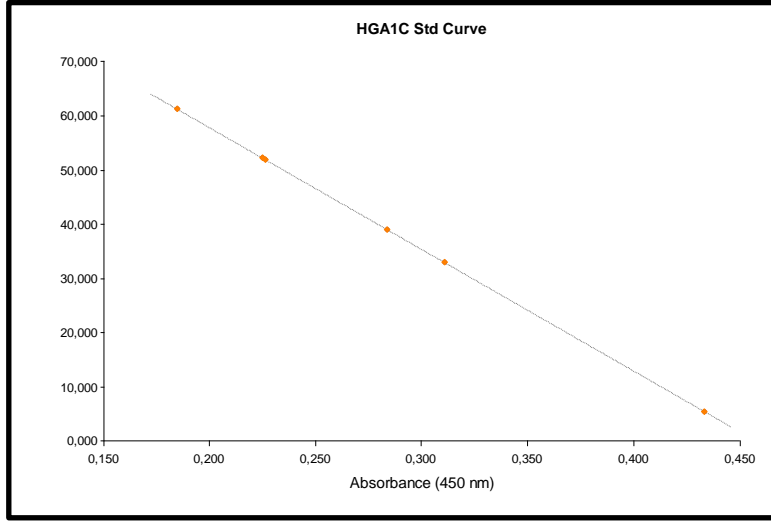
Şekil 7. Serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (Kontrol) ve serum fizyolojik (DM), 1 g/kg metformin (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin (MNS-45+DM) uygulanan diyabetik sıçanların vücut ağırlıkları,

0. haftaya göre anlamlı farklılık $^{**}p<0.01$, $^{***}p<0.001$; 4. haftaya göre anlamlı farklılık $^b p<0.01$, $^c p<0.001$; 4. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $^{xxx}p<0.001$; 5. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $^{**}p<0.01$, $^{+++}p<0.001$; 6. hafta kontrol grubuna göre anlamlı farklılık $^c p<0.05$, $^{cc}p<0.01$, $^{ccc}p<0.001$; 5. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık $^p<0.05$; 6. hafta DM grubuna göre anlamlı farklılık $^p<0.05$, $^{<<p}<0.01$, $^{<<<p}<0.001$, Çift yönlü tekrarlı varyans analizi, takiben Bonferroni çoklu karşılaştırma testi, $n=7$.

Hemogloblin A1c değerlerinin ölçümüne ilişkin bulgular

Şekil 8'de bilinen standart konsantrasyonlar (0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 ng/ml) ile çizilen standart HbA1c grafiği verilmiştir. 14 gün boyunca her gün düzenli olarak serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (kontrol) ve serum fizyolojik, 1 g/kg metformin, 30 mg/kg ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabetik sıçanların kanlarındaki HbA1c miktarları çizilen bu standart grafiğe göre ng/mL olarak hesaplanmıştır. Tablo 2, 14 gün boyunca her gün düzenli olarak serum fizyolojik uygulanan

normoglisemik (kontrol) ve serum fizyolojik, 1 g/kg metformin, 30 mg/kg mianserin ve 45 mg/kg mianserin uygulanan diyabetik sıçanların, standart grafik kullanılarak hesaplanan HbA1c miktarlarını göstermektedir [F (4,34)= 41.09, $P<0.001$]. Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları diyabetik sıçanların HbA1c miktarlarının, normoglisemik sıçanlara göre anlamlı biçimde arttığını göstermiştir. Diyabetik hayvanlarda artan HbA1c değerleri gerek metformin (1 g/kg), gerekse mianserin (hem 30 hem de 45 mg/kg) uygulamalarına bağlı olarak anlamlı ölçüde azalmıştır.



Şekil 8. Standart HbA1c grafiği

Tablo 2. 14 günlük uygulamaların bitiminde serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (Kontrol) ve serum fizyolojik (DM), 1 g/kg metformin (Metformin+DM), 30 mg/kg mianserin (MNS-30+DM) ve 45 mg/kg mianserin (MNS-45+DM) uygulanan diyabetik sıçanların HbA1c miktarları,

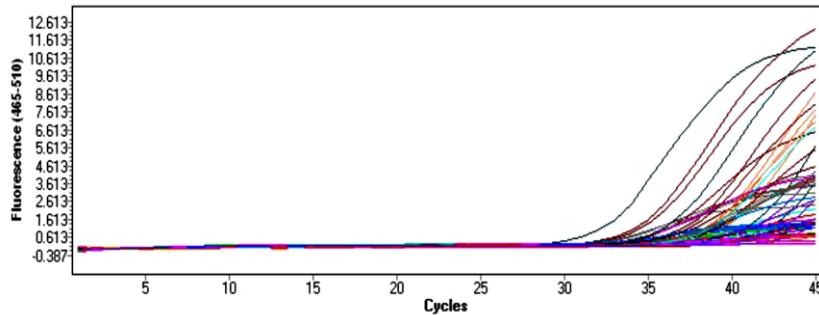
Gruplar	HbA1c Miktarları (ng/ml)
Kontrol (normoglisemik)	24.40 ± 2.44
DM	75.25 ± 3.22***
Metformin+DM	56.11 ± 2.60***,c
MNS-30+DM	51.04 ± 3.31***,c
MNS-45+DM	60.56 ± 2.82***,b

Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ***p<0.001; Diyabetik gruba göre anlamlı farklılık ^bp<0.01, ^cp<0.001. Tek yönlü varyans analizi, takiben Tukey çoklu karşılaştırma testi, n=7

Pankreas dokusunda INS-1 mRNA ekspresyonlarına ilişkin bulgular

Deney gruplarına ait İns1 ve Actb genlerinin RT-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 9'de verilmiştir. Tablo 3, 14 gün boyunca her gün düzenli olarak serum fizyolojik uygulanan normoglisemik (kontrol), serum fizyolojik uygulanan diyabetik ve 30 mg/kg mianserin uygulanan diyabetik sıçanlarda İns1 ve Actb genlerin RT-PCR sonunda elde edilen eşik

değerlerini göstermektedir. RT-PCR analiz sonuçları, diyabetik sıçanların İns1 mRNA ekspresyon düzeylerinin normoglisemik sıçanlara göre anlamlı biçimde azaldığına işaret etmiştir. Diyabetik hayvanlarda azalan İns1 geni CP değerleri mianserin (30 mg/kg) uygulamalarına bağlı olarak artmıştır. İns-1 mRNA ekspresyon düzeyi mianserin verilen diyabetik hayvanlarda kontrole göre 15 kat artış göstermiştir (Tablo 3).



Şekil 9. İns1 ve Actb genlerinin RT-PCR amplifikasyon eğrisi.

Tablo 3. Örnek ve referans genlerin RT-PCR sonunda elde edilen eşik değerleri (CP)

Gruplar	Target/Referans	Normalize Değerler
Kontrol (normoglisemik)	6.103	1.000
DM	0.9629	0.1578
MNS-30+DM	92.35	15.13

TARTIŞMA

STZ seçici olarak pankreatik β hücrelerinde hasara, dolayısıyla hipoinsülinemiye ve hiperglisemiye neden olan bir toksindir²⁴. Kemirgenlere STZ uygulanması ile oluşan hiperglisemik tablo deneysel bir diyabet modeli olarak sıklıkla kullanılmaktadır²⁵. STZ, vücuttan hızla atıldığı için diyabetik hayvanlarda görülen farklılıkların STZ'den değil, diyabetin kendisinden kaynaklandığı kabul edilmektedir²⁶.

Çalışmamızda STZ uygulamasını izleyen 4. haftada ölçülen kan glukoz değerlerinin 0. hafta kan glukoz değerlerine göre anlamlı biçimde arttığı görülmektedir (Şekil 1). Bu bulgu, STZ-aracılıklı diyabet modelinin başarılı biçimde oluşturulduğunu ortaya koymaktadır. Bu çalışmada açlık kan glukoz değerlerine ilişkin olarak elde edilen veriler, mianserin'in normoglisemik sıçanların glisemi değerlerini etkilemediğini ortaya koymuştur (Tablo 1). Diğer yandan diyabetik sıçanların artmış kan glukoz seviyeleri gerek metformin, gerekse mianserin (30 ve 45 mg/kg) uygulamaları ile anlamlı ölçüde azalmıştır. Mianserin'in 30 mg/kg dozunun 14 günlük uygulanmasının 7 günlük uygulamadan daha etkili olduğu dikkati çekmektedir. Ayrıca, 14 günlük uygulamaların sonuçları değerlendirildiğinde, mianserin'in 30 mg/kg dozunun diyabetik sıçanların kan glukozunu düşürmekte 45 mg/kg'dan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Öyle ki, mianserin'in 30 mg/kg dozu, kan glukozunu düşürmekte metformin (1 g/kg) kadar etkili bulunmuştur (Şekil 1).

OGTT testine ilişkin veriler diyabetik hayvanların glukoz yüklemesini takiben 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda ölçülen kan glukoz değerlerinin, karşılık gelen kontrol grubu değerlerinden anlamlı biçimde yüksek olduğuna işaret etmiştir. Metformin ve mianserin (30 ve 45 mg/kg) tedavisi almış olan hayvanların 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda ölçülen kan glukoz değerlerinin, DM grubuna göre düşük olması, gerek metformin'in gerekse mianserin'in diyabetik sıçanların glisemik kontrolü üzerine olumlu etki gösterdiği şeklinde yorumlanabilir. Bu çalışmada, 30 mg/kg mianserin uygulanan grubun 30. ve 60. dakikalarda ölçülen kan

glukoz değerleri, 45 mg/kg mianserin uygulanan grubun söz konusu dakikalarda ölçülen kan glukoz değerlerinden anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. OGTT sonuçları değerlendirildiğinde, metformin uygulanan grup ile 30 mg/kg mianserin uygulanan grup arasında hiçbir dakikada anlamlı bir fark oluşmadığı görülmüştür (Şekil 2).

Açlık kan glukoz değerlerine ilişkin bulgular, OGTT'ye ilişkin bulgular ile birlikte değerlendirildiğinde, mianserin'in hem 30 hem de 45 mg/kg dozlarında subakut uygulamasının diyabetik hayvanların yüksek kan glukoz seviyelerinde düşüşe neden olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Mianserin'in normoglisemik hayvanların kan glukoz seviyeleri üzerine anlamlı bir etki göstermeksizin (Tablo 1) diyabetik hayvanların yüksek kan glukoz seviyelerinde düşüşe neden olması (Şekil 1 ve 2), söz konusu etkinin diyabetik koşullarda ortaya çıkan "antihiperglisemik" bir etki olduğuna işaret etmektedir. Bu bulgu mianserin kullanan diyabetik hastalarda glisemik kontrolün etkilenmesi açısından anlamlı olabilir. Ayrıca, antihiperglisemik etkinlik açısından mianserin'in 30 mg/kg dozunun 45 mg/kg dozundan daha etkili olması, mianserin'in antihiperglisemik etkisinin bifazik olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmanın ikinci basamağında, subakut mianserin uygulamasının gerek normoglisemik gerekse diyabetik hayvanların metabolik parametreleri üzerine etkisinin araştırılması amacıyla, metabolik kafes ölçümleri yapılmıştır. Metabolik kafes ölçümlerine ilişkin bulgular, mianserin'in normoglisemik sıçanların yem ya da su tüketimi üzerinde her hangi bir etkiye neden olmadığını ortaya koymuştur. Benzer biçimde, mianserin uygulanmış normoglisemik hayvanların idrar ya da dışkı atılımında, tedavi uygulanmamış hayvanlara göre anlamlı bir fark oluşmamıştır (Tablo 1).

Diğer yandan, STZ enjeksiyonunu izleyen 4. hafta yapılan ölçümlerde, diyabetik sıçanların su tüketimlerinin anlamlı biçimde arttığı görülmüştür (Şekil 3). Polidipsi'nin diyabetik hayvanlarda hiperglisemiye bağlı olarak hücre içi ve hücre dışı dehidratasyon ve yüksek miktarlarda su kaybı

sonucu oluştuğu bilinmektedir²⁷. Bu çalışmada, gerek metformin gerekse mianserin (30 ve 45 mg/kg) uygulamaları diyabetik sıçanlardaki polidipsi'yi anlamlı lde azaltmıştır. Mianserin'in 30 mg/kg dozunun 14 günlük uygulanmasının 7 günlük uygulamadan daha etkili olduğu dikkati çekmektedir. 14 günlük uygulamaların sonuçları değerlendirildiğinde, mianserin'in 30 mg/kg dozunun diyabetik polidipsiyi dzetmekte 45 mg/kg'dan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Mianserin'in 30 mg/kg dozu, artmış su tüketimini düzeltmekte metformin (1 g/kg) kadar etkili bulunmuştur.

Çalışmamızda, diyabetik hayvanlarda polidipsi ile birlikte polirinin de geliştiği grlmştir (şekil 4). Diyabette hipergliseminin ve hücre dışı sıvılardaki artmış ozmotik basıncın, hücre içerisindeki suyun ozmotik olarak hücre dışına taşınmasına, yani hücrelerde dehidratasyona neden olduğu bilinmektedir. Glukozun ozmotik etkisi renal tübüllerde sıvıların tübüler geri emilimini büyük oranda azaltmakta ve idrarla yüksek lde sıvı kaybedilmektedir²⁸. Bu çalışmada, gerek metformin gerekse mianserin (30 ve 45 mg/kg) uygulamaları diyabetik sıçanlarda ortaya çıkan poliüri tablosunu anlamlı biçimde düzeltmiştir. Mianserin'in 30 mg/kg dozunun 14 günlük uygulanmasının 7 günlük uygulamadan daha etkili olduğu dikkati çekmektedir. Ayrıca, 14 günlük uygulamaların sonuçları değerlendirildiğinde, mianserin'in 30 mg/kg dozunun diyabetik sıçanlardaki poliüriyi düzeltmekte 45 mg/kg'dan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Mianserin 30 mg/kg dozda, metformin (1 g/kg) kadar etkili bulunmuştur (şekil 4).

STZ enjeksiyonunu izleyen 4. hafta yapılan ölçümlerde, diyabetik sıçanların yem tüketimlerinin de anlamlı biçimde arttuğu grlmştir (şekil 5). Diyabetik hayvanlardaki hiperfajinin santral sinir sisteminde besin alımı ve enerji metabolizmasını düzenlemekte görevli hormonlar olan, insülinin ve leptinin miktarlarındaki azalma ile ilişkili olabileceği ileri srlmřtir²⁹⁻³¹. Gerek metformin gerekse mianserin (30 ve 45 mg/kg) uygulamaları diyabetik sıçanlardaki hiperfajiyi anlamlı biçimde azaltmıştır. 14 günlük uygulamaların sonuçları değerlendirildiğinde, mianserin'in 30 mg/kg dozunun diyabetik hiperfajiyi düzeltmekte 45 mg/kg'dan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Mianserin 30 mg/kg dozda hiperfajiyi düzeltmekte metformin (1 g/kg) kadar etkili bulunmuştur (şekil 5).

Çalışmamızda, diyabetik hayvanlarda hiperfaji ile birlikte dışkı atılmalarının da arttuğu grlmştir (şekil 6). Diyabetik hayvanların dışkı miktarlarındaki artışın hiperfajinin yanı sıra insülin eksikliği nedeniyle tkutilen besinin vücut tarafından kullanılamamasına bağlı olması olası görünmektedir. Diyabetik sıçanlardaki dışkı artışı, metformin ve mianserin (30 ve 45 mg/kg) uygulamaları sonucu anlamlı biçimde azalmıştır. 14 günlük uygulamaların sonuçları değerlendirildiğinde, mianserin'in 30 mg/kg dozunun dışkı artışını azaltmakta 45 mg/kg'dan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Mianserin 30 mg/kg dozda metformin (1 g/kg) kadar etkili bulunmuştur (şekil 6).

Metabolik kafes ölçümlerinden elde edilen bulgular toparlandığında, diyabet oluşturulmuş sıçanlarda polidipsi, poliüri ve hiperfaji geliştiği grlmştir. Diyabetik hayvanların dışkı atılım miktarları hem diyabet öncesi dışkı atılım miktarlarına; hem de kontrol grubu hayvanların karşılık gelen haftadaki dışkı atılım miktarlarına göre anlamlı biçimde artmıştır. Referans ilaç olarak uygulanan metformin 1 g/kg dozda ve etkisi araştırılan mianserin 30 ve 45 mg/kg dozlarda diyabetik hayvanlarda meydana gelen metabolik bozuklukları istatistiksel olarak anlamlı biçimde düzeltmiştir. Diğer yandan, normoglisemik hayvanlarda yapılan ölçümler, mianserin'in normoglisemik sıçanların su ve yem tüketimini; idrar ve dışkı atılımını değerlemediğini ortaya koymuştur.

STZ enjeksiyonunu izleyen 4. hafta yapılan ölçümlerde, diyabetik sıçanların, normoglisemik sıçanlara göre önemli lde zayıfladıkları grlmştir. Diyabetik hayvanlarda vücut ağırlığındaki azalma, vücudun insülin eksikliği nedeniyle besin ögelerinden yararlanamaması ile ilgilidir. Gerek metformin gerekse mianserin uygulamaları diyabetik sıçanların vücut ağırlığındaki azalmayı anlamlı lde düzeltmiştir (şekil 7).

Mianserin'in normoglisemik hayvanların metabolik parametrelerini (Tablo 1) ya da vücut ağırlıklarını etkilemeksizin (Tablo 1) yalnızca diyabetik hayvanların bozulmuş metabolik parametrelerini düzeltici (şekil 3-6) ve ağırlık kayıplarını azaltıcı (şekil 7) etki göstermesi, bu ilacın diyabetik hayvanlardaki antihiperglisemik etkinliği ile ilişkili gibi görünmektedir. Nitekim mianserin'in kan glukozunu düşürmekte daha etkin olan 30 mg/kg dozu, metabolik parametreleri düzeltmek açısından da 45 mg/kg dozundan daha etkin bulunmuştur.

Açlık kan glukoz ölçümlerinde, OGTT'de, metabolik kafes takiplerinde ve vücut ağırlıklarına ilişkin ölçümlerde elde edilen tüm bulgular, mianserin'in antihiperglisemik etki gösterdiğine işaret ettiğinden, deney protokolünün sonunda diyabetik sıçanlara anestezi uygulanmış, kanları toplanmış ve HbA1c miktarları ölçülmüştür. Mianserin'in her iki dozunun da referans ilaç metformine benzer biçimde diyabetik hayvanlarda artan HbA1c değerlerini anlamlı ölçüde azalttığı belirlenmiştir (Tablo 2).

Elde edilen antihiperglisemik etkiden hareketle, bu çalışmada mianserin'in insülin ekspresyonu (İns-1 mRNA ekspresyonu) üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığı da araştırılmıştır. PCR sonuçları, diyabetik sıçanların İns1 mRNA ekspresyon düzeylerinin, normoglisemik sıçanlara göre anlamlı biçimde azaldığını göstermiştir. Mianserin'in antihiperglisemik etkinlik açısından daha güçlü olan 30 mg/kg'lık dozu diyabetik hayvanlarda azalan İns1 geni CP değerlerini anlamlı ölçüde artırmıştır (Tablo 3). Bu bulgular mianserin'in antihiperglisemik etkisine insülin sentezindeki artışın katkıda bulunmuş olabileceğini düşündürmekle birlikte, bu düşüncüyü doğrulamak ve İns1 mRNA ekspresyon analiz sonuçlarını desteklemek için İns1 protein analizleri gibi ek çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Sonuç olarak, bu araştırma ile mianserin'in 30 ve 45 mg/kg dozlarda 7 ve 14 gün süre subakut uygulamasının STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda görülen hiperglisemiyi ve artmış HbA1c değerlerini azalttığı; diyabete bağlı olarak ortaya çıkan polidipsi, poliüri ve hiperfaji gibi metabolik parametreleri etkin biçimde düzelttiği ve vücut ağırlığındaki kaybı anlamlı biçimde azalttığı ortaya konulmuştur. Mianserin'in metformine yakın antihiperglisemik etkinliği bu çalışma ile ilk kez ortaya konulmuştur. Mianserin'in antihiperglisemik etkisinin moleküler mekanizmalarının aydınlatılabilmesi için bu ilacın diyabetik koşullarda insülin salınımı, dokuların insüline duyarlılıkları ya da barsaklardan/böbreklerden karbonhidrat emilimi gibi işlevler üzerine olası etkilerinin kapsamlı biçimde araştırılması gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No. 1105S084).

KAYNAKLAR

1. World Health Organisation Department of Noncommunicable Disease Surveillance. Definition, diagnosis and classification of Diabetes mellitus and it's complications, Geneva: Published by World Health Organisation. 1999:2.
2. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. Med Sci Monit. 2006;12:RA130-RA147.
3. Wolfsdorf J, Glaser N, Sperling MA. Diabetic ketoacidosis in infants, children, and adolescents: A consensus statement from the American Diabetes Association. Diabetes Care. 2006;29:1150-9.
4. Sima AAF, Kamiya H, Li ZG. Insulin, C-peptide, hyperglycemia, and central nervous system complications in diabetes. Eur J Pharmacol. 2004;490:187-97.
5. Craft S. Insulin resistance syndrome and Alzheimer disease: pathophysiologic mechanisms and therapeutic implications. Alzheimer Dis Assoc. Disord. 2006;20:298-301.
6. Pasquier F, Boulogne A, Leys D, Fontaine P. Diabetes mellitus and dementia. Diabetes Metab. 2006;32:403-14.
7. Shrivastava RK, Edwards D. Hypoglycemia associated with imipramine. Biol Psychiatry. 1983;18:1509-10.
8. Zogno MG, Tolfo L, Draghi E. Hypoglycemia caused by maprotiline in a patient taking oral antidiabetics. Ann Pharmacother. 1994;28:406.
9. Isotani H, Kameoka K. Hypoglycemia associated with maprotiline in a patient with type I diabetes. Diabetes Care 1999;22:862-63.
10. Lustman PJ, Freedland KE, Griffith LS, Clouse RE. Fluoxetine for depression in diabetes: a randomized double-blind placebo-controlled trial. Diabetes Care. 2000;23:618-23.
11. Lustman PJ, Griffith LS, Clouse RE, Freedland KE, Eisen SA, Rubin EH et al. Effects of nortriptyline on depression and glycaemic control in diabetes: results of a double-blind, placebo-controlled trial. Psychosom Med. 1997;59:241-50.
12. McIntyre RS, Soczynska JK, Konarski JZ, Kennedy SH. The effect of antidepressants on glucose homeostasis and insulin sensitivity: synthesis and mechanisms. Expert Opin Drug Saf. 2006;5:157-68.
13. Marshall RJ. The pharmacology of mianserin. An update. Br J Clin Pharmacol. 1983;15:263-8.
14. Pinder RM. Adrenoreceptor interactions of the enantiomers and metabolites of mianserin: are they responsible for the antidepressant effect? Acta Psychiatr Scand. 1985;72:1-9.
15. Schreiber S, Backer MM, Kaufman JP, Pick CG. Interaction between the tetracyclic antidepressant mianserin HCl and opioid receptors. Eur. Neuropharmacol. 1998;8:297-302.

16. Pakulska W, Czarnecka E. Influence of mianserin on the antinociceptive effect of morphine, metamizol and indomethacin in mice. *Pharmacol Res.* 2002;46:415-23.
17. Pospisilik JA, Martin J, Doty T, Ehses JA, Pamir N, Lynn FC et al. Dipeptidyl peptidase IV inhibitor treatment stimulates beta-cell survival and islet neogenesis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes.* 2003;52:741-50.
18. Skalska S, Kyselova Z, Gajdosikova A, Karasu C, Stefek M, Stolc S. Protective effect of stobadine on NCV in streptozotocin-diabetic rats: augmentation by vitamin E. *Gen. Physiol Biophys.* 2008;27:106-14.
19. Can ÖD, Öztürk Y, Öztürk N, Sagratini G, Ricciutelli M, Vittori S et al. Effects of treatment with St. John's Wort on blood glucose levels and pain perceptions of streptozotocin-diabetic rats. *Fitoterapia.* 2011;82:576-84.
20. Drenska D, Varadinova M, Boyadjieva N, Bozhilova-Pastirova A. Effect of anthocyanins and mianserin on neuronal density in rat hippocampus in a model of oxidative stress. *Pharmacology online.* 2008;2:133-8.
21. Ong KW, Hsu A, Song L, Huang D, Tan BK. Polyphenols-rich *Vernonia amygdalina* shows anti-diabetic effects in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2011;133:598-607.
22. Vijayaraghavan K, Iyyam Pillai S, Subramanian SP. Design, synthesis and characterization of zinc-3 hydroxy flavone, a novel zinc metallo complex for the treatment of experimental diabetes in rats. *Eur J Pharmacol.* 2012;680:122-9.
23. Gupta S, Rifci V, Crowley S, Brownlee M, Shan Z, Schlondorff D. Interactions of LDL and modified LDL with mesangial cells and matrix. *Kidney Int.* 1992;41:1161-9.
24. Rakieten N, Rakieten L, Nadkarni MV. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin. *Cancer Chemother Rep.* 1963;29:91-8.
25. Sumiyoshi T, Ichikawa J, Meltzer HY. The effect of streptozotocin-induced diabetes on dopamine[2], serotonin[1A] and serotonin[2A] receptors in the rat brain. *Neuropsychopharmacology* 1997;16:183-90.
26. Hirano S, Miyata S, Onodera K, Kamei J. Effects of histamine H (1) receptor antagonists on depressive-like behavior in diabetic mice. *Pharmacol Biochem. Behav.* 2006;83:214-20.
27. Hall JE Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 12th ed., Philadelphia, Saunders Elsevier. 2011.
28. Kim D, Sands JM, Klein JD. Role of vasopressin in diabetes mellitus-induced changes in medullary transport proteins involved in urine concentration in Brattleboro rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;286:760-6.
29. Havel PJ, Uriu-Hare JY, Liu T, Stanhope KL, Stern JS, Keen CL, Ahren B. Rapid and marked decreases of circulating leptin in streptozotocin diabetic rats: reversal by insulin. *Am J Physiol.* 1998;274:1482-91.
30. Sivitz WI, Walsh S, Morgan D, Donohue P, Haynes W, Leibel RL. Plasma leptin in diabetic and insulin-treated diabetic and normal rats. *Metabolism.* 1998;47:584-91.
31. 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;964:128-35.