

A diabétesz mellitusz és a depresszió közös
patofiziológiai útvonalai:
fókuszban a *brain-derived neurotrophic factor*

Doktori értekezés

Lénárt Lilla Katalin

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Fekete Andrea, Ph.D, egyetemi adjunktus

Hivatalos bírálók: Dr. Hosszúfalusi Nóra, Ph.D, egyetemi docens
Dr. Haris Ágnes, Ph.D, főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Prohászka Zoltán, D.Sc. egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Mikics Éva, Ph.D, tudományos főmunkatárs
Dr. Kökény Gábor, Ph.D, egyetemi adjunktus

Budapest
2017

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK.....	4
ÁBRÁK ÉS TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE.....	7
1. BEVEZETÉS – IRODALMI HÁTTÉR.....	9
1.1. A DIABÉTESZ MELLITUSZ	9
1.1.1. A diabétesz mellitusz előfordulása.....	9
1.1.2. A diabétesz mellitusz klasszifikációja.....	10
1.1.3. A diabétesz mellitusz tünetei.....	11
1.1.4. A diabétesz mellitusz diagnózisa	12
1.1.5. A diabétesz mellitusz szövődményei	12
1.2. A DIABÉTESZES NEFROPÁTIA.....	13
1.2.1. A diabéteszes nefropátia előfordulása, gyakorisága	13
1.2.2. A diabéteszes nefropátia tünetei.....	13
1.2.3. A diabéteszes nefropátia patogenezise	14
1.2.4. A diabéteszes nefropátia kezelése	15
1.3. A RENIN-ANGIOTENZIN-ALDOSZTERON RENDSZER.....	16
1.3.1. A „klasszikus” renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer	16
1.3.2. Lokális agyi renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer	17
1.4. A KRÓNIKUS VESEELÉGTELENSÉG ÉS A DEPRESSZIÓ KAPCSOLATA.....	20
1.5. A DEPRESSZIÓ	20
1.5.1. A depresszió előfordulása, gyakorisága.....	20
1.5.2. A depresszió tünetei, diagnózisa	21
1.5.3. A depresszió kezelése.....	22
1.6. A CUKORBETEGSÉG ÉS A DEPRESSZIÓ KÖZÖTTI KAPCSOLAT.....	23
1.6.1. Immunológiai tényezők és az oxidatív stressz	24
1.6.2. Endokrinológiai vonatkozások.....	25
1.6.3. Brain-derived neurothrophic factor	27
1.6.4. Brain-derived neurotrophic factor és depresszió.....	29
1.6.5. A sigma-1 receptor és a brain-derived neurotrophic factor kapcsolata.....	29
2. CÉLKITŰZÉSEK	33
3. MÓDSZEREK	34
3.1. KÍSÉRLETI ÁLLATOK	34
3.2. KEZELÉSI PROTOKOLL.....	34
3.3. DEPRESSZIÓ-SZERŰ VISELKEDÉS KIMUTATÁSA	37
3.3.1. Porond teszt.....	38
3.3.2. Erőltetett úszás teszt.....	39
3.4. VÉRNYOMÁSMÉRÉS	40
3.5. LABORATÓRIUMI (METABOLIKUS ÉS RENÁLIS) PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA.....	40
3.6. SZÖVETTANI VIZSGÁLATOK	40
3.6.1. Perjódsav - Schiff (PAS) festés.....	40
3.6.2. Fibronektin immunhisztokémiai festés	41

3.7. SZÉRUM BDNF ÉS VIZELET MIKROALBUMINÚRIA MÉRÉSE ENZIMMEL KÖTÖTT IMMUNOSZORBENS TECHNIKÁVAL (ELISA)	41
3.8. MRNS IZOLÁLÁS ÉS VALÓS IDEJŰ REVERZ TRANSZKRIPCIÓS POLIMERÁZ-LÁNCREAKCIÓ (RT-PCR)	42
3.9. WESTERN-BLOT ANALÍZIS	43
3.10. STATISZTIKAI ELEMZÉS	44
4. EREDMÉNYEK	45
4.1. I. KÍSÉRLETSOROZAT: S1R AGONISTA FLU KEZELÉS T1DM ÁLLATMODELLBEN .	45
4.1.1. A FLU hatása a metabolikus paraméterekre T1DM állatmodellben.....	45
4.1.2. Neuroendokrin paraméterek és szérum BDNF szint változása T1DM állatmodellben	46
4.1.3. A FLU mérsékli a DM-indukált depresszió-szerű viselkedést T1DM állatmodellben	46
4.1.4. A FLU növeli az agyi BDNF és S1R fehérjeszinteket T1DM állatmodellben	48
4.1.5. A DM és FLU nem befolyásolja a Bdnf és Sigmar1 mRNS expresszióját... 50	50
4.2. II. KÍSÉRLETSOROZAT: RAAS-GÁTLÓ KEZELÉS T1DM ÁLLATMODELLBEN.....	51
4.2.1. A RAAS-gátló szerek non-depresszor dózisának igazolása T1DM állatmodellben	51
4.2.2. A RAAS-gátló szerek javították a metabolikus paramétereket T1DM állatmodellben	51
4.2.3. A RAAS-gátló szerek javították a veseműködést T1DM állatmodellben.....	53
4.2.4. A RAAS-gátló szerek mérsékelték a DNP-re jellemző strukturális és fibrotikus elváltozásokat T1DM állatmodellben.....	54
4.2.5. Neuroendokrin paraméterek és szérum BDNF szint változása T1DM állatmodellben	57
4.2.6. A RAAS-gátló szerek javítják a DM-indukálta depresszió-szerű viselkedést T1DM állatmodellben	57
4.2.7. A RAAS-gátló szerek hatása az agyi prekursor és érett BDNF szint változásaira T1DM állatmodellben	59
4.2.8. A RAAS-gátlók fokozzák az agyi TrkB - ERK - CREB - Bcl2 szignalizációs útvonalat T1DM állatmodellben	60
4.2.9. A RAAS-gátlók az agyi p75Ntr - JNK - Bax szignalizációs útvonalat nem befolyásolják T1DM állatmodellben.....	62
5. MEGBESZÉLÉS	65
6. KÖVETKEZTETÉSEK.....	78
7. ÖSSZEFOGLALÁS	79
8. SUMMARY	80
9. IRODALOMJEGYZÉK	81
10. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK BIBLIOGRÁFIAI ADATAI	101
11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	103

RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK

ACE	Angiotenzin II konvertáló enzim (angiotensin converting enzyme)
ACTH	Kortikotropin (adrenocorticotropic hormone)
Akt	Protein kinase B
ANG	Angiotenzin
AOGEN	Angiotenzinogén
ARB	Angiotenzin II receptor blokkoló (angiotensin II receptor blocker)
AT	Angiotenzin receptor
Bax	Bcl2-associated X protein
Bcl2	B-cell lymphoma 2
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
BSA	Borjú szérum albumin (bovine serum albumin)
CaMK	Ca ²⁺ /calmodulin-dependent protein kinase
cDNS	Komplementer DNS
CREB	cAMP response element-binding protein
CRH	Kortikotropin-serkentő hormon (corticotropin-releasing hormone)
DM	Diabétesz mellitusz
DNP	Diabéteszes nefropátia
EGTA	Etilén-glikol-tetraecetsav
ENA	Enalapril
EPL	Eplerenon
ER	Endoplazmatikus retikulum
ERK	Extracellular signal–regulated kinase
FLU	Fluvoxamin maleát
Gab1	GRB2-associated-binding protein 1
GFR	Glomeruláris filtrációs ráta

GOT	Glutamát-oxálacetát aminotranszferáz
GPT	Glutamát-piruváttranszamináz
Grb2	Growth factor receptor-bound protein 2
HbA1c	Hemoglobin A1c
HDL	Magas denzitású lipoprotein (high density lipoprotein)
HPA	Hipotalamusz-hipofízis-mellékvese (hypothalamic–pituitary–adrenal)
IFG	Emelkedett éhomi vércukorszint (impaired fasting glucose)
IGT	Csökkenett glükóztolerancia (impaired glucose tolerance)
IL	Interleukin
IRS1/2	Insulin receptor substrate 1/2
JNK	c-Jun N terminal kinase
KIR	Központi idegrendszer
KVE	Krónikus veseelégtelenség
LOS	Lozartán
MAO	Monoamin-oxidáz
MEK	Mitogen-activated protein kinase kinases
MR	Mineralkortikoid-receptor
mTOR	Mammalian target of rapamycin
NE100	N,N-dipropil-2-[4-metoxi-3-(2-feniletóxi)-fenil]-etilamin monohidroklorid
NF-κB	Nuclear factor kappa-B
OGTT	Orális glükóztolerancia-teszt
p75Ntr	Neurotrophin receptor p75
PAI-1	Plazminogén aktivátor inhibitor-1
PAS	Perjódsav Schiff
PBS	Foszfát-pufferelt sóoldat (phosphate buffered saline)
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase

PLC	Phospholipase C
PLC γ	Phospholipase C gamma
PMSF	Fenil-metánszulfonil-fluorid
RAAS	Renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer
Raf	Serine/threonine-specific protein kinases
RAM	Ramipril
Ras	Small GTPase proteins
RIP2	Receptor interacting protein-2
Rn18s	18s riboszómális RNS
ROS	Reaktív oxigén származékok (reactive oxygen species)
RT-PCR	Valós idejű reverz transzkripció polimeráz-lánreakció (real-time polymerase chain reaction)
S1R	Sigma-1 receptor
SDS	Nátrium-dodecil szulfát
Shc	Adaptor proteins
SOS	Son of sevenless
SPI	Spirolakton
SSRI	Szelektív szerotonin visszavétel gátló (selective serotonin reuptake inhibitor)
STZ	Streptozotocin
T1DM	1-es típusú diabétesz mellitusz
T2DM	2-es típusú diabétesz mellitusz
TBS	Tris-pufferelt sóoldat (tris buffered saline)
TNF- α	Tumor necrosis factor alpha
TRAF4/6	TNF receptor-associated factor 4/6
TRIS	Trisz(hidroximetil)-aminometán
TrkB	Tropomyosin receptor kinase B

ÁBRÁK ÉS TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

Ábrák:

1. ábra. A cukorbetegség előfordulási gyakorisága a felnőtt populációban.
2. ábra. A klasszikus renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer felépítése és főbb elemei.
3. ábra. Agyi renin-angiotenzin rendszer.
4. ábra. A depresszió előfordulása világszerte.
5. ábra. A diabétesz mellitusz és a depresszió közötti feltételezett összefüggések.
6. ábra. A BDNF szignalizációs útvonalai.
7. ábra. A S1R szervi eloszlása.
8. ábra: A S1R és a BDNF közötti kapcsolat.
9. ábra. Az állatkísérlet menete.
10. ábra. Porond teszt.
11. ábra. Erőltetett úszás teszt.
12. ábra. Az erőltetett úszás teszt kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban.
13. ábra. Prekurzor és érett BDNF fehérjeszint kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban.
14. ábra. *Bdnf* és *Sigmar1* mRNS expresszió kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban.
15. ábra. Mezangiális mátrix kiterjedése kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatok veséiben.
16. ábra. A fibrózis mértéke kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatok veséiben.
17. ábra. Az erőltetett úszás teszt kontroll, kezeletlen és RAAS-gátló szerekkel kezelt diabéteszes állatokban.
18. ábra. Prekurzor és érett BDNF fehérjeszint kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban.

19. ábra. TrkB, pERK1/2, pCREB fehérjeszint kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban.
20. ábra. *Bcl2* mRNS expresszió kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban.
21. ábra. p75Ntr, pJNK fehérjeszint kontroll, kezeletlen és RAAS-gátló szerekkel kezelt diabéteszes állatok hippocampusában
22. ábra. *Bax* mRNS expresszió kontroll, kezeletlen és RAAS-gátló szerekkel kezelt diabéteszes állatok hippocampusában.

Táblázatok:

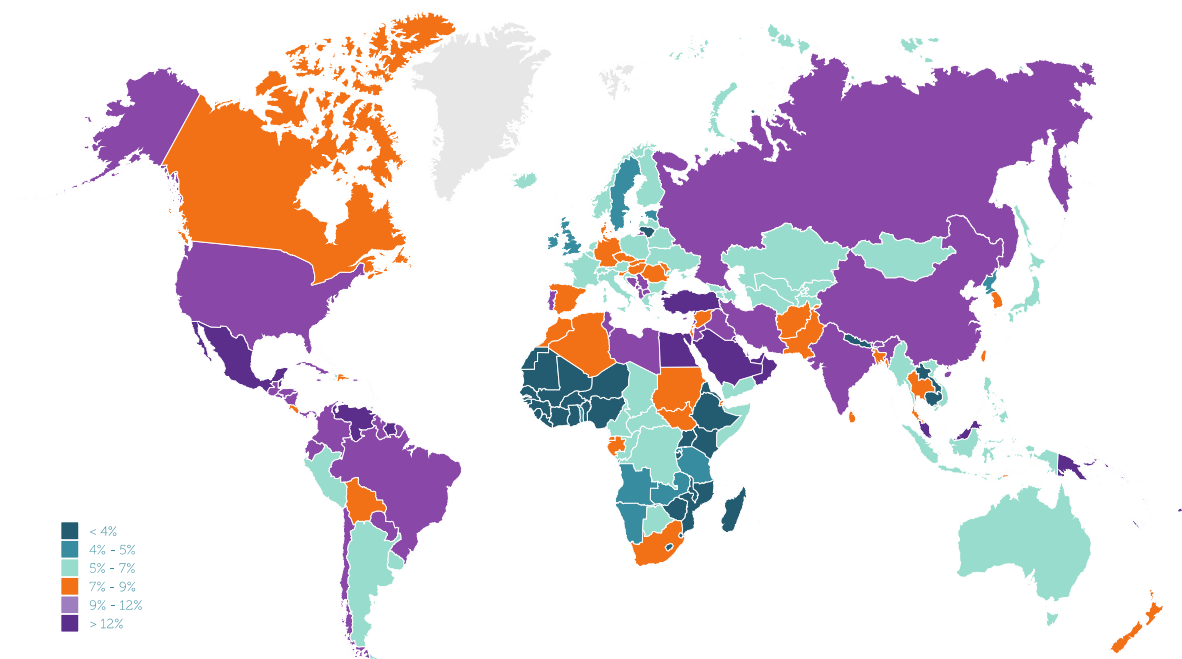
1. táblázat. A reverz transzkripció polimeráz-láncreakció során vizsgált gének és primereik.
2. táblázat. Metabolikus laborparaméterek kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban.
3. táblázat. Neuroendokrin paraméterek és szérum BDNF szint kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban.
4. táblázat. Az erőltetett úszás teszt mobilitási paraméterei és a porond teszt kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban.
5. táblázat. Artériás középnyomás értékek kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban.
6. táblázat. Metabolikus laborparaméterek kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban.
7. táblázat. Renális laborparaméterek kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban.
8. táblázat. Neuroendokrin paraméterek és szérum BDNF szint kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban.
9. táblázat. Az erőltetett úszás teszt mobilitási paraméterei és a porond teszt kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban.

1. BEVEZETÉS – IRODALMI HÁTTÉR

1.1. A diabétesz mellitusz

1.1.1. A diabétesz mellitusz előfordulása

A diabétesz mellitusz (DM) napjaink egyik civilizációs pandémiája, mely jelentős népegészségügyi, gazdasági és szociális terhet jelent elsősorban az euroatlanti társadalmak számára. Világszerte több mint 415 millió ember szenved cukorbetegségben, a Nemzetközi Diabétesz Társaság becslése szerint 2040-re a betegek száma meghaladhatja a 640 milliót (1. ábra). A statisztikai adatokat torzítja, hogy a felnőtt népesség közel felében (46,5%-ban) a betegség diagnosztizálatlan marad; azaz minden ismert esetre egy fel nem ismert cukorbeteg jut [1].



1. ábra. A cukorbetegség előfordulási gyakorisága a felnőtt populációban. (Nemzetközi Diabétesz Társaság ábrája) [1].

A betegség incidenciája és prevalenciája folyamatosan nő - Magyarországon is. Központi regiszter hiányában a hazai felnőtt cukorbetegek számáról nem rendelkezünk megbízható adatokkal [2]. A térségbeli külföldi statisztikák, illetve a világméretű trendek alapján a DM gyakorisága hazánkban 6-9%-ra becsülhető, vagyis több mint 600 000 ember szenved a betegségben és évente átlagosan 5-10%-kal nő az incidencia. A betegek ellátásának költsége a hosszan tartó kórlefolyás és a számtalan szövődmény miatt igen magas, Magyarországon meghaladja a GDP 0,65%-át, de az Egyesült Államokban ennek akár a duplája is lehet [3].

1.1.2. A diabétesz mellitusz klasszifikációja

A cukorbetegség egy krónikus szénhidrát-anyagcserezavar, melynek elsődleges kiváltó oka az inzulin termelődésének viszonylagos vagy teljes hiánya, illetve az inzulinhatás elmaradása. A kórosan megváltozott anyagcsere negatívan befolyásolja a fehérje- és zsír-, valamint a só-víz és sav-bázis háztartást is. A fennálló inzulinhiány következtében az inzulin-szenzitív sejtek nem képesek a cukor felvételére, így a magas vércukorszint ellenére szöveti glükózhiány alakul ki. A krónikusan fennálló, emelkedett vércukorszint számos szerv funkciózavarát és strukturális károsodását eredményezi [4].

A DM etiológiáját és patomechanizmusát tekintve is összetett kórkép; a csoportosítás az etiológiai klasszifikáción alapul. Négy fő entitás különíthető el: 1-es típus, 2-es típus, gesztációs DM, valamint egyéb speciális DM formák.

Az 1-es típusú DM (T1DM) az esetek megközelítőleg 10%-áért felelős. T1DM során a hasnyálmirigy béta-sejtjeinek pusztulása miatt teljes inzulinhiány alakul ki. A béta-sejtek apoptózisát autoimmun folyamatok eredményezik, melynek pontos oka egyelőre nem tisztázott, de a genetikai predispozíció mellett egyes környezeti faktorok hajlamosító szerepe is feltételezhető [5]. A betegség klinikai tünetei általában kisgyermek vagy adolescens korban kezdődnek, azonban a cukorbetegséget kialakító autoimmun folyamatok már sokkal korábban elindulhatnak [6].

A cukorbetegek több mint 90%-a *2-es típusú DM-ben (T2DM)* szenved. Ez a forma leginkább felnőttkorban, 35 év felett jelentkezik, legtöbbször obezitás ill. metabolikus szindróma részjelenségeként [7]; azonban az elhízás világméretű terjedésével párhuzamosan folyamatosan nő a gyermekkori esetek száma is. A

cukorbetegség kialakulásának oka ebben az esetben sem egyértelműen tisztázott. Az elhízás következtében megnövekedett viszcerális zsírszövet szerepe a béta-sejt diszfunkció és az inzulinrezisztencia kialakulásában azonban egyértelműnek látszik [8]. T2DM esetében meghatározó a genetikai háttér; cukorbetegség az elsőfokú rokonok között szinte minden esetben előfordul. Mindezek mellett számos környezeti hatás, pl. a dohányzás, mozgásszegény életmód is független hajlamosító tényező lehet.

A két klasszikus csoporton (T1DM és T2DM) kívül külön entitás a *gestációs DM*, melyben a szénhidrát-anyagcsere zavara a terhesség során manifesztálódik. A magas vércukorszint a várandósságot követően általában megszűnik, azonban ezekben a betegekben a későbbiekben gyakoribb a T2DM előfordulása [9].

Az egyéb, speciális DM formák (pl. a β -sejt vagy inzulinműködés genetikai hibái, gyógyszertoxicitás vagy infekció okozta DM) részletes ismertetése meghaladja a disszertáció kereteit.

1.1.3. A diabétesz mellitusz tünetei

A *diabetes mellitus* szó szerinti fordításban édes, bő vizeletürítést jelent, mely a vizeletben megjelenő cukorra utal. A betegség jellegzetes klasszikus tünetei a poliúria, polidipszia, valamint az egyéb okkal nem magyarázható fogyás napjainkban már inkább csak T1DM-ben jellemző. Egyes esetekben lábikragörcs és a kéz ujjainak zsibbadása is előfordulhat. Időnként homályos látás jelentkezik a hiperozmoláris csarnokvíz megváltozott fénytörése miatt. Mindezek mellett, a visszatérő, nehezen gyógyuló bakteriális és gombás fertőzések is cukorbetegséget jelezhetnek.

T2DM esetében – mivel évekig, évtizedekig tünetmentesen alakulhat – a betegség legtöbbször szűrővizsgálat, vagy egyéb kórállapot kapcsán végzett vérvételkor kerül felismerésre, de előfordul, hogy a már kialakult szövődmények kapcsán születik meg a diagnózis [7].

1.1.4. A diabétesz mellitusz diagnózisa

A klinikai tünetek megléte utalhat a cukorbetegségre, azonban a diagnózis felállításához elengedhetetlen a vércukorszint meghatározása. A hazai és nemzetközi ajánlások alapján a DM kórisme akkor állítható fel, ha:

- (1) az éhomi vércukorszint egyenlő, vagy meghaladja a 7 mmol/l értéket
- (2) a random vagy két órás orális glükóztolerancia-teszt (OGTT) vércukorértéke $\geq 11,1$ mmol/l.

Az amerikai ajánlások szerint a krónikusan magas vércukorszint megállapítására a hemoglobin A1c (HbA1c) meghatározása is alkalmas. Ennek alapján a DM diagnózisa kimondható, ha a HbA1c értéke egyenlő, vagy meghaladja a 6,5%-ot [10].

A DM és a normális glükóztolerancia közötti átmenet az emelkedett éhomi vércukorszint (IFG) és a csökkent glükóztolerancia (IGT) állapota. IFG akkor áll fenn, ha az éhomi vércukorérték 6,1 - 6,9 mmol/l és a két órás OGTT $< 7,8$ mmol/l. IGT akkor állapítható meg, ha az OGTT két órás értéke 7,8 - 11 mmol/l és az éhomi vércukorszint értéke < 7 mmol/l [2]. Mindkét állapot a szénhidrátanyagcsere zavarát jelzi, a betegek folyamatos követése és ellenőrzése indokolt.

1.1.5. A diabétesz mellitusz szövődményei

A cukorbetegség akut és krónikus szövődményeket okozhat. Az akut szövődmények közé tartozik a ketoacidózis és a hiperglikémiás hiperosmoláris állapot, valamint a hipoglikémia, melyek leginkább a nem megfelelően beállított inzulin-kezelés miatt alakulhatnak ki és akár végzetesek is lehetnek [11].

A krónikusan magas vércukorszint okozta glükóztotoxicitás, makro- és mikrovaszkuláris szövődmények kialakulásához vezet, melyek másodlagos sokszervi károsodást eredményeznek. Makroangiopátia során a nagyerek ateroszklerotikus elváltozásai fokozzák kardiovaszkuláris és cerebrovaszkuláris károsodás kockázatát. A mikroangiopátiás elváltozások a kisebb erek destrukciója révén jelentkeznek, melynek nyomán nefropátia, neuropátia és retinopátia alakulhat ki [12]. A továbbiakban a diabéteszes nefropátia (DNP) kerül részletesebb ismertetésre.

1.2. A diabéteszes nefropátia

1.2.1. A diabéteszes nefropátia előfordulása, gyakorisága

Az euroatlanti társadalmakban a DNP a felnőttkori krónikus veseelégtelenség (KVE) vezető oka, melynek prevenciója és kezelése napjainkban sem megoldott [13]. Az Egyesült Államokban a betegek akár 50%-ában DNP talaján alakul ki a veseműködés krónikus zavara, míg Magyarországon ez az arány 30-40% [14]. A KVE progressziója során végstádiumú veseelégtelenség alakul ki, ekkor az egyetlen terápiás lehetőség a vesepótló kezelés (dialízis vagy transzplantáció).

1.2.2. A diabéteszes nefropátia tünetei

A DNP a cukorbetegség bármelyik típusában előfordulhat. T1DM esetében a betegek mintegy 40%-ánál a diagnózistól számított 15-20 éven belül kialakul a veseműködés zavara. T2DM betegek 10-20%-ánál jelentkezik vesekárosodás, mely már az alapbetegség diagnózisának pillanatában jelen lehet [15].

A nefropátia klinikai diagnózisa a DM, valamint a mikroalbuminúria jelenléte (3-6 hónap eltéréssel legalább két alkalommal) mellett a glomeruláris filtrációs ráta (GFR) csökkenésén alapul. A mikroalbuminúria hiánya sem zárja ki azonban a DNP diagnózisát; renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer (RAAS) gátlók szedése – a társuló hipertónia miatt - okozhatja, hogy az albuminúria nem detektálható [14].

Az európai (Mogenssen-féle) klasszifikáció szerint, a DNP klinikai és szövettani képe alapján öt stádiumot különböztetünk meg [16]:

Az *első stádiumot* a vese hipertrófiája és hiperfiltrációja jellemzi, mely során GFR növekedés figyelhető meg. Ebben a fázisban még nem mutatható ki mikroalbuminúria, a mezangium és bazálmembrán ép szerkezetű.

A *második stádiumban* átmeneti mikroalbuminúria jelentkezhet, melynek leggyakoribb oka lázas állapot, húgyúti fertőzés vagy nagy fizikai megterhelés. A GFR továbbra is emelkedett. Szövettanilag már kimutatható a glomerulusok bazálmembránjának megvastagodása és a mezangiális mátrix felszaporodása.

A *harmadik stádiumban* a tartós mikroalbuminúria mellett emelkedett vérnyomás figyelhető meg. A GFR lehet álnormális vagy enyhe csökkenést látunk. A szövettani

elváltozások progrediálnak, azaz kifejezettebb a bazálmembrán megvastagodása és a mezangium kiszélesedése.

A *negyedik stádiumban* az albuminürítés fokozódik, makroalbuminúria alakul ki, a GFR jelentősen és visszafordíthatatlanul csökken. A fehérjeürítés akár olyan mértékű is lehet, hogy nefrózis szindróma jelentkezik. A szöveti struktúra elváltozásai az előrehaladott diabéteszes glomeruloszklerózis, az ateroszklerózis és a krónikus tubulo-intersticiális károsodás [17].

Az *ötödik stádium* a végstádiumú veseelégtelenség fázisa. A zsugorodott vesében a glomerulusvesztés miatt csökken a fehérjeürítés, a vese elveszíti kiválasztó működését és zavar lép fel a víz-elektrolit és sav-bázis háztartásban. Ekkorra a glomeruloszklerózis a glomerulusok több mint felében jelen van és erőteljes fibrotikus elváltozás figyelhető meg. A vese károsodása miatt csökken az eritropoetin mennyisége, mely anémia kialakulásához vezethet, zavart szenved a D-vitamin – vesében történő – aktív formává alakulása, ami a bélből csökkent kalciumfelszívódást és fokozott csontvesztést eredményez [18].

1.2.3. A diabéteszes nefropátia patogeneze

A DNP kialakulásában metabolikus okok, hemodinamikai elváltozások (intraglomeruláris nyomásemelkedés, hiperfiltráció) és genetikai predispozíció (pl: az aldóz-reduktáz polimorfizmusa) egyaránt szerepet játszanak [19]. A kóros folyamatokat elsődlegesen a hiperglikémia és a fokozott RAAS aktiváció indítja be. A magas vércukorszint nem-enzimatis glikáción keresztül glikációs végtermékek keletkezését eredményezi. A glikációs végtermékek a vesén keresztüli eliminációjuk során a glomerulus bazálmembrán megvastagodását és a mezangiális mátrix expanszióját idézik elő [20]. A hosszan fennálló hiperglikémia különböző gyulladási citokinek és növekedési faktorok termelődését is serkenti. Ezek a faktorok fokozzák a szabadgyök-képződést, amely az endoteliális glikokálix károsítása révén proteinúriát eredményez [21].

A hiperglikémia és a kórosan aktivált RAAS az enzimatis glikáción, hipoxián, hiperfiltráción és citokinhatásokon keresztül végső soron, egy ördögi kört kialakítva a vese teljes funkcionális és strukturális károsodásához vezetnek.

1.2.4. A diabéteszes nefropátia kezelése

Mivel a DNP kialakulásának elsődleges oka a krónikus hiperglikémia, ezért a terápia fő célja az euglikémiára, azaz normális vércukor – és HbA1c – értékre való törekvés [22]. Klinikai vizsgálatok alátámasztják, hogy intenzív vércukor kontroll mellett akár 50%-kal is csökkenthető a mikrovaszkuláris komplikációk (retinopátia, neuropátia, de főleg a DNP) kialakulásának esélye [23].

Hazai és nemzetközi ajánlások szerint mikro – vagy makroalbuminúria esetén – hipertónia hiányában is javasolt az angiotenzin II receptor blokkolók (ARB) vagy angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gátlók adása [24]. Multicentrikus, nagy betegszámú kohortokon végzett vizsgálatok alapján mindkét gyógyszer alkalmas a DNP progressziójának és a végállapotú veseelégtelenség kialakulásának lassítására [25]. ARB vagy ACE-gátló intolerancia esetén az egyik gyógyszer helyettesíthető a másikkal. A proteinúria hatékonyabb csökkentésének érdekében felmerült az ARB és ACE-gátlók együttes adása, azonban az újabb tanulmányok szerint a kombinált terápia nem eredményesebb a vesebetegség kezelésének szempontjából. Ezzel szemben a kombináció fokozhatja egyes mellékhatások, mint hiperkalémia, hipotenzio, szívelégtelenség kialakulásának valószínűségét és növelheti az ösztörtalitást [26, 27].

T1DM és T2DM betegen végzett vizsgálatok alátámasztják, hogy a RAAS-gátlók körébe tartozó aldoszteron antagonisták hatékonyan csökkentik az albuminúriát és lassítják a vesefunkció romlását [28]. Az aldoszteron antagonista spironolaktont a klinikai gyakorlatban már széles körben alkalmazzák monoterápiában vesebetegség indikációkkal járó betegségeknel, azonban a hazai ill. nemzetközi ajánlásokba egyelőre nem került be. Aldoszteron antagonisták alkalmazása esetén – hiperkalémizáló hatásuk miatt – a szérum kálium szint fokozott ellenőrzése szükséges.

A gyógyszeres terápia mellett a kezelés fontos eleme a fehérje- és sóbevitel csökkentése (napi fehérjebevitel: <0,8 g/ideális testsúlykg, sóbevitel: 3g/nap) a testsúly és vérnyomás normalizálása, a dohányzás elhagyása is [2, 24].

1.3. A renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer

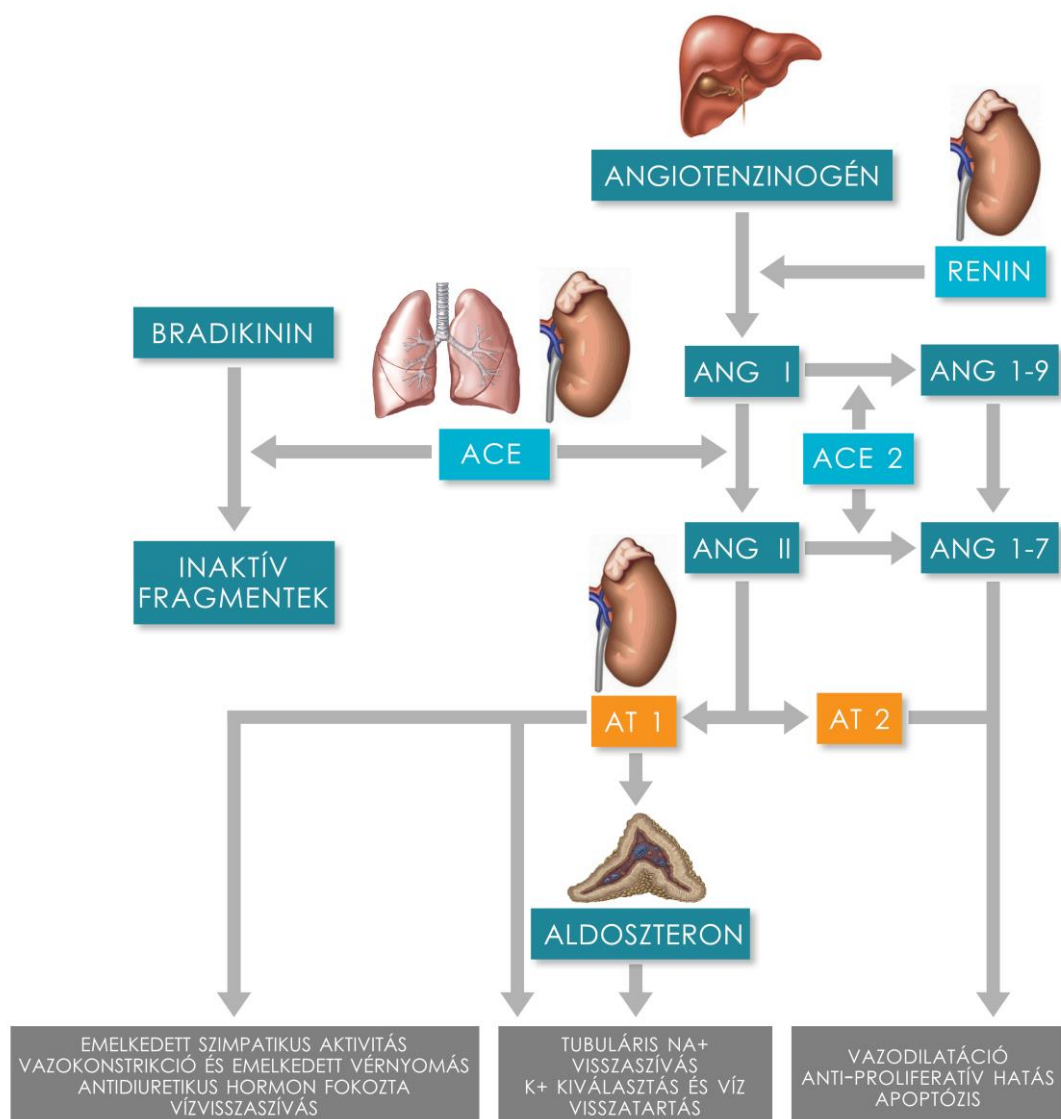
1.3.1. A „klasszikus” renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer

A szisztémás, vagy más néven klasszikus RAAS a vérnyomás, az elektrolit egyensúly és a szervezet vízháztartásának központi regulátora. A rendszer fő effektor molekulája az angiotenzin II (ANG II), mely a májban termelődő angiotenzinogén többlépcsős hasításából keletkezik [29]. Az angiotenzinogént először a vese juxtaglomeruláris apparátusában termelődő renin angiotenzin I-gyé (ANG I) hasítja [30]. A tüdő endotél ill. a vese epitél sejtjeinek felszínén lévő ACE az ANG I-et ANG II-vé alakítja [31]. Az ACE a vazodilatátor hatású bradikinin inaktiválásáért is felelős, így közvetve fokozza az erek összehúzódását [32].

Kimutatták, hogy az ANG II alternatív – ACE független – úton is kialakulhat a kimáz, kaboxipeptidáz, katepszin G vagy tonin enzimatikus aktivitása révén [33]. Az ACE másik izoformája, az ACE 2 ANG I-ből angiotenzin 1-9-et, ill. ANG II-ből angiotenzin 1-7 -et hasít [34]. E komplex rendszer degradációs termékei sok esetben ellentétes hatásúak.

Az ANG II az angiotenzin 1 (AT 1) és az angiotenzin 2 (AT 2) receptorokhoz kötődik. Az ANG II főként az AT 1-en keresztül vazokonstriktiót, gyulladást és fibrózist indukál [35]. A receptor aktivációja emellett fokozza a vazopresszin szintézisét és az adrenokortikotrop hormon, valamint a mellékvesekéreg aldoszteron elválasztását. Az aldoszteron hatására nő a vese kálium exkréciója és a nátrium reabszorpciója következményes víz visszaszívással, mely vérnyomás emelkedést eredményez.

Az AT 2 receptor szerepe és funkciója kevésbé tisztázott, egyes vizsgálatok szerint az AT 2 receptor az AT 1 aktivációjával ellentétes hatású, vagyis leginkább anti-proliferatív, vazodilatatív és gyulladáscsökkentő folyamatokat közvetít [36] (2. ábra).



2. ábra. A klasszikus renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer felépítése és főbb elemei. ANG I: angiotenzin I, ANG II: angiotenzin II, ACE: angiotenzin-konvertáló enzim, ACE 2: angiotenzin-konvertáló enzim 2, ANG 1-9: angiotenzin 1-9, ANG 1-7: angiotenzin 1-7, AT 1: angiotenzin receptor 1, AT 2: angiotenzin receptor 2.

1.3.2. Lokális agyi renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer

Az ANG II és az autonóm idegrendszer közötti kapcsolatot Bickerton és Buckley írta le először 1961-ben [37]. Nem sokkal később Ganten és munkatársai egyértelműen bizonyították, hogy az agyban – részben függetlenül a perifériás rendszertől – lokálisan is működik a szisztémás klasszikus RAAS valamennyi elemét tartalmazó és expresszáló agyi RAAS [38, 39].

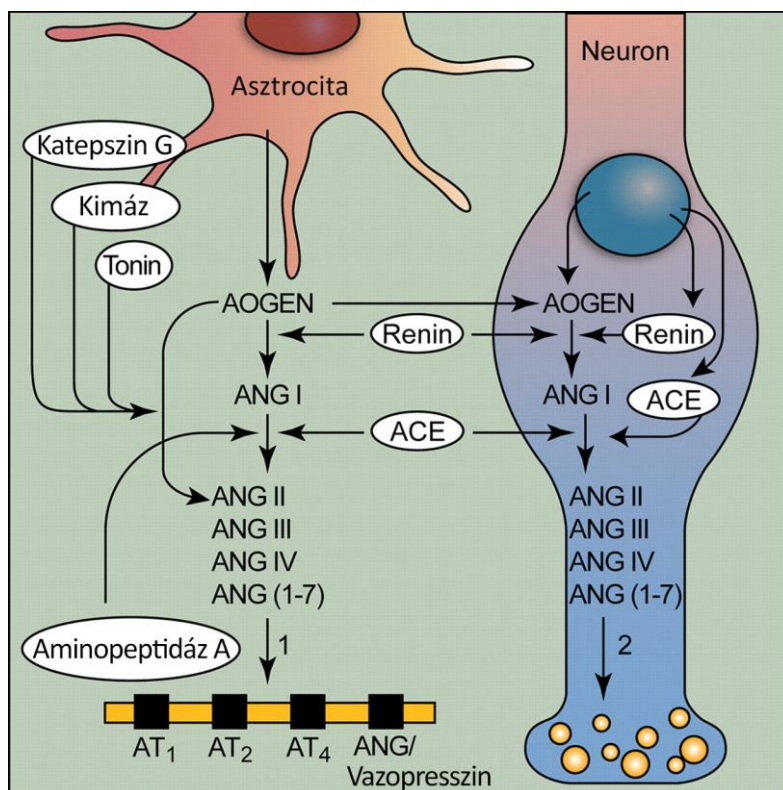
Valójában két, egymással kommunikáló RAAS található az agyban: (1) egy endogén rendszer, mely az idegsejtekben és a szinaptikus terekben a vér-agy gáton belül helyezkedik el és (2) egy olyan rendszer, amely a cirkumventrikuláris szerveken és a cerebrovaszkuláris endotél sejteken keresztül a perifériás szervekből származó ANG II hatását közvetíti [40].

Az agyban a renint a gliasejtek és neuronok termelik, főleg a hipotalamuszban és a hipofízisben. Az agyban relatíve alacsony a renin expressziója, és aktivitása az életkorral csökken [41-43]. Az angiotenzinogént főként az asztrociták, ill. kisebb mértékben a gliasejtek szintetizálják [44]. Az agyi RAAS elemek közül az ANG II a fő effektor molekula, mely legnagyobb mennyiségben a hipotalamusz, a hipofízis, a cortex, az amigdala, cerebellum és a hippokampusz régióiban termelődik [45].

Az idegrendszerben az ANG II kétféleképpen is kialakulhat: (a) egyrészt extracellulárisan, így inkább a neurohormonális funkciója dominál (b) másrészt az idegsejtek az angiotenzinogént felvehetik és intracellulárisan alakítják át ANG II-vé, ami ekkor neuro- vagy kotranszmitterként működik (3. ábra) [46]. Az agyban az AT 1 és az AT 2 mellett AT 4 receptor is kifejeződik, melynek szubsztrátjai az ANG II különböző metabolitjai: az angiotenzin III, IV és az angiotenzin 1-7 [47], melyek funkciója egyelőre részleteiben még nem ismert.

Jelenlegi tudásunk szerint az agyban aldoszteron nem termelődik [48]. Bár a vér-agy gáton az aldoszteron nehezen, de átjut és bekerül a központi idegrendszerbe (KIR), ahol nagy affinitással kötődik a nucleus tractus solitarii és a ventromediális hipotalamusz mag régiójában lévő neuronok minerálkortikoid-receptoraihoz (MR) [49].

Bár a rendszer összes funkciója és szabályozása még nem tisztázott, de bizonyított, hogy az agyi RAAS kiemelkedő szerepet játszik a centrális vérnyomás kontrollálásában. Morimoto és munkatársai agyi renin és angiotenzinogént termelő transzgénikus egérmodellben kimutatták, hogy az agyban lokálisan megemelkedett angiotenzinogén és renin szint hatására szisztémásan hipertónia alakul ki [50, 51]. Hasonlóan, normotenzív patkányok agyába ANG II-t juttatva a vérnyomás emelkedik, a baroreceptor reflex gátlás alá kerül, míg az AT 1 blokkoló lozartán a fenti hatásokat felfüggeszti [52]. Állatkísérletekkel igazolták továbbá, hogy az agyba közvetlenül juttatott aldoszteron emeli a vérnyomást, ami arra utal, hogy az agyi aldoszteron hatásnak is direkt szerepe lehet a vérnyomás szabályozásában [53].



3. ábra. Agyi renin-angiotenzin rendszer. Az angiotenzin II (ANG II) extra-, és intracellulárisan is kialakulhat az agyban. Az extracellulárisan keletkező ANG II főként neurohormonként funkcionál (1), míg az intracellulárisan képződő formája neurotranszmitter hatású (2). AOPEN: angiotenzinogén, ANG: angiotenzin, ACE: angiotenzin-konvertáló enzim, AT: angiotenzin-receptor. (Paul ábrája alapján módosítva) [40].

A vérnyomás szabályozáson kívül, az agyi RAAS részt vesz a hőháztartás és a lokomotoros aktivitás szabályozásában [54, 55], valamint fontos a memória kialakításában, viselkedési és tanulási folyamatokban is [56]. Állatkísérletes és klinikai vizsgálatok alátámasztják, hogy a lokális agyi RAAS fokozott működése szerepet játszik egyes idegrendszeri kórképek, mint pl. az Alzheimer kór [57], a Parkinson kór [58] és a depresszió [59] patomechanizmusában.

1.4. A krónikus veseelégtelenség és a depresszió kapcsolata

Cukorbetegségben jóval gyakoribbak a hangulatzavarok, köztük a depresszió előfordulása, mely rontja szövődmények – köztük a DNP progresszióját – így hamarabb alakul ki végstádiumú vesebetegség [60]. Ismert továbbá az is, hogy KVE-ben szenvedő betegek körében a depresszió és a szorongás a leggyakoribb pszichés probléma [61].

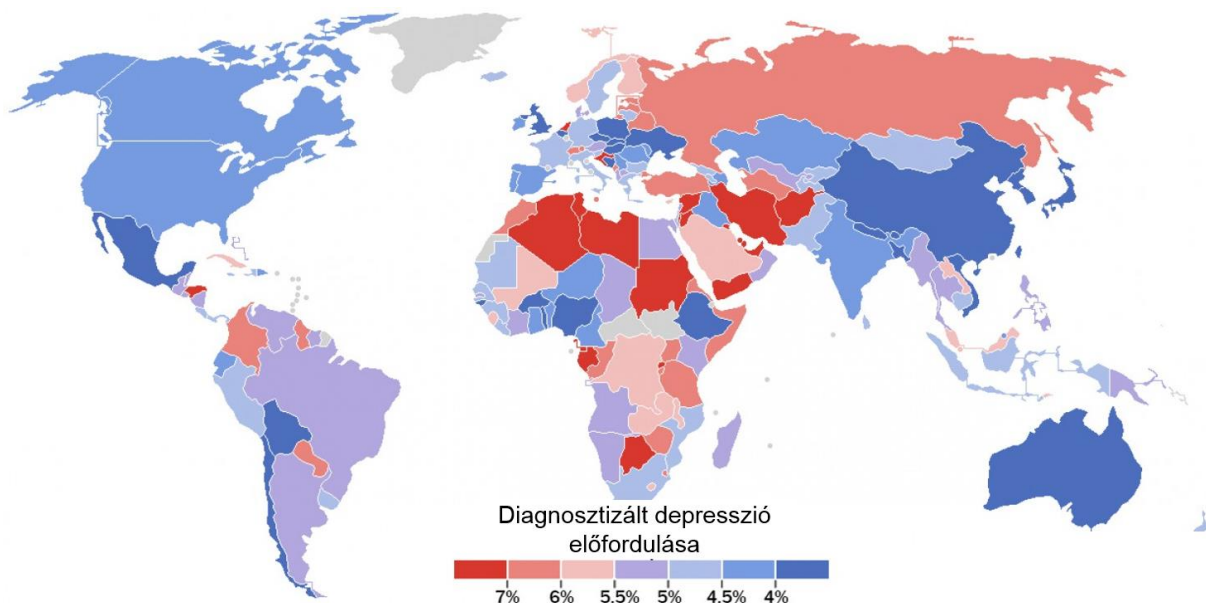
A depresszió előfordulása eltérő a különböző modalitású vesepótló kezelésben részesülők esetében. A legtöbb felmérés hemodializált betegeket vizsgál, akikben a depresszió gyakorisága 20 - 30% [62]; míg peritoneális dialízis esetében a prevalencia meghaladhatja a 40%-ot is [63]. Vesetranszplantált betegeknél egyértelműen ritkább a depresszió megjelenése (5 - 9%), mint a dializáltak körében [64].

A gyakori előfordulás ellenére a KVE-hez társuló depressziós tüneteket/tünetegyüttest gyakran nem ismerik fel és a betegek nem részesülnek megfelelő antidepresszáns kezelésben. A eddigi legnagyobb vizsgálat, a Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study alapján a depressziós betegeknek csak egyharmada kap megfelelő gyógyszeres terápiát [65]. A hangulatzavarok kezelése pedig mindenképpen indokolt lenne, hiszen a komorbid betegségek jelentősen rontják a terápiás együttműködést [66], az életminőséget [67] és növelik a mortalitást [68].

1.5. A depresszió

1.5.1. A depresszió előfordulása, gyakorisága

A depresszió a hangulatbetegségek körébe tartozó krónikus, ismétlődő epizódokból álló pszichiátriai kórkép, mely több mint 400 millió embert érint világszerte és a tíz leggyakoribb morbiditási és mortalitási ok között szerepel (4. ábra) [69].



4. ábra. A depresszió előfordulása világszerte. (Fisher ábrája alapján módosítva) [70].

1.5.2. A depresszió tünetei, diagnózisa

A depresszió a pszichiátriában tünetként (hangulat negatív irányú eltolódásaként), tünetcsoportként (a primer hangulatzavar mellett egyéb tünetek megjelenése) és betegségegységként (az affektivitás primer zavaraként) is értelmezhető.

A depresszió klinikailag magatartásbeli, szomatikus és vegetatív tünetegyüttesként jellemezhető. A tünetek csoportosítása és objektivizálása a Diagnostic and Statistical Manual-IV (DSM-IV) kritériumrendszer, valamint az International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD-10) protokollok alapján történik [71, 72]. Aszerint, hogy a tünetek közül mennyi van együttesen jelen, megkülönböztetünk enyhe, közepes és súlyos (major) depressziós epizódot. [73]. Major depresszió diagnózisa igazolható, ha a kilenc pontosan meghatározott tünet közül (hangulat negatív eltolódása, érdeklődés elvesztése, jelentős súlyváltozás, alvászavar, motoros nyugtalanság, vagy gátoltság, fáradtság, értéktelenség, vagy büntudat érzése, beszűkült gondolkodás, szuicid szándék, terv, vagy kísérlet) legalább öt tünet minimum két hétig fennáll, és a negatív hangulati eltolódás vagy a csökkent érdeklődés mindenképpen jelen van [73]. A betegség rutin, klinikai szűrésére számos validált kérdőív

létezik, leggyakrabban a Beck-, ill. Zung féle depresszió kérdőívet vagy a Kórházi szorongás- és depresszióskálát használják [74-76].

A tünetegyüttesek kialakításában számos agyi terület érintett. A hippokampusz és a prefrontális régió egyes kognitív tünetek – pl. a memória zavar, a büntudat és a reménytelenség érzés – kialakításáért felelős, a striátum és amigdala érintettsége okozza az anhedóniát és a csökkent motivációt, míg a hipotalamikus változások az étvágytalanság és az alvászavar megjelenéséhez vezetnek. Képzelt vizsgálatok is igazolták, hogy ezen agyi régiók neuronális összeköttetései mind funkcionális, mind morfológiai szempontból szignifikáns változást mutatnak depresszió során [77]. Sheline és munkatársai kimutatták, hogy depressziós betegekben a hippokampusz térfogata jelentősen csökken, melynek mértéke korrelál a depresszió súlyosságával, illetve a betegség időtartamával [78].

1.5.3. A depresszió kezelése

A depressziós betegek ellátása minden esetben komplex feladat, melyben a gyógyszeres kezelés mellett, egyéb szupportív módszerek (pl. pszichoterápia) is nélkülözhetetlenek.

A napjainkban alkalmazott kedélyjavítók közé a tri-, tertraciklusos antidepresszáns, a szelektív szerotonin visszavétel gátló (SSRI), a szerotonin-noradrenalin visszavétel gátló, a monoamin-oxidáz (MAO) gátló és a szelektív szerotonin-reuptake-fokozó szerek tartoznak. Bár a készítmények farmakokinetikai és farmakodinamikai tulajdonságaiban vannak eltérések, általánosan igaz, hogy a teljes hatékonyság eléréséhez 2-3 hét szükséges. Mivel az antidepresszáns kezelés számos mellékhatással járhat – pl. fáradékonyság, szedáció, vérnyomáscsökkenés, alvás és szexuális élet zavara, hízás, esetenként szuicid gondolatok – mindenképpen indokolt a betegek szoros monitorozása és a legalacsonyabb hatékony dózis alkalmazása, lehetőleg monoterápiás adagolásban. A betegek közel egyharmadában a gyógyszeres terápia sikertelen, emellett a gyakori mellékhatások is hozzájárulnak a csökkent compliance-hez és rossz terápiahűséghez. Mindezek következtében a páciensek jelentős része elhagyja a gyógyszeres kezelést, depressziójuk súlyosbodik és nő a betegség mortalitása [79].

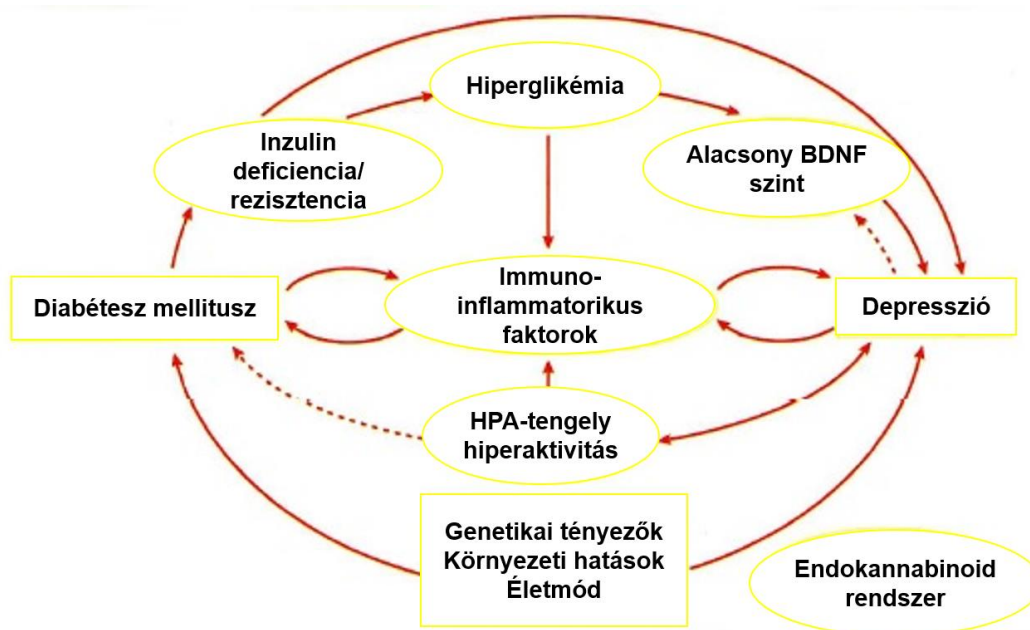
1.6. A cukorbetegség és a depresszió közötti kapcsolat

A cukorbetegség és a depresszió közötti összefüggést Thomas Willis már a 17. században felismerte. Megállapította, hogy gyakrabban fordul elő cukorbetegség azoknál, akiket életük során komoly stressz vagy szomorúság ért [80]. Ennek ellenére a felismerést követő 300 évben nem foglalkoztak tovább az összefüggés vizsgálatával. Napjaink kutatási eredményei szerint a két betegség kialakulása között valóban szoros korreláció áll fenn, a depresszió mintegy 60%-kal növeli a DM kialakulásának rizikóját, azaz több mint kétszer gyakrabban vezet cukorbetegség kialakulásához, mint bármilyen más pszichiátriai kórkép [81]. Az ezredforduló környékén végzett meta-analízisek révén ma már tudjuk, hogy az összefüggés fordítva is igaz: a depresszió prevalenciája és a depressziós tünetek gyakorisága kétszer magasabb cukorbeteggekben, mint az egészséges populációban. Külön vizsgálva a nemeket azt is kimutatták, hogy nőkben még gyakoribb a cukorbetegséghez társuló depresszió kialakulásának valószínűsége [82].

A két betegség együttes előfordulása esetén a cukorbetegség nehezebben kontrollálható, rosszabb a szénhidrát-anyagszere, nő a diabéteszes szövödmények száma és fokozódik a szuicid események rizikója [83].

A DM és a depresszió együttes megjelenésében vitathatatlan a környezeti faktorok és az életmód szerepe, hiszen a depressziós betegek sokszor egészségtelenebbül élnek (többet dohányoznak, helytelenül táplálkoznak, fizikai aktivitásuk csökken); ami egyértelműen fokozza a DM kialakulásának kockázatát [84, 85]. A legújabb kutatások szerint azonban a komorbiditás háttérében nem csupán erről van szó.

Napjainkban végzett vizsgálatok molekuláris szinten próbálnak tisztább képet adni a két betegség kapcsoltságáról, hogy a háttérben közös immunológiai folyamatok, az oxidatív stresszre adott hasonló válaszok, valamint közös endokrinológiai, neurobiológiai tényezők és agyi struktúrális elváltozások állhatnak [86]. A legfontosabb közös patofiziológiai utakat az 5. ábra összegzi. Az alábbiakban röviden áttekintő jelleggel kerülnek bemutatásra az egyes feltételezések, részletesebben csak a Ph.D. dolgozat szempontjából kiemelt fontosságú brain-derived neurotrophic factor (BDNF) szerepét ismertetem.



5. ábra. A diabétesz mellitusz és a depresszió közötti feltételezett összefüggések. HPA-tengely: hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely, BDNF: brain-derived neurotrophic factor, (Hodrea ábrája alapján módosítva) [87].

1.6.1. Immunológiai tényezők és az oxidatív stressz

A DM és a depresszió patofiziológiájának vizsgálatakor számos gyulladási és oxidatív stresszel kapcsolatos mediátort azonosítottak. T1DM során a béta-sejtek elhalásával párhuzamosan nő egyes inflammatorikus citokinek, az interleukin (IL)-1, az IL-6 és a tumor necrosis factor alpha (TNF- α) szisztémás szintje [88, 89]. Ugyanakkor az is ismert, hogy az emelkedett vércukorszint önmagában is serkenti a citokin termelést és rosszul kontrollált DM betegekben több a IL-4, IL-6 és TNF- α mennyisége plazmában [90]. T2DM-ben gyakori az obezitás, melynek során a hipertrófizált zsírszövetben a nuclear factor kappa-B (NF- κ B) és a c-Jun N terminal kinase (JNK) szignalizációs útvonalak szintén gyulladást generálnak. Emellett a megnövekedett viscerális zsírszövetben fokozódik a proinflammatorikus hatású adipokinek termelődése is, mely elősegíti az inzulin rezisztencia kialakulását [91].

Hasonló folyamatokat látunk depresszióban is; nő az IL-1, IL-6, TNF- α gyulladási mediátorok termelődése [92]. A proinflammatorikus citokinek bejutva a KIR-be a depresszióhoz hasonló tüneteket (kimerültség, étvágytalanság, alvászavar) idéznek elő [93]. A depresszió következtében létrejövő szisztémás szubklinikus gyulladás hozzájárul

a béta-sejtek csökkent működéséhez és ezáltal az inzulinrezisztencia, ill. T2DM létrejöttéhez [94].

A fokozott oxidatív stressz által előidézett sejtkárosodás számos patológiás folyamat jellemzője, így feltételezik a szerepét a DM és a depresszió közös kialakulásában is. Oxidatív stressz során a reaktív oxigén származékok (ROS) fehérje oxidációt, lipid peroxidációt és DNS-törést okoznak, melyek végül a sejtek pusztulását eredményezik. A hasnyálmirigy béta-sejtjeiben és a KIR-ben alacsony az antioxidáns fehérjék aktivitása és mennyisége, ezért ezek a területek kifejezetten érzékenyek az oxidatív stresszre [95]. Állatkísérletek és humán vizsgálatok egyaránt igazolták, hogy T1DM-ben csökken az antioxidáns glutation-peroxidáz aktivitása [93], és fokozódik a lipid peroxidáció, illetve a ROS felszabadulása [96].

Depresszióban szintén megfigyelhető a fokozott ROS termelés és lipid peroxidáció, valamint az antioxidánsok csökkent szérumszintje [97]. Sarandol és munkatársai leírták, hogy az antioxidáns szuperoxid-diszmutáz aktivitása kompenzatorikusan emelkedik a depresszió súlyosságának függvényében [98]. Érdekes megfigyelés, hogy cukorbeteg állatokban az antidepresszáns kezelés mérsékli a ROS mennyiségét és növeli az antioxidáns aktivitást, ami szintén arra utal, hogy az oxidatív stressz közös elem lehet a DM és a társuló depresszió patofiziológiájában [99].

1.6.2. Endokrinológiai vonatkozások

A DM és a depresszió közötti endokrinológiai kapcsolatot a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese (HPA) tengely zavarai is magyarázhatják.

Ahogy a fentiekben is leírtuk, az inzulin- és a glükózhomeosztázis bármilyen irányú eltolódása gyulladós folyamatokat és oxidatív stresszt indukál. Az inzulin elengedhetetlen az idegrendszer fejlődéséhez és a neuroplaszticitás, vagyis a szinapszisok kialakulásának folyamatához [100]. Bizonyított, hogy a kognitív és emocionális funkciókért elsősorban felelős agyi régiók, mint a hippokampusz, hipotalamusz, amigdala és a cortex fokozott inzulinérzékenységgel rendelkeznek és glükózfelvételük inzulinhoz kötött [101]. Mindezek alapján logikus, hogy csökkent inzulinszint, illetve inzulinhiány neurokognitív károsodáshoz és depresszió-szerű tünetek kialakulásához vezethet.

Az inzulinhiány az aminosav anyagcsere zavarát is okozhatja, melynek következtében csökken az agyban a szerotonin termelődése és kiáramlása. A szerotonin a depresszió patomechanizmusának szempontjából kulcsfontosságú neurotranszmitter, mely triptofánból szintetizálódik. A triptofán azonban a hosszúláncú neutrális aminosavakkal verseng, mivel közös transzporterrel jutnak át a vér-agy gáton. T1DM állatmodellben igazolták, hogy a hosszúszláncú aminosavak szintjének emelkedése miatt csökken az agyi triptofán mennyisége, mely károsítja a szerotonin szintézist. Ezzel szemben inzulin kezelés hatására a triptofán szint nő és a szerotonin termelés normalizálódik [102]. T2DM-ben végzett meta-analízisek kimutatták, hogy inzulinrezisztencia során gyakoribb a depressziós tünetek megjelenése és nő az öngyilkosság kockázata [103]. A korán kialakuló T1DM-ben tapasztalható inzulin-indukálta hipoglikémia szintén összefüggésben áll a neurokognitív hanyatlással és növelheti a depresszió kialakulásának kockázatát [104].

A HPA-tengely túlműködése DM és depresszió során is megfigyelhető. A HPA-tengely alapvető funkcióját tekintve kulcsfontosságú a stresszorok által kiváltott válaszreakció kialakításában. Stressz hatására a hipotalamuszban megemelkedik a kortikotropin-serkentő hormon (CRH) mennyisége, ami fokozza a hipofízisben a kortikotropin (ACTH) hormon felszabadulását [105, 106]. Az ACTH a keringésen keresztül eljut a mellékvesekéreghez, ahol növeli a glükokortikoidok, főként a kortizol (rágcsálókban kortikoszteron) kiválasztását. A glükokortikoidok az MR-en keresztül hatva negatív visszacsatolás révén gátolják saját termelődésüket.

DM során károsodik a glükokortikoid negatív visszacsatolási rendszere, mely a HPA-tengely fokozott aktivitását eredményezi [107]. A károsodás következtében cukorbetegekben emelkedik a szérum és vizelet kortizol szint [108]. A tartós túlműködés következményeként a HPA-tengely későbbi stresszfaktorokra, mint például az inzulin-indukálta hipoglikémiára adott válasza csökken [109].

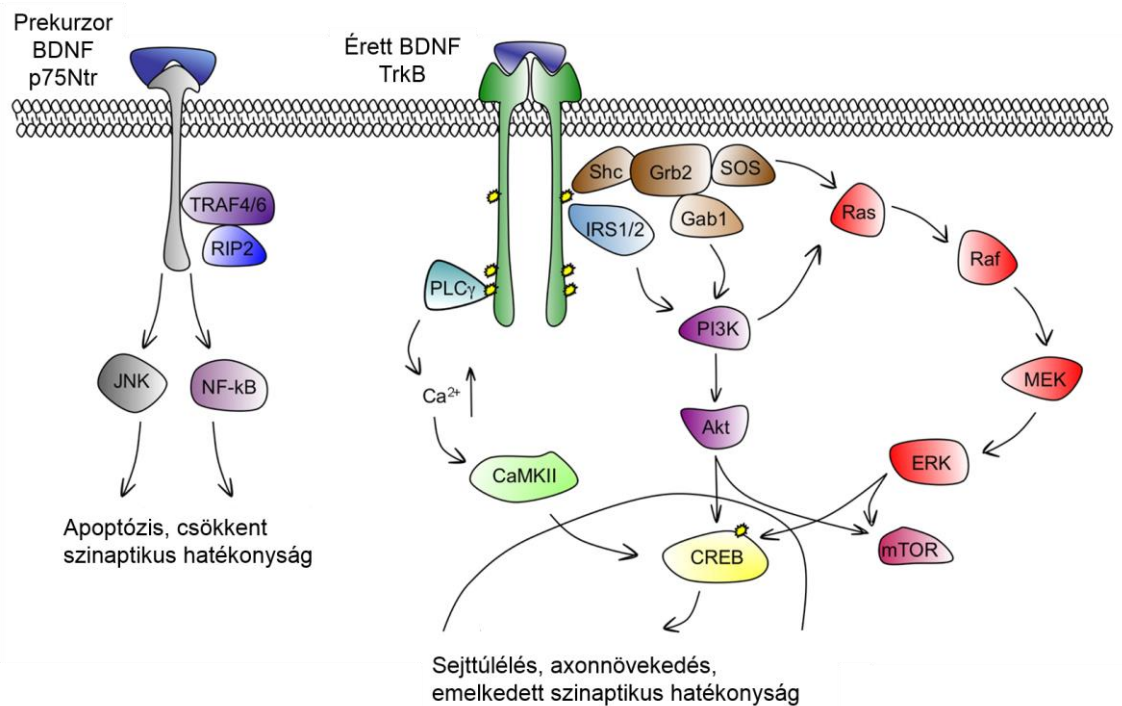
A HPA-tengely funkcionális abnormalitása jól ismert a depresszió patomechanizmusában. Klinikai és preklinikai adatok alapján a rendszer fokozott aktivitása emelkedett plazma kortizol [110] és CRH [111, 112] szintet, valamint megnagyobbodott hipofízist [113] eredményez [114].

1.6.3. Brain-derived neurotrophic factor

A DM és depresszió közös vonásait tekintve, meglepően hasonló idegrendszeri eltéréseket figyelhetünk meg. Képzalkotó eljárásokkal mindkét betegségben kimutatható a hippokampusz és a cortex atrófiája és a cerebrális glükózmetabolizmus csökkenése [115, 116]. A megfigyelt jellegzetes strukturális elváltozások alapján felmerült a neurotrofinok, főként a BDNF molekuláris szerepe a komorbiditás kialakulásának hátterében [86].

A BDNF a neurotrofinok családjába tartozó fehérje, mely főként a központi és perifériás idegrendszerben termelődik, azonban nem-neurogén szövetekben is kimutatható. [117]. A neurotrofinok egy fehérjecsalád, mely az idegsejtek túlélését, differenciációját és funkcióját szabályozzák. Négy fő fehérje tartozik a családba: nerve growth factor, neurotrophin-3, neurotrophin-4 és a BDNF. Mint az összes neurotrofin, a BDNF is először prekursor formában szintetizálódik az endoplazmatikus retikulumban (ER), melyből az érett forma proteolitikus hasítás révén alakul ki. A prekursorból az érett forma átalakulása történhet intracellulárisan furin és fehérje konvertázok révén, valamint extracellulárisan plazmin és mátrix metalloproteináz 2 és 7 segítségével [118]. A keletkezett érett forma kötődik és ezáltal aktiválja a tropomyosin receptor kinase B-t (TrkB). A receptor aktiválódása foszforilációs kaszkádot indít el, mely során aktiválódnak, az extracellular signal-regulated kinase (ERK), a phosphoinositide 3-kinase (PI3K) és a phospholipase C (PLC) útvonalak. Ezek a szignáltranszdukciós mechanizmusok hozzájárulnak az axonok és dendritek növekedéséhez, a neurotranszmitterek szintéziséhez és felszabadulásához [119], valamint a pre- és a poszt-szinaptikus sejtek aktiválódási hatékonyságának növeléséhez [120] (6. ábra).

Korábbiakban úgy gondolták, hogy az extracelluláris térbe kijutó prekursor forma inaktív, biológiai folyamatokat nem modulál. Lee és munkatársai azonban kimutatták, hogy a prekursor BDNF a neurotrophin receptor p75 (p75Ntr) aktiválásával [121] beindítja a NF- κ B és JNK szignáltranszdukciós útvonalat és ezáltal főként apoptózist, valamint csökkent szinaptikus hatékonyságot idéz elő [122]. Ez a hatás ellentétes az érett BDNF-TrkB által aktivált szignalizációs mechanizmusokkal.



6. ábra. A BDNF szignalizációs útvonalai. A prekurzor brain-derived neurotrophic factor (BDNF) a neurotrophin receptor p75-höz (p75Ntr) kapcsolódva apoptotikus útvonalakat indít be és csökkent szinaptikus hatékonyságot idéz elő. Ezzel szemben az érett BDNF a tropomyosin receptor kinase B-n (TrkB) keresztül sejttúlélési szignálokat, axonnövekedést és emelkedett szinaptikus hatékonyságot indukál. TRAF4/6: TNF receptor-associated factor 4/6, RIP2: receptor interacting protein-2, JNK: c-Jun N-terminal kinase, NF-κB: nuclear factor kappa-B, PLCγ: phospholipase C gamma, Shc: adaptor protein 1, Grb2: growth factor receptor-bound protein 2, SOS: son of sevenless, Gab1: GRB2-associated-binding protein 1, IRS1/2: Insulin receptor substrate 1/2, Ras: small GTPase proteins, Raf: serine/threonine-specific protein kinases, MEK: mitogen-activated protein kinase kinase, ERK: extracellular signal-regulated kinases, PI3K: phosphoinositide 3-kinase, Akt: protein kinase B, mTOR: mammalian target of rapamycin, CaMKII: Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II, CREB: cAMP response element-binding protein. (Cunha ábrája alapján módosítva) [120].

A BDNF neurotrófikus szerepe mellett egyre intenzívebben kutatják metabotrófikus hatásait is. Feltételezések szerint a BDNF számos szív-érrendszeri és metabolikus betegség patomechanizmusában is szerepet játszik. Állatkísérletek alapján, a db/db (leptin receptor hibás) T2DM egerekben a BDNF mérsékli az inzulinrezisztenciát, csökkenti a vércukorszintet és protektív hatása a hasnyálmirigy szigetsejtjeire [123]. Krabbe és munkacsoportja DM betegeken végzett vizsgálatait igazolták, hogy a

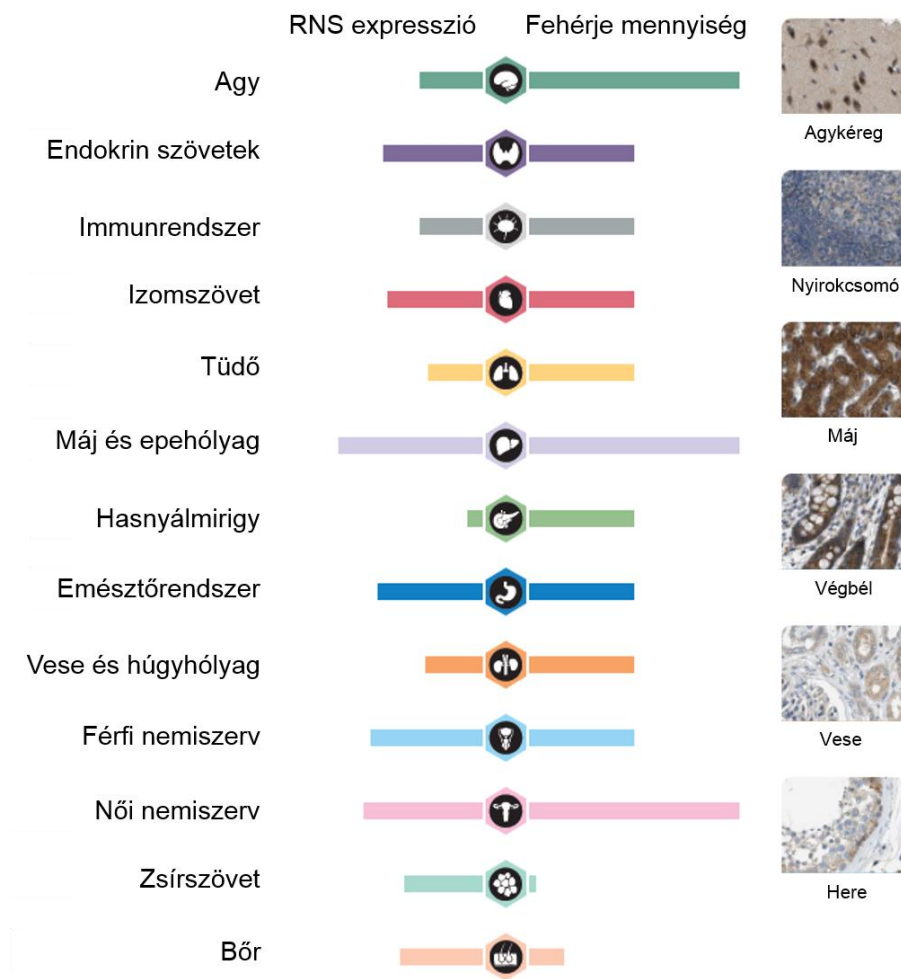
krónikusan emelkedett vércukorszint csökkenti a BDNF felszabadulását az agyból, és a glükózmétabolizmus romlásával párhuzamosan csökken a szérumban BDNF szint [124].

1.6.4. Brain-derived neurotrophic factor és depresszió

Klinikai és állatkísérletek egyaránt megerősítették a BDNF központi szerepét a neuropszichiátriai betegségek kialakulásában [125]. A hippokampusban és a prefrontális régióban lokalizálódó neuronokra élettani körülmények között magas BDNF és TrkB szint jellemző, azonban depresszió során ez jelentősen csökken [126]. Ugyanakkor posztmortem szövetekből származó mintákon kimutatták, hogy antidepresszáns kezelés hatására a BDNF hippokampális expressziója és szérumszintje emelkedik [127, 128]. Fontos kiemelni, hogy a BDNF az egyes agyi régiókban ellentétes funkcióval bírhat, a ventrális tegmentális area - nucleus accumbens területen depresszió-szerű tüneteket eredményez, míg a hippokampusban antidepresszáns hatást közvetít. Az antidepresszáns hatás kialakításában és így az antidepresszánsok hatásmechanizmusában [129] a TrkB-mediált jelátviteli útvonal kulcsfontosságú [130], a TrkB agonizmusa idegrendszeri sejtproliferációt előidézve antidepresszáns hatású [131].

1.6.5. A sigma-1 receptor és a brain-derived neurotrophic factor kapcsolata

A BDNF upstream szabályozásában egyre inkább előtérbe kerül a sigma-1 receptor (S1R) szerepe. A S1R egy 25 kDa molekulásúlyú transzmembrán chaperonfehérje, melynek két izoformája ismert, a S1R és a sigma-2 receptor. Az emlősök S1R aminosav szekvenciája rendkívül konzervált, 95% hasonlóságot mutat a fajok között [132]. Legnagyobb mennyiségben az idegrendszerben expresszálódik, de kifejeződik a perifériás szervekben is, mint a máj, a szív, a hasnyálmirigy és a vese (7. ábra) [133].



7. ábra. A S1R szervi eloszlása. S1R: sigma-1 receptor. (The Human Protein Atlas ábrája alapján módosítva) [134].

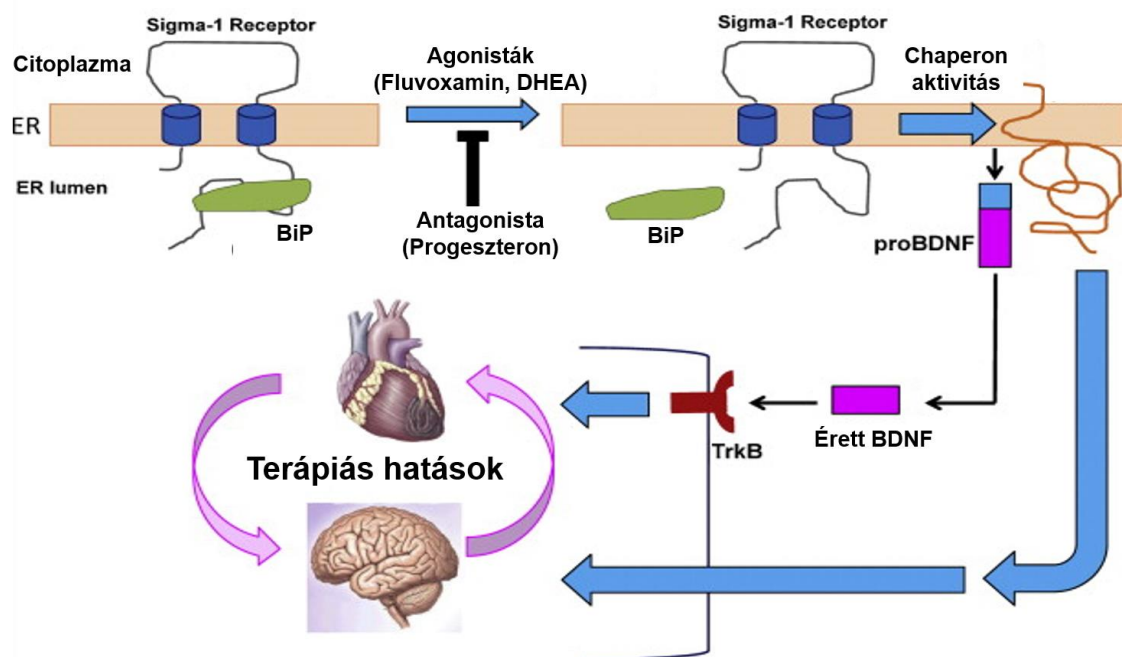
A S1R számos sejtfunkciót irányít, befolyásolja a Na^+ , K^+ és feszültség-függő klorid ioncsatornák működését, az Src protein-kinázok elhelyezkedését és aktivációját, egyes neurotranszmitterek (acetilkolin, glutamát) felszabadulását, és szerepet játszik a szinapszisok képződésében [132]. Nyugalmi állapotban a receptor komplexet képez a chaperone binding immunoglobulin protein (BiP) fehérjével az ER lumenében. Agonista, vagy különböző noxák (pl. csökkent intracelluláris Ca szint) hatására a S1R aktiválódik, leválk a BiP-ről ami a receptor plazmamembránba történő transzlokációját és különböző jelátviteli útvonalakat indukál.

A S1R-nak számos endogén (neuroszteroidok pl: dehidroepiandrosteron) és farmakológiai szempontból jelentős exogén (neuroleptinek, antidepresszánsok, stb.)

liganduma ismert, melyek vagy aktiválják a receptort, vagy antagonizáló hatásúak [135]. Mivel számos SSRI – pl: fluvoxamin (FLU) vagy szertalin – nagy affinitással kötődik a S1R-hoz, feltételezhető, hogy a S1R is részt vesz ezen antidepresszánsok farmakológiai hatásmechanizmusában [136].

Egyre több irodalmi adat támasztja alá, hogy a S1R agonizmusa antidepresszáns hatással bírhat. Többféle depressziós állatmodellben (enyhe stressz vagy CaMKIV Null modell) specifikus S1R agonista kezelés antidepresszáns hatást eredményezett erőltetett úszás vagy fark lógatás teszt során, melyet S1R antagonizmus felfüggesztett [137, 138]. Kimutatták azt is, hogy a S1R génkiütése rágcsálókban depressziós fenotípust eredményez [139].

A kevés irodalmi adat ellenére egyre inkább egyértelmű, hogy a S1R szerepet játszik a BDNF szabályozásában és ezáltal számos neurológiai betegség patomechanizmusában [140]. *In vivo* kísérletek során igazolódott, hogy a S1R specifikus aktivációja megemeli; míg antagonizálása csökkenti a BDNF szintjét az agyban [138, 141]. Fujimoto és munkatársai neuroblasztóma sejteken végzett kísérleteikben kimutatták, hogy a S1R overexpressziója vagy agonizmusa megnöveli a receptor chaperon aktivitását és ezáltal közvetlenül elősegíti a prekursor - érett BDNF átalakulását, valamint megnöveli az érett BDNF szekrécióját az intracelluláris térbe [142]. Feltételezhető továbbá, hogy a S1R közvetetten az NMDA - CaMKIV - CREB jelátviteli útvonal aktivációja révén részt vesz a BDNF transzkripciójának serkentésében is [143]. Mindezek az eredmények további adatokkal támasztják alá a S1R és a BDNF közvetlen kapcsolatát (8. ábra).



8. ábra: A S1R és a BDNF közötti kapcsolat. A sigma-1 receptor (S1R) agonisták általi aktivációja fokozza a chaperon aktivitást és ezáltal elősegíti a prekursor brain-derived neurotrophic factor (BDNF) - érett BDNF átalakulását. Az érett BDNF a tropomyosin receptor kinase B-hez (TrkB) kapcsolódva terápiás hatásokat segíthet elő. ER: endoplazmatikus retikulum, BiP: chaperone binding immunoglobulin protein, DHEA: dehidroepiandroszteron. (Hashimoto ábrája alapján módosítva) [140].

Irodalmi adatok alapján egyértelmű, hogy a DM-hez társuló depresszió kialakulásának hátterében számtalan patofiziológiás útvonal állhat, azonban pontosabb molekuláris mechanizmust mindmáig nem azonosítottak. Kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy a cukorbetegségben kialakuló depresszió létrejöttében szerepe lehet-e a S1R-BDNF jelátviteli útvonalnak. Vizsgáltuk továbbá, hogy DM súlyos szövődeményeként létrejövő DNP terápiájában elsődlegesen alkalmazott RAAS-gátló szerek hogyan befolyásolják a depresszió kialakulását és milyen patomechanizmusok állhatnak az antidepresszáns hatások hátterében.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. S1R agonista hatással rendelkező FLU adása megelőzi-e a T1DM során kialakuló depressziót?
2. Hogyan befolyásolja a FLU az agyban a S1R - BDNF jelátviteli útvonalat?
3. Hatékonyak-e a T1DM-hez társuló depresszió megelőzésében a RAAS-gátló szerek?
4. Milyen molekuláris mechanizmusok állhatnak a RAAS-gátlók protektív hatásának hátterében?

3. MÓDSZEREK

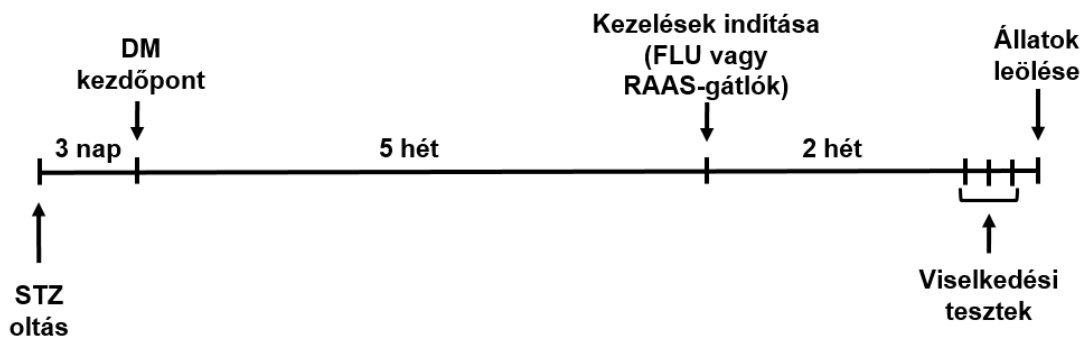
3.1. Kísérleti állatok

Kísérleteinket 8 hetes, 180-200 g súlyú, ivarérett, hím, Wistar patkányokon végeztük (Toxi-Coop, Dunakeszi, Magyarország). Az állatokat ketrecenként hármával, állandó hőmérsékleten (22 ± 2 °C), 75% páratartalom és 12 óránként váltakozó megvilágítás mellett tartottuk, szabadon kaptak standard rágcsálótápot és csapvizet. Kísérleteinket a Magyar Köztársaság állatvédelmi és állatkísérletekkel kapcsolatos törvényeinek (1998/XXVIII.) betartásával és a Semmelweis Egyetem állatkísérletekre vonatkozó irányelvei alapján hajtottuk végre (PEI/001/380-4/2013).

3.2. Kezelési protokoll

T1DM típusú cukorbetegséget citrátban (0,1 M; pH=4,5) oldott, egyszeri, nagy dóziszú streptozotocin (65 mg/ttkg, STZ, Sigma Aldrich Kft, Budapest, Magyarország) intraperitoneális (*ip.*) adásával indukáltunk. A STZ injekció beadását követően 72 órával ellenőriztük az állatok vércukorszintjét Dcont Trend vércukormérő készülékkel (77 Elektronika Kft, Budapest, Magyarország). A patkányokat akkor tekintettük cukorbetegnek, ha három random mérés kapcsán a perifériás vér glükóz koncentrációja meghaladta a 15 mmol/l értéket. Ennél alacsonyabb vércukorszint esetén kizártuk az állatokat a további kísérletekből. A korban illesztett, azonos testtömegű, kontroll állatok ekvivalens mennyiségű citrát puffert kaptak.

Két nagy kísérletsorozatot végeztünk: elsőként (I) antidepresszáns FLU, illetve a második kísérletben (II) különböző RAAS-gátló kezeléseket alkalmaztunk. A kezelés hossza és menete, a viselkedési mintázatok vizsgálata, valamint az állatok és szervek feldolgozása mindkét kísérlet során, azonos módon történt, melyet az alábbi ábra összegez (9. ábra).



9. ábra. Az állatkísérlet menete. Öt héttel a diabétesz mellitusz (DM) kialakulását követően 2 hétig kezeltük az állatokat renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer (RAAS) gátló szerekkel vagy antidepresszáns fluvoxaminnal (FLU). Az állatok leölését megelőző napokban viselkedési teszteket (porond teszt és erőltetett úszás teszt) végeztünk. STZ: streptozotocin.

A DM 5 hetes fennállását követően a patkányokat véletlenszerűen osztottuk be az egyes kezelési csoportokba (N=6-8/csoport) majd 2 hétig *per os* (orális gavázsolással) kezeltük minden nap, azonos időben reggel 10:00 órakor.

I. Kísérletsorozat: Antidepresszáns FLU-val történő kezelés csoportjai:

1. **Kontroll:** egészséges, izotóniás sóoldat, mint vivőanyag
2. **Diabétesz (D):** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldat, mint vivőanyag
3. **D+FLU20:** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldatban oldott 20 mg/ttkg/nap **fluvoxamin-maleát (FLU, Sigma Aldrich, Budapest, Magyarország)**
4. **D+FLU2:** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldatban oldott 2 mg/ttkg/nap **FLU**
5. **D+FLU20+NE100:** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldatban oldott 20 mg/ttkg/nap **FLU** + 1 mg/ttkg/nap **specifikus S1R antagonistá N,N-dipropil-2-[4-metoxi-3-(2-feniletoksi)-fenil]-etilamin monohidroklorid (NE100, Tocris Bioscience, Bristol, UK)**
6. **D+FLU2+NE100:** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldatban oldott 2 mg/ttkg/nap **FLU** + 1 mg/ttkg/nap **NE100**

II. *Kísérletsorozat: RAAS-gátló szerekkel történő kezelés csoportjai:*

1. **Kontroll:** egészséges, izotóniás sóoldat, mint vivőanyag
2. **Diabétesz (D):** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldat, mint vivőanyag
3. **D+ENA:** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldatban oldott 40 mg/ttkg/nap angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gátló **enalapril**
4. **D+RAM:** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldatban oldott 10 µg/ttkg/nap angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gátló **ramipril**
5. **D+LOZ:** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldatban oldott 20 mg/ttkg/nap angiotenzin-receptor blokkoló (ARB) **lozartán**
6. **D+EPL:** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldatban oldott 50 mg/ttkg/nap szelektív aldoszteron antagonistá **eplerenon**
7. **D+SPI:** diabéteszes állatok, izotóniás sóoldatban oldott 50 mg/ttkg/nap non-szelektív aldoszteron antagonistá **spironolakton**

A RAAS-gátló szerek dózisát korábbi vizsgálataink és az irodalmi adatok alapján úgy választottuk, hogy antihipertenzív tulajdonságuktól függetlenül hatékonyan gátolják a RAAS egyes elemeinek expresszióját, illetve aktivitását [144-149].

Kiegészítő kísérletként az I. és II. kísérletsorozatban alkalmazott kezeléseket elvégeztük kontroll, egészséges állatokon is. A gyógyszerek a kontroll állatok laboratóriumi paramétereiben, viselkedésében, illetve egyéb molekuláris vizsgálatokban semmilyen hatást nem eredményeztek, ezért a dolgozatban ezek az eredmények nem kerültek bemutatásra.

A patkányokat a leölés előtti napon 24 órás vizeletgyűjtés céljából anyagcsereketrebe tettük. A kezelési protokoll végén az állatokat elaltattuk 60 mg/ttkg ketamin (Richter Gedeon Nyrt. Budapest, Magyarország) és 5 mg/ttkg xylazin (Medicus Partner Kft. Biatorbágy, Magyarország) keverékkel. Minden állat abdominális aortájából vérmintát vettünk. Eltávolítottuk az állatok agyát (a hippokampuszt és prefrontális régiót elválasztottuk), tímuszát, mellékveséjét és veséjét, megmértük a szervek súlyát és – szárazjégen történő gyorsfagyasztást követően – -80°C-on tároltuk, vagy 8%-os formalinban fixáltuk a további vizsgálatokig.

3.3. Depresszió-szerű viselkedés kimutatása

A depresszió tanulmányozására akut és krónikus állatmodellek is rendelkezésre állnak. Mivel a stressz a depressziós epizódok kialakulásának fontos kiváltó tényezője [150], a depresszió állatmodelljeiben főként krónikus enyhe stressz (nedves alom, megbillent ketrec), szociális stressz vagy farmakológiai ágensek révén idézik elő a depresszió-szerű viselkedést [151]. Az akut modelleket leginkább az új antidepresszáns gyógyszerek tesztelésére fejlesztették ki, ahol sokszor stresszhatás nélkül vagy akut stressz kiváltását követően vizsgálják a gyógyszerekre adott mozgásmintázat változásokat. A depresszió neurobiológiai elváltozásainak tanulmányozását hosszútávú stressz behatásnak kitett állatokon vizsgálják, mely alkalmas a kialakuló központi idegrendszeri strukturális elváltozások feltárására is. Ilyen krónikus stresszállapot okozta depresszió alakul ki DM hosszútávú fennállása során is.

A depresszió-szerű viselkedés megállapítására többféle tesztet is kifejlesztettek, melyek mindegyike a depresszió egy-egy jellegzetes tünetének megfigyelésére alkalmas. A DM azonban limitálja egyes tesztek használhatóságát, hiszen pl. az egyik legelterjedtebb viselkedési teszt a cukor preferencia teszt – melyben az anhedónia jelenségét pozitív megerősítésre, jutalomra csökkent válasszal modellezik – cukorbeteg állatokban nem használható.

Az irodalmi adatok alapján az STZ-indukált T1DM patkánymodelljében a depresszió megállapítására leginkább alkalmazott viselkedési teszt az erőltetett úzás teszt, ezért vizsgálataink során mi is ezt használtuk.

Viselkedési tesztek

A magatartásteszteket gavázsolás után, az erre a célra elkülönített, gyengén megvilágított (15W) szobában végeztük el. Mivel nem volt lehetőség az összes állat egy napon történő vizsgálatára, az állatokat randomizáltuk; és minden nap, ugyanabban az időpontban végeztük a teszteket, minimálisra csökkentve a környezeti változók variabilitásának esetleges hatását.

Az állatok lokomotoros aktivitását porond teszttel határoztuk meg a 7 hetes kísérleti periódus vége előtt három nappal. A depresszió-szerű viselkedés megállapítására erőltetett úzás tesztet alkalmaztunk, melynek pre-teszt fázisát a porond tesztet követő

napon, míg a teszt fázist a pre-tesztet követő napon végeztük el (9. ábra). A tesztek során a patkányok magatartását Sony DCR-SX21E digitális videokamerával rögzítettük, melyet három vizsgáló értékelt ki egymástól függetlenül a későbbiekben.

3.3.1. Porond teszt

A porond teszt, vagy nyílt tér teszt az egyik legismertebb módszer a laboratóriumi rágcsálók lokomotoros aktivitásának és felderítő magatartásának vizsgálatára. [152]. A nyílt tér apparátus egy 100 x 100 x 60 cm méretű doboz átlátszó plexilapokkal, melynek alja 10 x 10 cm-es négyzetekre van felosztva. A patkányokat középre helyeztük és 10 percen keresztül a helységben rögzített videokamerával felvételt készítettünk, melyet utólag elemeztünk. Az elemzésnél azoknak az átlépéseknek a számát mértük, mely során az állat mind a négy lábával átlépte a négyzetrács egyik vonalát. Az egyes tesztek között a dobozokat csapvízzel kitisztítottuk és papírvattával szárazra töröltük (10. ábra).

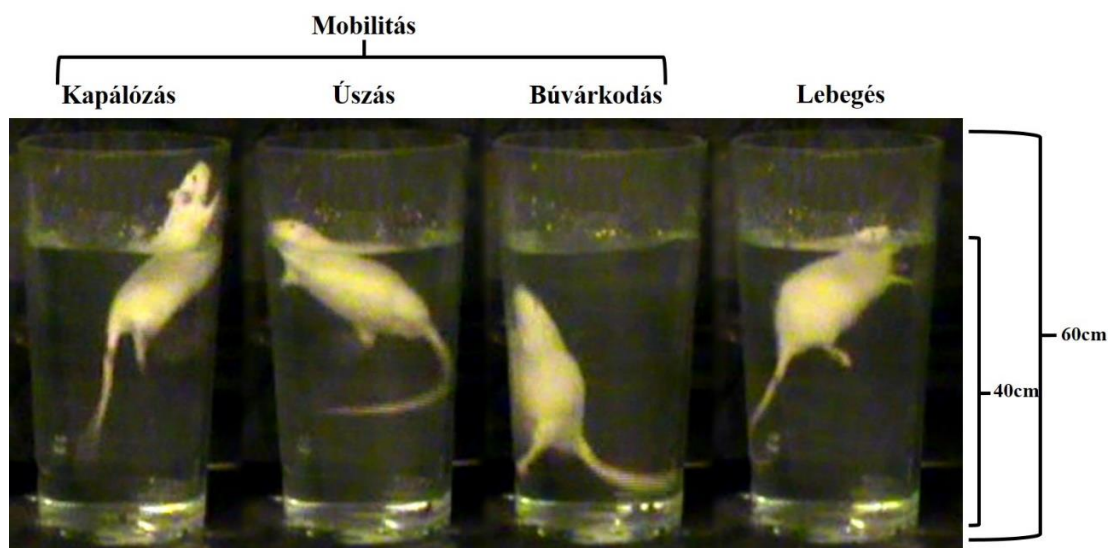


10. ábra. Porond teszt. Az állatokat 100 x 100 x 60 cm nagyságú plexidobozba helyeztük, melynek alja 10 x 10 cm-es négyzetekre fel volt osztva. Viselkedésüket tíz percen keresztül rögzítettük, majd az elemzés során a vonal átlépések számát mértük. (Kísérlet során készült saját felvétel).

3.3.2. Erőltetett úszás teszt

A Porsolt-féle erőltetett úszás teszt egy széles körben elterjedt módszer a rágcsálók depresszió-jellegű magatartásainak vizsgálatára [153]. A teszthez üveghengereket használtunk, melyet $24 \pm 1^\circ\text{C}$ -os csapvízzel feltöltöttünk (átmérő: 30 cm; magasság: 60 cm, vízszint: 40 cm). Az állatokat a vízbe helyeztük, és magatartásukat a pre-tesztnél 15 percig, majd a teszt periódusban 5 percig videókamerával rögzítettük. Két teszt között a hengereket átöblítettük és vizet cseréltünk. A magatartás elemzését a Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet által fejlesztett és validált *H77* szoftverrel végeztük, és meghatároztuk az egyes mozgásmintázatok időszázalékát.

A felvételek elemzésekor négy magatartási paraméter időszázalékát vizsgáltuk: a *lebegést* (az állat nem mutat mozgást azon kívül, ami szükséges a fej vízszint fölött való tartásához), a *kapálózást* (az állat erőteljes végtagmozgást végez, a mellső végtagok megtörik a vízfelszín és kaparó-szerű mozgást mutat a henger falán), az *úszást* (koordinált, aktív helyváltoztató mozgást végez, a végtagok nem törnek meg a vízfelszín), illetve a *búvárkodást* (egész testükkel lebuknak a vízfelszín alá) [154]. A kiértékelés során a mozgásformákat végül két nagyobb csoportra osztottuk, ahol a kapálózás, úszás és búvárkodás időszázalékának összege a mobilitást, a lebegés pedig az immobilitási paramétert határozta meg (11. ábra).



11. ábra. Erőltetett úszás teszt. Az állatokat $24 \pm 1^\circ\text{C}$ -os csapvízzel feltöltött üveghengerbe helyeztük és pre-tesztnél 15 percig, teszt periódusban 5 percig rögzítettük. A felvételek elemzése során mobilitási (úszás, kapálózás és búvárkodás) és immobilitási (lebegés) paraméterek időszázalékát határoztuk meg. (Kísérlet során készült saját felvétel).

3.4. Vérnyomásmérés

Kísérleteink során a két hetes RAAS-gátló kezelés megkezdése előtt, illetve a kísérleti periódus végén mértük az állatok szisztolés és diasztolés vérnyomását CODA standard tail-cuff monitoring rendszerrel (EMKA Technologies, Párizs). A mérés altatásban (3% izoflurán és szintetikus levegőelegy belélegeztetésével, Eickemeyer Veterinary Equipment Ltd., Twickenham, UK), a testhőmérsékletet 37°C-on tartva, állatonként háromszor történt. Az artériás középnyomás értékét a szisztolés és diasztolés nyomás értékekből számoltuk ki.

A tail-cuff monitoring rendszer előnye, hogy nem-invazív, így kisebb megterhelést jelent az állatoknak, emellett pontossága közel 90%-ban megegyezik a gold standard telemetriás módszerrel [155].

3.5. Laboratóriumi (metabolikus és renális) paraméterek vizsgálata

Az aorta abdominálisból vett vért 3600 rpm fokozaton, 6 percig centrifugáltuk. A szérumból meghatároztuk a glükóz, fruktózamin, karbamid, kreatinin, kálium, triglicerid, koleszterin, glutamát-oxálacetát-aminotranszferáz (GOT) és glutamát-piruvát-transzamináz (GPT) értékeket. Minden paramétert Hitachi-712 automatizált spektrofotométerrel mértünk.

A 24 órás gyűjtött vizeletet 3600 rpm fokozaton, 6 percig centrifugáltuk, majd meghatároztuk a kreatinin és karbamid koncentrációját, a glükózürítést. A szérum és vizelet kreatinin értékekből testsúlyra vonatkoztatott kreatinin-clearancet számoltunk. A vizeletüledéket mikroszkóposan vizsgáltuk, illetve próbaleoltásokat végeztünk az esetleges infekció kizárására.

3.6. Szövettani vizsgálatok

3.6.1. Perjódsav - Schiff (PAS) festés

A hisztológiai vizsgálatokhoz a vesék egy részét 8%-os formalinban fixáltuk, majd paraffinba ágyasztuk. A beágyazott mintákból 5 µm-es metszeteket készítettünk, majd PAS festést végeztünk, melyen a mezangiális mátrix expansió mértékét értékeltük.

A 400x-os nagyítású metszeteken meghatároztuk a glomerulusok püspöklilán festődő, PAS-pozitív régióinak arányát a teljes vizsgált területhez viszonyítva. A kiértékeléshez *Adobe Photoshop* (Adobe Systems Incorporated, San Jose, CA, USA) és *Scion Image* (Informer Technologies, In. Madrid, Spanyolország) szoftvereket használtunk [156].

3.6.2. Fibronektin immunhisztokémiai festés

A xilolban deparaffinizált metszeteket felszálló alkoholsorral és desztillált vízzel rehidratáltuk. Feltártuk az epitópokat pH 6,0-os citrát pufferrel, majd peroxidáz-gátlót alkalmaztunk. A nem-specifikus kötődéseket borjú szérum albumin (BSA) fehérjeoldattal gátoltuk, majd hozzáadtuk az elsődleges fibronektin antitestet (Abcam, Cambridge, MA, USA) 1:1000 hígításban. Másodlagos antitestként peroxidázzal jelölt, anti-nyúl (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA), egylépcsős polimer antitestet alkalmaztunk. Az előhívást a HISTOLS Rezsztens amino-etilkarbazol (AEC) kromogén/szubsztrát rendszerrel végeztük, hematoxilin oldattal kontraszt-festettük. A kiértékeléshez 400x-os nagyításon meghatároztuk a glomerulusok AEC pozitívan festődő barna területeinek arányát a teljes vizsgált területhez viszonyítva. *Adobe Photoshop* (Adobe Systems Incorporated, San Jose, CA, USA) és *Scion Image* (Informer Technologies, In. Madrid, Spanyolország) szoftverekkel értékeltük ki a festést [157].

3.7. Szérum BDNF és vizelet mikroalbuminúria mérése enzimmel kötött immunoszorbens technikával (ELISA)

A szérum BDNF és vizelet mikroalbuminúria mennyiségét szendvics ELISA módszerrel határoztuk meg (R&D System, Minneapolis, MN, USA). Minden lépést szobahőmérsékleten végeztünk és az egyes lépések között háromszor mostuk a platet. Elsőként az elsődleges antitesttel (anti-BDNF vagy anti-albumin) 24 órán keresztül inkubáltuk a 96-lyukú platet. Ezt követően 1 órán keresztül blokkoltuk a plate felületét a BDNF esetében 1% BSA-foszfát-pufferelt sóoldattal, az albumin mérésénél 1% BSA-tris-pufferelt sóoldattal. A mintákat a blokkoló oldatban BDNF ELISA esetében 1:10; albumin ELISA-nál 1:1000 arányban hígítottuk és duplikátumként vittük fel, majd 2 órán keresztül inkubáltuk. A mosást követően, hozzáadtuk az antigént felismerő másodlagos

biotinilált anti-BDNF vagy anti-albumin antitestet. Kétórás inkubációt, majd a mosási lépést követően a mintákra sztreptavidin-tomaperoxidáz konjugátumot mértünk és 20 percig inkubáltuk. Végül hozzáadtuk a rendszerhez a szubsztrátként alkalmazott tetrametil-benzidint, mely során a peroxidáz aktivitás eredményeként kék színreakciót tapasztaltunk. Öt perc elteltével, $2\text{NH}_2\text{SO}_4$ oldattal állítottuk le a reakciót. A minták optikai denzitását spektrofotometriás módszerrel (Chameleon V Fluorometer-Luminometer Photom, Hidex, Turku, Finnország) 450 nm-en detektáltuk. A relatív koncentrációkat az ismert koncentrációjú standard abszorbancia értékéből kapott görbe alapján számoltuk ki és $\mu\text{g/ml}$ -ben határoztuk meg.

3.8. mRNS izolálás és valós idejű reverz transzkripció polimeráz-lánreakció (RT-PCR)

A prefrontális régió és hipokampusz szövetmintákból totál RNS-t izoláltunk Total RNA Mini Kit-tel (Geneaid Biotech Ltd., New Taipei City, Tajföld) a gyártó protokollja alapján. A szövetekből nyert RNS mennyiségét és tisztaságát NanoDrop ND-1000 spektrofotométerrel (BCM, Huston, TX, USA) állapítottuk meg. Mintánként 500 ng RNS-ből komplementer DNS-t (cDNS) szintetizáltunk Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) reagensekkel a gyártó leírását követve.

A valós idejű PCR méréseket Light Cycler 480 SYBR Green I Master enzyme mix (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Bazel, Svájc) reagensekkel és LightCycler 480 (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Bazel, Svájc) géppel végeztük. A BDNF, S1R, 18sRNS, Bcl2, Bax génekre specifikus forward és reverse primereket terveztünk az NCBI nukleotid adatbázisban található szekvenciák alapján (*1. táblázat*). A primereket az Integrated DNA Technologies (IDT, Coralville, IA, USA) cég szállította. A 20 μl végtérfogatú reakcióelegy 10 μl LightCycler 480 SYBR Green Master enzyme mixet, 1 μl cDNS mintát, 7 μl nukleináz-mentes vizet és az adott célfehérjére specifikus 1-1 μl forward és reverse PCR primert, tartalmazott. A különböző célfehérjék mRNS expresszióját a 18s riboszómális RNS (*Rn18s*) háztartási gén arányában határoztuk meg az $x = 2^{-\Delta\text{Cp}}$ képlet alapján.

1. táblázat. A reverz transzkripció polimeráz-lánreakció során vizsgált gének és primereik. *Bdnf*: brain-derived neurotrophic factor, *Sigmar1*: sigma-1 receptor, *Rn18s*: 18s riboszómális RNS, *Bcl2*: B cell lymphoma 2, *Bax*: Bcl2-associated X protein

Gén neve	NCBI referencia	Primer szekvencia	Termék hossz
<i>Bdnf</i>	NM_001270630.1	forward: 5' CGGCCCAACGAAGAAAACCATAAG 3' reverse: 5' AGTGGCGCCGAACCCATAGAG 3'	157 bp
<i>Sigmar1</i>	NM_030996.1	forward: 5' GAGTATGGCCGGGTGTTATTCC 3' reverse: 5' TAGGCGCGAAGGGTATAGAAGAGG 3'	104 bp
<i>Rn18s</i>	NR_046237.1	forward: 5' GCGGTCGGCGTCCCCCAACTTCTT 3' reverse: 5' GCGCGTGCAGCCCCGGACATCTA 3'	105 bp
<i>Bcl2</i>	NM_016993.1	forward: 5' ATGGCGCAAGCCGGGAGAACAG 3' reverse: 5' TGCGGACAAGGGGCCGTAGAGG 3'	232 bp
<i>Bax</i>	NM_017059.2	forward: 5' AGCCGCCAGGACGCATCCA 3' reverse: 5' CAGCCGCTCCCGGAGGAAGTCCAG 3'	299 bp

3.9. Western-blot analízis

A hippocampusz és prefrontális régiókból fehérje-homogenizátumot készítettünk. Ötven mg szövetmintát 4 C°-os, lízis pufferben [(pH 7,4) 1 M tris(hidroximetil)aminometán, 0,5 M etilén-glikol-tetraecetsav, 1% Triton X-100, proteáz és foszfatáz inhibitorok: 1 mg/ml aprotinin, 5 mg/ml leupeptin, 0,5 M fenilmetánszulfonil fluorid, 0,25 M nátrium-fluorid, 0,5 M nátrium orthovanadát; (Sigma Aldrich Kft. Budapest, Magyarország)] Fastprep RP120 homogenizátorral (Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, MA, USA) homogenizáltuk. A minták összfehérje koncentrációját Bio Rad Protein Assay Kit-tel (Bio-Rad Laboratories Inc. Hercules, CA, USA) határoztuk meg és 10 µg/µl-re állítottuk be.

A fehérjeizolátumot 4x-es Laemmli pufferben (12,5 mM TRIS-HCl pH=6,7, 4% nátrium dodecil szulfát (SDS), 4% merkaptóetanol, 15% glicerol, 0,01% brómfenolkék) denaturáltuk, majd 12%-os SDS-poliakrilamid gélen (Bio-Rad Laboratories Inc. Hercules, CA, USA) szobahőmérsékleten, 200 V áramerősségen futtattuk. A blotolás során a fehérjéket az SDS-poliakrilamid gélről nitrocellulóz membránra (Bio-Rad Laboratories Inc. Hercules, CA, USA) transzferáltuk gyorsblottoló készülékkel (Bio-Rad Laboratories Inc. Hercules, CA, USA). A fehérjetranszfer sikerességét 1% Ponceau-S (Sigma Aldrich Inc, St. Louis, MO, USA), 25% ecetsav (Reanal Kft. Budapest, Magyarország) tartalmú festékkeverékkel ellenőriztük. Ezután a membránt szobahőmérsékleten, 1 órán keresztül blokkoló oldatban (5% BSA- tris-pufferelt sóoldat,

TBS) inkubáltuk. Blokkolás után a membránt egy éjszakán keresztül, 4 °C-on inkubáltuk a különböző elsődleges ellenanyagokkal (anti-BDNF 1:1000, anti-p75Ntr 1:1000, pERK1/2 1:1000 Abcam, Cambridge, MA, USA; pCREB 1:500, anti-S1R 1:500, anti-TrkB 1:1000 Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA; pJNK 1:1000 Cell Signaling Technology, Inc. Danvers, MA, USA). Másnap a 3 x 10 perces mosást (TBS-0,05% Tween20) követően, a membránokat szobahőmérsékleten, 1 órán át inkubáltuk az elsődleges antitestre specifikus torma-peroxidáz enzimmel konjugált másodlagos antitesttel (kecske anti-nyúl 1:6000 a BDNF, p75Ntr, pCREB, TrkB, pJNK és kecske anti-egér 1:2000 a S1R, pERK esetében, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA). Ezután további 3 x 10 perces mosásokkal eltávolítottuk a felesleges, nem kötődött antitesteket. Az előhívást ECL plus reagenssel (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA) kemilunineszcens módszerrel Versa Doc készülékkel végeztük (Bio-Rad Laboratories Inc. Hercules, CA, USA). A jelet *Quantity One* szoftverrel (Bio-Rad Laboratories Inc. Hercules, CA, USA) denzitometráltuk és a Ponceau festés által kapott összfehérje mennyiségre és belső kontrollra korrigáltuk.

3.10. Statisztikai elemzés

Az adatok statisztikai kiértékeléséhez és elemzéséhez *GraphPad Prism 6* statisztikai programot (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) használtunk. Első lépésként Kolmogorov és D'Agostino normalitás tesztet végeztünk. Normális eloszlás esetén egyutas faktoriális varianciaanalízist (ANOVA, Analysis of variance) és Bonferroni *post hoc* tesztet használtunk. A nem parametrikus adatoknál Kruskal-Wallis és Dunns féle *post hoc* tesztet alkalmaztunk. Az eredményeket átlag ± SEM adtuk meg. Statisztikailag szignifikánsnak a $p < 0,05$ értéket tekintettük.

4. EREDMÉNYEK

4.1. I. Kísérletsorozat: S1R agonista FLU kezelés T1DM állatmodellben

4.1.1. A FLU hatása a metabolikus paraméterekre T1DM állatmodellben

Hét héttel az STZ injekciót követően a cukorbetegsége jellemző kóros metabolikus laboratóriumi értékeket mértünk, melyeket a 2. táblázat összegez. A DM csoportban az emelkedett vércukor- és fruktózamin szintek igazolják a DM hosszútávú fennállását, a magasabb koleszterin és triglicerid szintek a cukorbetegség okozta lipidanyagcsere zavarát jelzik. A diabéteszes patkányok súlynövekedése elmaradt a kontroll csoporttól. Amíg a FLU kezelés a vércukor és fruktózamin értékeket nem befolyásolta, a szérum lipid-szinteket mindkét dózisban csökkentette. A májfunkciós értékek (GOT, GPT) egyik csoportban sem változtak (2. táblázat).

2. táblázat. Metabolikus laborparaméterek kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban. Metabolikus paraméterek kontroll, diabéteszes (D), 20 mg/ttkg (D+FLU20) vagy 2 mg/ttkg (D+FLU2) vagy FLU + 1 mg/ttkg S1R antagonistá NE100-zal kezelt állatokban. FLU: fluvoxamin, S1R: sigma-1 receptor, GOT: glutamát-oxálacetát aminosztransferáz, GPT: glutamát-piruvát-transzamináz. Az adatokat átlag \pm SEM adtuk meg. * $p < 0,05$ vs. Kontroll; # $p < 0,05$ vs. D; N=7-8/csoport.

	Kontroll	Diabétesz (D)	D+FLU20	D+FLU20+NE100	D+FLU2	D+FLU2+NE100
Súlynövekedés (Δg)	136 \pm 9,05	66,8 \pm 9,49*	91,2 \pm 12,6*	67,1 \pm 14,7*	85 \pm 12,5*	87,5 \pm 5,90*
Glükóz (mmol/l)	12,3 \pm 0,59	44,5 \pm 3,22*	34,5 \pm 2,27*	48,0 \pm 2,08*	30,2 \pm 4,61*	39,7 \pm 2,67*
Fruktózamin (μmol/l)	149 \pm 2,17	254 \pm 3,48*	252 \pm 7,58*	267 \pm 7,66*	242 \pm 4,86*	264 \pm 11,1*
Koleszterin (mmol/l)	1,87 \pm 0,09	2,43 \pm 0,08*	1,96 \pm 0,06#	2,09 \pm 0,11	1,72 \pm 0,12#	1,84 \pm 0,11
Triglicerid (mmol/l)	0,75 \pm 0,09	2,79 \pm 0,43*	1,26 \pm 0,09#	1,80 \pm 0,20*	1,26 \pm 0,25#	1,78 \pm 0,43*
GOT (U/l)	184 \pm 14,6	188 \pm 25,7	209 \pm 26,4	179 \pm 21,4	203 \pm 20,5	189 \pm 11,6
GPT (U/l)	52,5 \pm 1,89	68,4 \pm 8,01	74,5 \pm 3,18	72,6 \pm 7,14	74,0 \pm 6,70	72,6 \pm 13,8

4.1.2. Neuroendokrin paraméterek és szérumbDNF szint változása T1DM állatmodellben

A krónikus stressz állapotot kísérő jellegzetes neuroendokrin elváltozások közé tartozik a tímusz tömegének csökkenése és a mellékvese megnagyobbodása. Ezeket a tüneteket kísérletes és klinikai modellekben is igazolták, mind depresszió, mind cukorbetegség kapcsán [158]. Az irodalmi adatokkal egybehangzóan mi is megnagyobbodott mellékvesét és a tímusz tömegének csökkenését mértük a DM csoportban. Az értékeket a FLU kezelés nem befolyásolta.

Ismert, hogy a krónikus stresszállapot, így a depresszió vagy a cukorbetegség hatással van a szérumbDNF mennyiségére is [159, 160]. Kísérleteinkben visszaigazoltuk, hogy DM-ben jelentősen csökken a szérumbDNF szintje, amelyet az egyes kezelések nem változtattak (3. táblázat).

3. táblázat. Neuroendokrin paraméterek és szérumbDNF szint kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban. Mellékvese, tímusz testtömegre vonatkoztatott tömege és szérumbDNF szintje, diabéteszes (D) és kontroll, diabéteszes (D), 20 mg/ttkg (D+FLU20) vagy 2 mg/ttkg (D+FLU2) vagy FLU + 1 mg/ttkg S1R antagonistá NE100-zal kezelt állatokban. BDNF: brain-derived neurotrophic factor, FLU: fluvoxamin, S1R: sigma-1 receptor. Az értékeket átlag ± SEM ábrázoltuk. *p<0,05 vs. Kontroll; N=7-8/csoport.

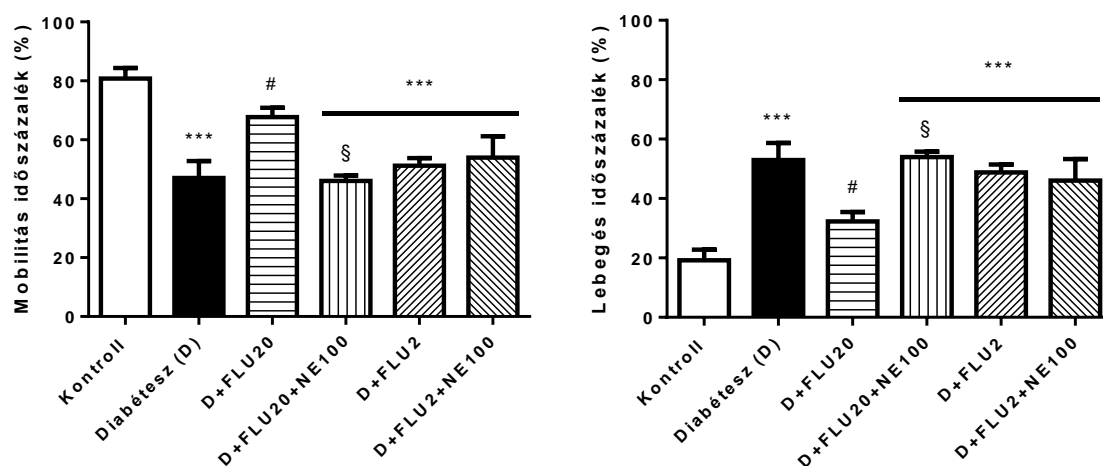
	Kontroll	Diabétesz (D)	D+FLU20	D+FLU20+NE100	D+FLU2	D+FLU2+NE100
Mellékvese relatív súlya (g/ttkg)	0,11±0,00	0,18±0,01*	0,20±0,01*	0,20±0,02*	0,19±0,01*	0,20±0,02*
Tímusz relatív súlya (g/ttkg)	1,64±0,14	0,82±0,12*	0,80±0,07*	0,73±0,08*	0,69±0,06*	0,64±0,16*
SzérumbDNF szint (µg/ml)	7,78±0,78	3,78±0,21*	3,66±0,43*	3,62±0,30*	4,61±0,45*	2,89±0,38*

4.1.3. A FLU mérsékli a DM-indukált depresszió-szerű viselkedést T1DM állatmodellben

A DM során jelentkező depresszió-szerű viselkedést a cukorbeteg állatmodellek esetében általánosan alkalmazott Porsolt-féle erőltetett úszás teszttel határoztuk meg. A DM 7 hetes fennállását követően depressziós tünetegyüttes alakult ki, amit a lebegés időtartamának növekedése jellemzett a cukorbeteg állatokban. Ezzel párhuzamosan a DM

csoportban csökkent a mobilitási mozgások ideje, külön vizsgálva az egyes mobilitási mintázatokat az úszás és a kapálózás időtartama szignifikánsan csökkent (4. táblázat).

Az antidepresszáns FLU kezelés során dóziszfüggő hatást tapasztaltunk, ugyanis csak a 20 mg/ttkg dózisú FLU javította a depresszióra jellemző viselkedés mintázatot, míg a 2 mg/ttkg dózis hatástalan volt. A specifikus S1R antagonistá NE100 felfüggesztette a FLU jótékony hatását (12. ábra).



12. ábra. Az erőltetett úszás teszt kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban. Mobilitási és lebegési időszázalék kontroll, diabéteszes (D), 20 mg/ttkg (D+FLU20) vagy 2 mg/ttkg (D+FLU2) vagy FLU + 1 mg/ttkg S1R antagonistá NE100-zal kezelt diabéteszes állatokban. A mobilitási paramétert az úszás, kapálózás és búvárkodás időszázalékának összege adja. FLU: fluvoxamin, S1R: sigma-1 receptor. Az értékeket átlag \pm SEM tüntettük fel. *** p <0,001 vs. Kontroll; # p <0,05 vs. D, § p <0,05 vs. D+FLU20; N=7-8/csoport.

Mivel cukorbetegség kapcsán romlik a fizikai állapotot, az úszásteszt mellett indokolt a nyílt porond tesztet elvégzése, mellyel az állatok lokomotoros aktivitása határozható meg. Így bizonyítható, hogy a kezelésekre hatására jelentkező mobilitási időszázalék javulás nem csak a jobb fizikai állapotnak köszönhető, hanem valóban az antidepresszáns hatás következménye. A cukorbeteg patkányoknak lokomotoros aktivitása csökkent, mely rosszabb általános fizikai állapotot jelez. A cukorbeteg állatok csökkent lokomotoros aktivitásán sem a FLU, sem az NE100-kezelés nem változtatott, vagyis ez a paraméter nem befolyásolta a további viselkedési teszt eredményeit (4. táblázat). Az antidepresszáns kezelés nem növelte a vonalátlépések számát a DM

csoporthoz viszonyítva, vagyis nem eredményezett fizikai állapotjavulást. Mindez bizonyítja, hogy a nagyobb dózisú FLU terápia a fizikai állapot befolyásolása nélkül fejtette ki antidepresszív hatását.

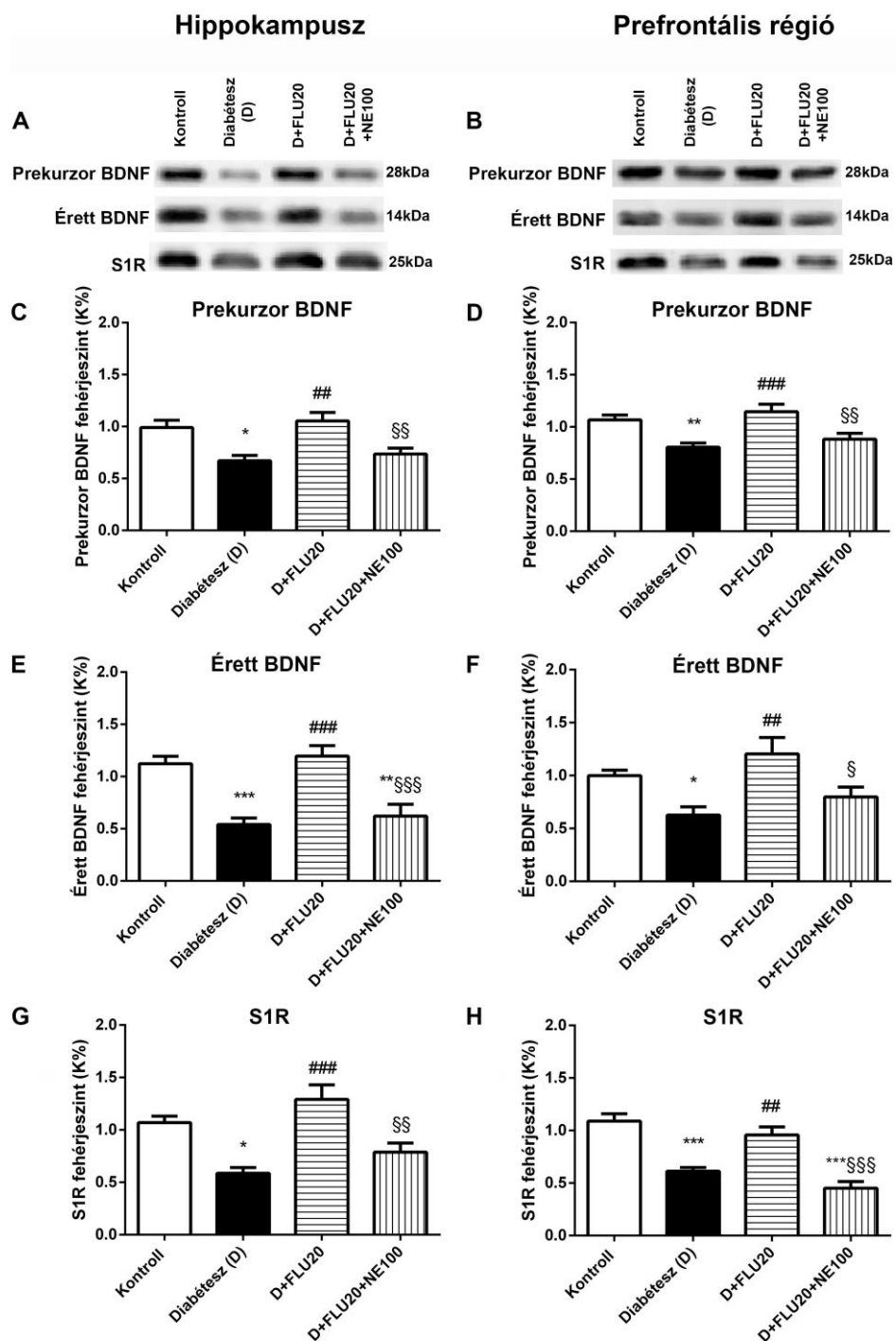
4. táblázat. Az erőltetett úszás teszt mobilitási paramétereit és a porond teszt értékelését kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban. Az egyes mobilitási paraméterek (kapálózás, úszás és búvárkodás) időszázaléka és a vonalátlépések száma kontroll, diabéteszes (D), 20 mg/ttkg (D+FLU20) vagy 2 mg/ttkg (D+FLU2) vagy FLU + 1 mg/ttkg S1R antagonistá NE100-zal kezelt diabéteszes állatokban. FLU: fluvoxamin, S1R: sigma-1 receptor. Az adatokat átlag ± SEM ábrázoltuk. *p<0,05 vs. Kontroll; N=7-8/csoport.

Mobilitás időszázalék (%)	Kontroll	Diabétesz (D)	D+FLU20	D+FLU20 +NE100	D+FLU2	D+FLU2+NE100
Kapálózás	31,1±3,11	17,8±0,87*	21,0±1,90	17,7±3,06*	24,5±2,52	26,4±3,58
Úszás	49,1±3,50	28,8±6,36*	44,3±2,31	28,1±3,68*	25,3±3,85*	27,1±6,24*
Búvárkodás	0,42±0,18	0,33±0,22	2,26±1,31	0,11±0,11	1,22±0,37	0,34±0,21
Vonalátlépések száma porond tesztben	398±52,4	156±48,2*	91±25,9*	142±34,6*	87,0±41,9*	60,5±21,9*

4.1.4. A FLU növeli az agyi BDNF és S1R fehérjeszinteket T1DM állatmodellben

A depresszió és a cukorbetegség kialakulása során elsődlegesen érintett agyi területek a hippokampusz és a prefrontális cortex [86], ezért a BDNF és S1R fehérje szinteket ezekben az agyi régiókban határoztuk meg. Mivel a 2 mg/ttkg FLU dózis hatástalan volt a depresszió-szerű viselkedés kivédésében, ezért a fehérjeszinteket csak a 20 mg/ttkg FLU dózis esetén vizsgáltuk.

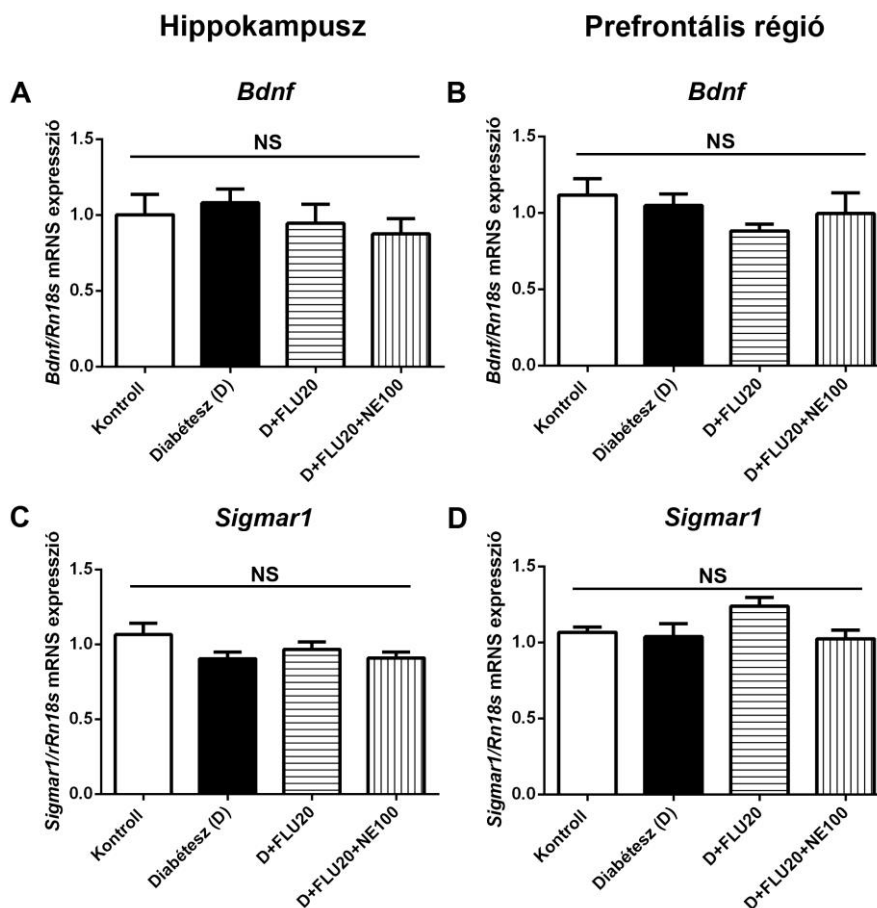
A prekursor és érett BDNF, valamint a S1R mennyisége is lecsökkent a diabéteszes patkányok hippokampuszában és prefrontális régiójában. FLU kezelés hatására mindegyik vizsgált fehérje mennyisége emelkedett, a növekedést az NE100 felfüggesztette (13. ábra).



13. ábra. Prekurzor és érett BDNF fehérjesszint kontroll, kezeltlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban. Az ábra felső része reprezentatív immunoblot képeket mutat (A, B). A grafikonok a prekurzor (C, D), érett (E, F) BDNF és S1R (G, H) fehérjesszinteket ábrázolják kontroll, diabéteszes (D) és 20 mg/ ttkg (D+FLU20) vagy FLU+1 mg/ ttkg S1R antagonistá NE100-zal kezelt diabéteszes állatok hipokampuszában és prefrontális régiójában. BDNF: brain-derived neurotrophic factor, S1R: sigma-1 receptor, FLU: fluvoxamin. Az értékeket átlag \pm SEM adtuk meg. * $p < 0,05$ vs. Kontroll, ** $p < 0,01$ vs. Kontroll, *** $p < 0,001$ vs. Kontroll; ## $p < 0,01$ vs. D, ### $p < 0,001$ vs. D, §§ $p < 0,01$ vs. D+FLU20, §§§ $p < 0,001$ vs. D+FLU20; N=7-8/csoport.

4.1.5. A DM és FLU nem befolyásolja a *Bdnf* és *Sigmar1* mRNS expresszióját

A *Bdnf* és a *Sigmar1* mRNS expresszióját, sem a DM, sem a kezelések nem változtatták a vizsgált agyi régiókban (14. ábra).



14. ábra. *Bdnf* és *Sigmar1* mRNS expresszió kontroll, kezeletlen és FLU-val kezelt diabéteszes állatokban. A grafikonok a *Bdnf* (A, B) és *Sigmar1* (C, D) mRNS expressziót ábrázolják kontroll, diabéteszes (D), 20 mg/ttkg (D+FLU20) vagy FLU + 1 mg/ttkg S1R antagonistá NE100-zal kezelt diabéteszes állatok hipokampuszában és prefrontális régiójában. *Bdnf*: brain-derived neurotrophic factor, S1R/ *Sigmar1*: sigma-1 receptor, *Rn18s*: 18S riboszómális RNS, FLU: fluvoxamin, NS: nem szignifikáns. Az értékeket átlag \pm SEM adtuk meg, N=7-8/csoport.

4.2. II. Kísérletsorozat: RAAS-gátló kezelés T1DM állatmodellben

4.2.1. A RAAS-gátló szerek non-depresszor dózisának igazolása T1DM állatmodellben

Az állatok vérnyomását a RAAS-gátló kezelések megkezdése előtt, a DM ötödik hetében; valamint a két hetes kezelési periódus végén mértük. A RAAS inhibitorok dózisait korábbi kísérleteink és irodalmi adatok alapján úgy választottuk meg, hogy antihipertenzív tulajdonságuktól függetlenül gátolják a RAAS megfelelő elemeinek expresszióját, illetve aktivitását [144-149].

A cukorbeteg állatok vérnyomása a vizsgálati periódus alatt egyik kezelési csoportban sem változott, ami igazolja a megfelelő, non-depresszor dózisok kiválasztását (5. táblázat).

5. táblázat. Artériás középnyomás értékek kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban. Kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt 7 hetes diabéteszes állatok artériás középnyomás értékei. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer. Az adatokat átlag \pm SEM adtuk meg. * $p < 0,05$ vs. Kontroll; # $p < 0,05$ vs. D; N=7-8/csoport.

	Kontroll	Diabétesz (D)	D+ENA	D+RAM	D+LOZ	D+EPL	D+SPI
Artériás középnyomás (Hgmm)	74,7 \pm 3,83	73,9 \pm 4,48	62,9 \pm 2,72	72,3 \pm 2,79	73,8 \pm 7,13	77,3 \pm 6,73	77,4 \pm 8,16

4.2.2. A RAAS-gátló szerek javították a metabolikus paramétereket T1DM állatmodellben

A II. kísérletsorozatban az I. sorozathoz hasonló metabolikus elváltozásokat figyeltünk meg a 7 hetes periódus végén a cukorbeteg csoportban: csökkent a testsúly, emelkedett a szérum vércukor, fruktózamin és lipid-szint. Az enalapril és eplerenon szignifikánsan, míg a többi RAAS-gátló csak tendenciájában, de gátolta az állatok súlyvesztését. A lipid metabolizmus javításában az enalapril és az aldoszteron

antagonisták bizonyultak hatékonyak. A májkárosodás markereként használt GOT és GPT értéke nem változott DM ill. RAAS-gátló kezelések hatására sem.

A RAAS-gátlók – különösen az aldoszteron antagonisták – esetében gyakori klinikai tapasztalat a szerek hiperkalémizáló hatása, azonban kísérleteinkben az alkalmazott RAAS-gátló dózisok mellett nem tapasztaltuk a szérumban kálium szint emelkedését (6. táblázat).

6. táblázat. Metabolikus laborparaméterek kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban. Kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt diabéteszes állatok metabolikus laborparaméterei. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer, GOT: glutamát-oxalacetát aminotranszferáz, GPT: glutamát-piruvát-transzamináz. Az értékeket átlag ± SEM adtuk meg. *p<0,05 vs. Kontroll; #p<0,05 vs. D; N=7-8/csoport.

	Kontroll	Diabétesz (D)	D+ENA	D+RAM	D+LOZ	D+EPL	D+SPI
Testsúly (g)	425±9,97	258±12,0*	308±9,46*#	265±6,55*	275±6,19*	300±9,31*	268±11,1*
Súlynövekedés (Δg)	230±10,0	59,2±9,70*	110±11,8*#	73,8±3,75*	80,0±8,17*	110±9,66*#	77,5±9,81*
Glükóz (mmol/l)	12,6±0,58	47,3±3,98*	35,2±3,23*	44,1±1,87*	43,7±2,44*	34,8±1,82*	42,6±1,29*
Fruktózin (μmol/l)	55,3±1,40	66,3±2,25*	66,3±3,41*	60,5±1,83	67,6±3,08*	65,0±2,51*	65,1±2,95*
Koleszterin (mmol/l)	1,90±0,05	2,28±0,06*	1,82±0,10#	2,18±0,09	2,06±0,08	1,82±0,14#	1,72±0,11#
Triglicerid (mmol/l)	0,57±0,07	1,90±0,50*	0,99±0,43	0,98±0,34	1,31±0,37	0,88±0,09	1,13±0,12
GOT (U/l)	168±8,20	221±27,0	186±21,6	194±30,2	158±31,6	156±12,2	160±14,7
GPT (U/l)	53,9±1,53	74,5±9,18	76,2±10,7	82,7±11,4	88,9±14,7	70,9±6,74	74,3±7,41
Kálium (mmol/l)	6,01±0,12	7,69±0,38*	6,38±0,53*	8,12±1,03*	7,93±0,36*	7,84±0,23*	7,49±0,30*

4.2.3. A RAAS-gátló szerek javították a veseműködést T1DM állatmodellben

A vizsgálati periódus végére a diabéteszes állatokban DNP-re jellemző funkcionális eltérések jelentkeztek: növekedett a vese/testtömeg arány, a szérum kreatinin és urea nitrogén szint, fokozódott a glükózürítés és a mikroalbuminúria, valamint csökkent a kreatinin-clearance.

A RAAS-gátlók mérsékeltek a vese hipertrófiát, csökkentették a glükózürítést, valamint javították az urea nitrogén és kreatinin clearance paramétereiket (7. táblázat).

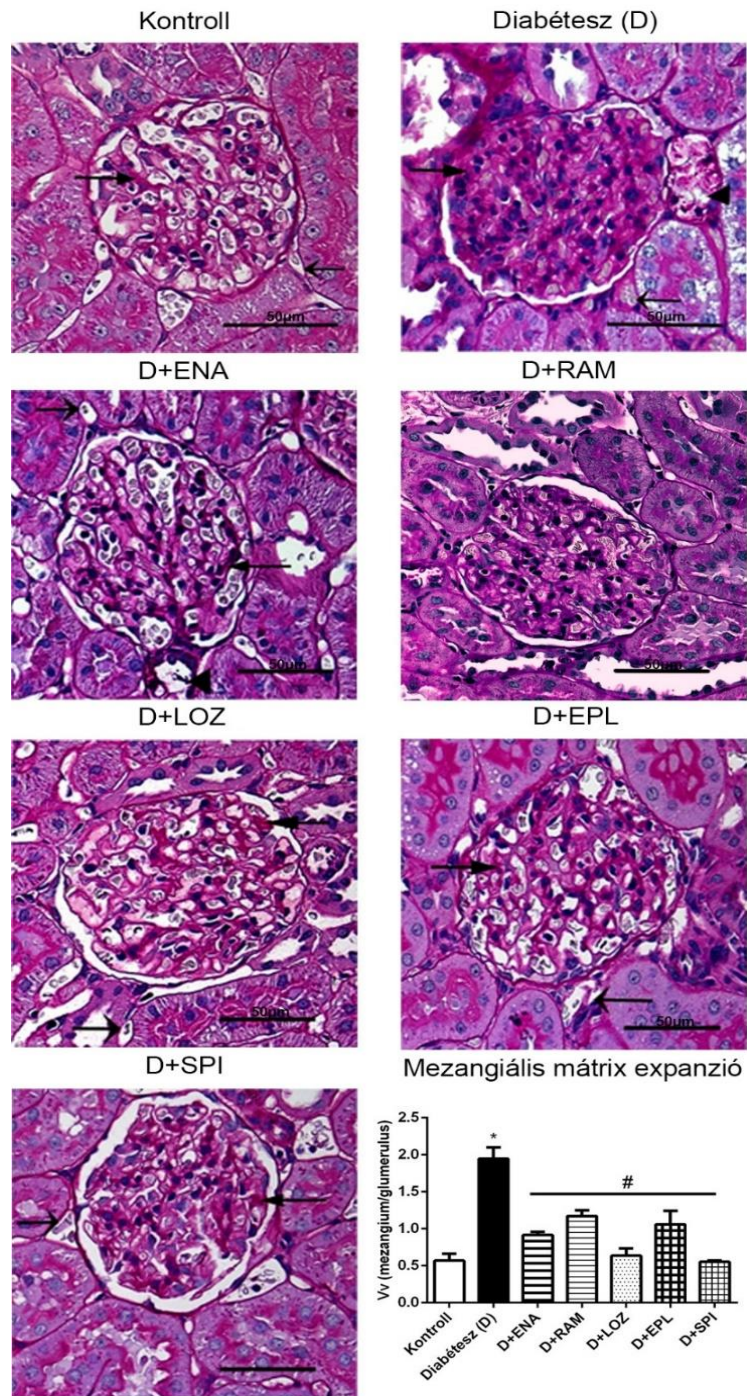
7. táblázat. Renális laborparaméterek kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban. Kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal kezelt (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) diabéteszes állatok renális paraméterei. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer, DN: detektálhatatlan. Az értékeket átlag \pm SEM adtuk meg. * $p < 0,05$ vs. Kontroll; # $p < 0,05$ vs. D; N=7-8/csoport.

	Kontroll	Diabétesz (D)	D+ENA	D+RAM	D+LOZ	D+EPL	D+SPI
Vese/testtömeg x 100	0,71 \pm 0,05	1,61 \pm 0,32*	1,42 \pm 0,32	1,33 \pm 0,21#	1,35 \pm 0,12#	1,31 \pm 0,08#	1,33 \pm 0,21#
Szérum kreatinin (μ mol/l)	55,3 \pm 1,40	66,3 \pm 2,25*	66,3 \pm 3,41*	60,5 \pm 1,83	67,6 \pm 3,08*	65,0 \pm 2,51*	65,1 \pm 2,95*
Urea nitrogén (mmol/l)	8,09 \pm 0,18	28,3 \pm 3,08*#	18,8 \pm 2,24*#	19,3 \pm 1,29*#	18,1 \pm 1,84*#	21,0 \pm 1,04*#	18,6 \pm 1,39*#
Glükózúria (mmol/l)	DN	371 \pm 28,3*	312 \pm 22,3*	300 \pm 40,8*	374 \pm 26,7*	312 \pm 32,6*	314 \pm 24,5*
Mikroalbuminúria (mg/24h vizeletben)	DN	95,8 \pm 15,9*	99,6 \pm 11,0*	96,4 \pm 12,7*	81,9 \pm 29,3*	71,2 \pm 6,04*	69,3 \pm 14,4*
Kreatinin-clearance (ml/min)	1,02 \pm 0,04	0,64 \pm 0,08*	1,08 \pm 0,16#	0,98 \pm 0,04#	0,89 \pm 0,10	0,98 \pm 0,10#	1,08 \pm 0,10#

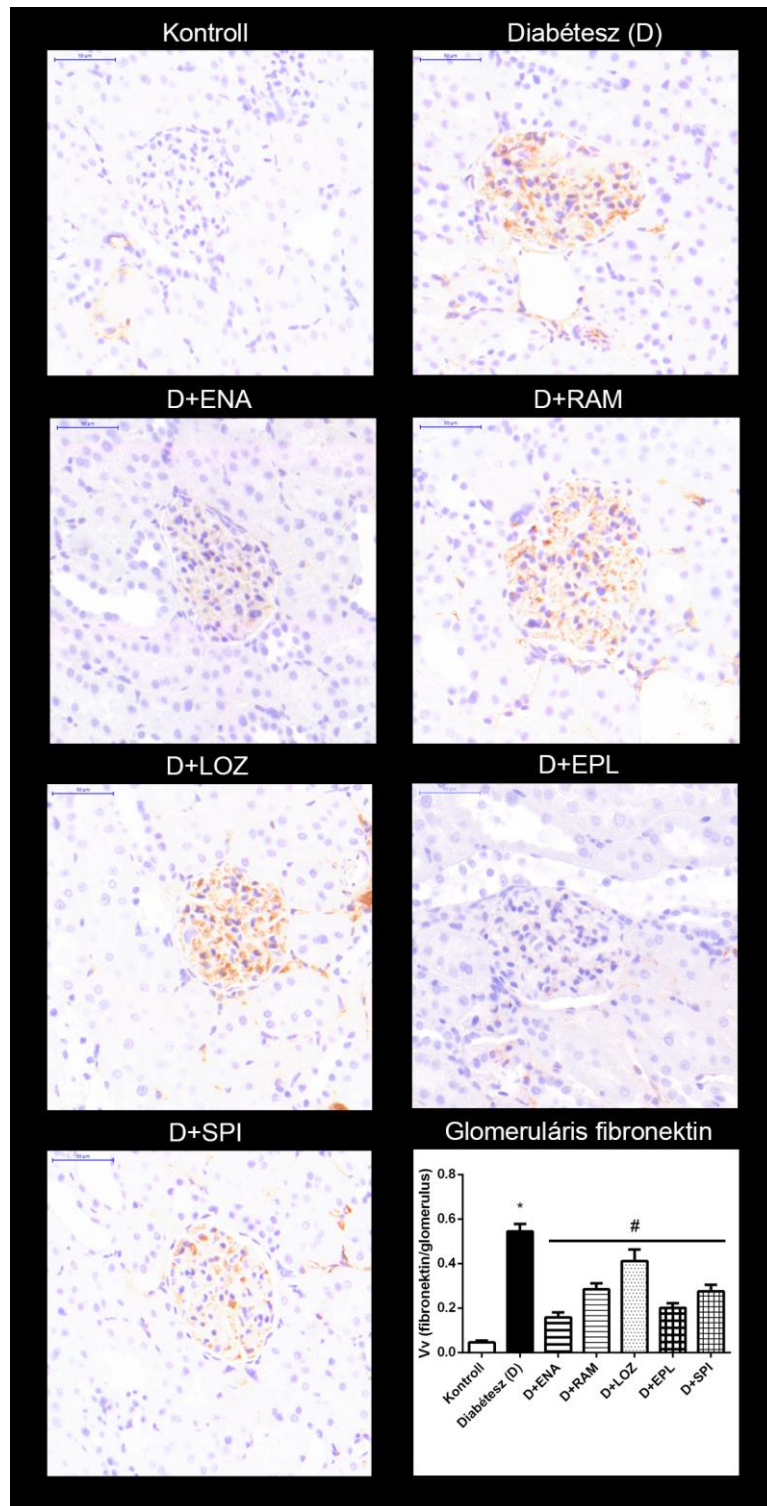
4.2.4. A RAAS-gátló szerek mérsékeltek a DNP-re jellemző strukturális és fibrotikus elváltozásokat T1DM állatmodellben

A vesében a mezangiális mátrix expansió mértékét PAS festett metszeteken határoztuk meg. A kontroll állatok vesestruktúrája egészséges szövettani szerkezetet mutatott, míg DM-ben beszűkült kapilláris lument és erőteljes mezangiális mátrix felszaporodást tapasztaltunk a glomerulusokban. Az összes RAAS-gátló csökkentette a mezangiális mátrix DM-indukálta kiterjedését, ezáltal a glomerulusok károsodását (15. ábra).

A vesefibrózis folyamatának kiemelt jelentősége van a DNP progressziójában. Fibrózis során felszaporodik az extracelluláris mátrix, melynek egyik fő komponense a fibronectin. A diabéteszes állatokban nagyfokú fibronectin festődést detektáltunk a glomerulusokban, illetve kisebb mennyiségben a tubulointersticiális régióban. A RAAS-gátló kezelések a fibronectin felszaporodást jelentősen csökkentették, azaz anti-fibrotikus hatásúnak bizonyultak (16. ábra).



15. ábra. Mezangiális mátrix kiterjedése kontroll, kezeltlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatok veséiben. Kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D + ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt állatok perjódsav-Schiff festett vese metszetek reprezentatív képei (200x nagyítás; lépték 50 μ m). A mezangiális mátrix expanszió (Vv) mértékét a mezangiális mátrix/ glomerulus terület arányával határoztuk meg. A fekete nyilak a püspöklila festődésű mezangiális mátrixot ábrázolja a glomerulusokban. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer. Az adatokat átlag \pm SEM ábrázoltuk. * $p < 0,05$ vs. Kontroll; # $p < 0,05$ vs. D; N=7-8/csoport.



16. ábra. A fibrózis mértéke kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatok veséiben. Kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt diabéteszes állatok fibronektin festett vese metszetek reprezentatív képei (200x nagyítás; lépték 50 μ m). A fibrózis (Vv) mértékét a fibronektin/ glomerulus terület arányával határoztuk meg. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer Az adatokat átlag \pm SEM adtuk meg. * $p < 0,05$ vs. Kontroll; # $p < 0,05$ vs. D; N=7-8/csoport.

4.2.5. Neuroendokrin paraméterek és szérumbDNF szint változása T1DM állatmodellben

Az I. kísérletsorozatot visszaigazolván, a II. kísérletsorozatban is hasonló neuroendokrin elváltozásokat tapasztaltuk a DM csoportban: a mellékvese relatív tömege nőtt, a tímusz tömege pedig csökkent a kontroll állatokhoz képest. A RAAS-gátlók nem befolyásolták a tímusz tömegét. Az ACE-gátló enalapril és ramipril, valamint ARB lozartán hatására nem változott, az aldoszteron antagonistá eplerenon és spironolakton hatására azonban megemelkedett a mellékvese tömege.

Hasonlóan I. kísérletsorozatunkhoz a szérumbDNF szintje lecsökkent cukorbeteg állatokban. A RAAS-gátló kezelések nem befolyásolták a BDNF szérumszintjét (8. táblázat).

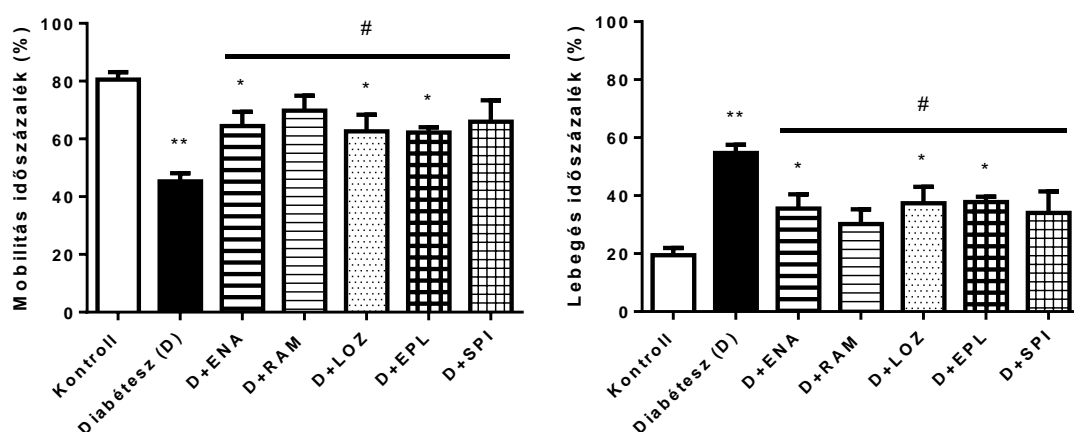
8. táblázat. Neuroendokrin paraméterek és szérumbDNF szint kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban. Kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt diabéteszes állatok mellékvese, tímusz relatív tömege és szérumbDNF szintje. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer, BDNF: brain-derived neurotrophic factor. Az értékeket átlag ± SEM formában ábrázoltuk. *p<0,05 vs. Kontroll; #p<0,05 vs. D; N=7-8/csoport.

	Kontroll	Diabétesz (D)	D+ENA	D+RAM	D+LOZ	D+EPL	D+SPI
Mellékvese relatív súlya (g/ttkg)	0,11±0,00	0,19±0,01*	0,16±0,03	0,18±0,01*	0,19±0,02*	0,32±0,02*#	0,29±0,01*#
Tímusz relatív súlya (g/ttkg)	2,00±0,08	0,73±0,11*	0,85±0,11*	0,97±0,08*	0,63±0,06*	0,55±0,02*	0,61±0,08*
SzérumbDNF szint (µg/ml)	7,24±0,76	2,26±0,18*	1,44±0,13*	1,97±0,15*	1,48±0,20*	1,70±0,18*	1,68±0,08*

4.2.6. A RAAS-gátló szerek javítják a DM-indukálta depresszió-szerű viselkedést T1DM állatmodellben

A depresszió-szerű viselkedés megállapítására ebben a kísérletsorozatban is az erőltetett úszás tesztet alkalmaztuk. A diabéteszes állatoknál csökkent a mobilitás, és nőtt a lebegés (immobilitás) időszázaléka, mely igazolta a DM-indukálta depresszió-szerű viselkedés kialakulását. Az összes RAAS-gátló kezelés megnövelte a mobilitás

időszázalékát, mely a RAAS-gátlók antidepresszáns-szerű hatását igazolta T1DM patkánymodellben. Az egyes mobilitási paraméterek külön-külön vizsgálva is javuló tendenciát mutattak mindegyik RAAS-gátló kezelés hatására, az ACE-gátló enalapril és ramipril szignifikánsan javította az úszási paramétert (17. ábra).



17. ábra. Az erőltetett úszás teszt kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban. Kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D + ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt állatok mobilitási és lebegési időszázaléka. A mobilitási paramétert az úszás, kapálózás és búvárkodás időszázalékának összege adja meg. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer. Az értékeket átlag \pm SEM tüntettük fel. * $p < 0,05$ vs. Kontroll; ** $p < 0,01$ vs. Kontroll; # $p < 0,05$ vs. D; N=7-8/csoport.

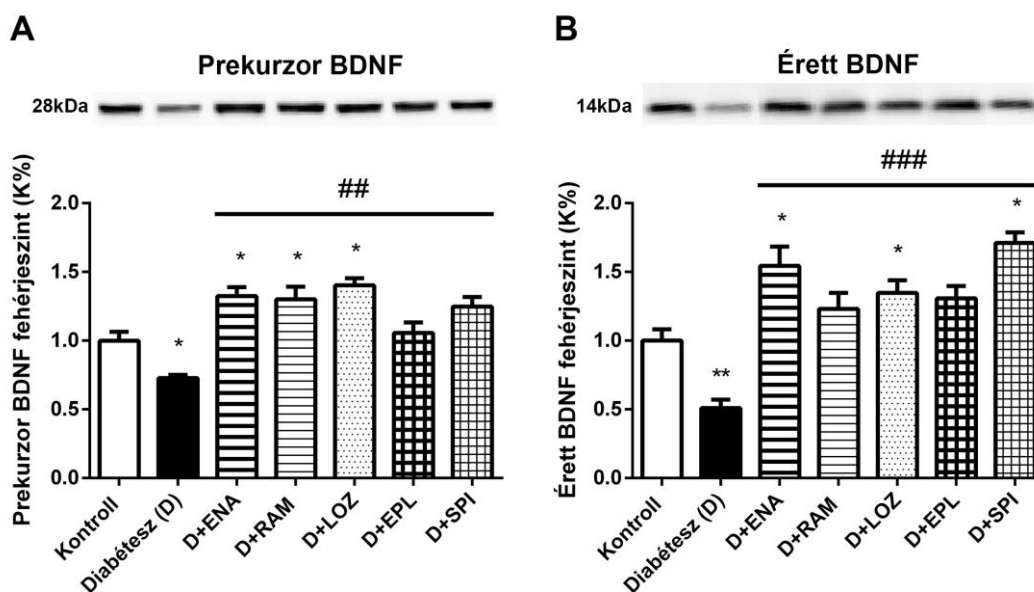
A diabéteszes csoportban a kevesebb vonalátlépés a lokomotoros aktivitás csökkenésére utalt, melyet a RAAS-gátlók nem változtattak (9. táblázat). Tehát a RAAS-gátló kezelések nem eredményeztek jobb fizikai állapotot, vagyis az úszásteszt során kapott jobb mobilitási időszázalék igazolja a RAAS inhibitor kezelések antidepresszáns hatását.

9. táblázat. Az erőltetett úszás teszt mobilitási paramétereit és a porond teszt kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatokban. Az egyes mobilitási paraméterek (kapálózás, úszás és búvárkodás időszázaléka és a vonalátlépések száma kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt diabéteszes állatokban. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer. Az adatokat átlag \pm SEM ábrázoltuk. * $p < 0,05$ vs. Kontroll; # $p < 0,05$ vs. D; N=7-8/csoport.

Mobilitás időszázalék (%)	Kontroll	Diabétesz (D)	D+ENA	D+RAM	D+LOZ	D+EPL	D+SPI
Kapálózás	25,4 \pm 2,44	19,7 \pm 0,79	26,0 \pm 1,32	24,2 \pm 2,43	29,7 \pm 4,16	29,0 \pm 5,81	22,2 \pm 3,23
Úszás	54,7 \pm 2,85	23,5 \pm 2,43*	41,2 \pm 3,31 [#]	49,5 \pm 5,92 [#]	34,4 \pm 2,86*	34,6 \pm 4,08*	31,8 \pm 3,13*
Búvárkodás	1,50 \pm 0,39	0,76 \pm 0,28	1,07 \pm 0,44	0,27 \pm 0,15	0,80 \pm 0,57	1,67 \pm 0,95	1,81 \pm 0,67
Vonal-átlépések száma porond tesztben	432 \pm 47,2	123 \pm 41,1*	102 \pm 39,4*	134 \pm 35,4*	112 \pm 44,1*	158 \pm 23,9*	129 \pm 17,5*

4.2.7. A RAAS-gátló szerek hatása az agyi prekursor és érett BDNF szint változásaira T1DM állatmodellben

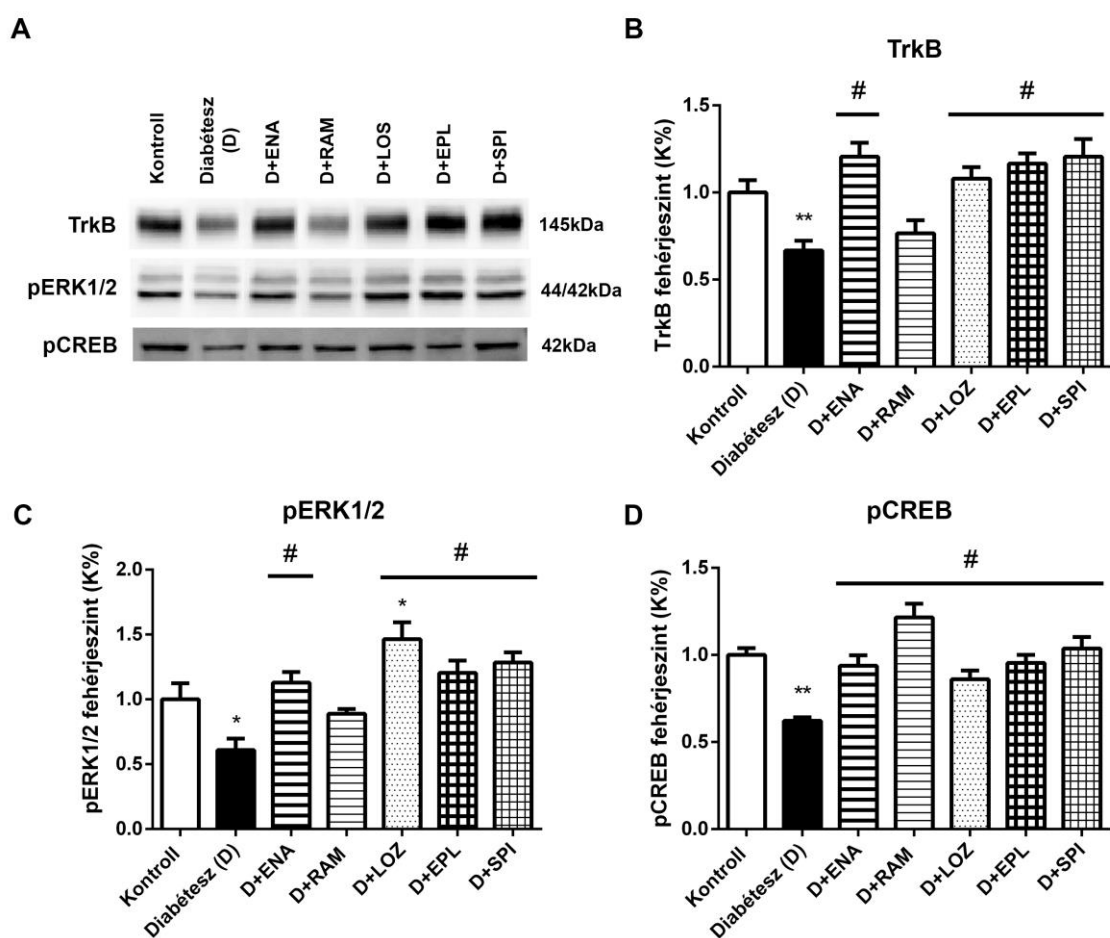
A prekursor formaként szintetizálódó BDNF további hasítások révén érett BDNF-fé alakul. A diabéteszes állatok hippokampuszában mind a prekursor, mind az érett BDNF szintje csökkent. A RAAS-gátló kezelések megakadályozták a BDNF szint csökkenését, sőt kompenzatorikus növekedést eredményeztek (kivételesen aldoszteron-antagonisták) (18. ábra).



18. ábra. Prekurzor és érett BDNF fehérjeszint kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatok hippokampuszában. Az ábrák felső része a fehérjék reprezentatív immunoblotjait mutatják. A grafikonok a prekurzor (A) és érett (B) BDNF fehérje mennyiségét ábrázolja kontroll, diabéteszes (D) és (RAAS-gátlókkal (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt diabéteszes állatok hippokampuszában. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer, BDNF: brain-derived neurotrophic factor. Az értékeket átlag ± SEM ábrázoltuk. *p<0,05 vs. Kontroll; **p<0,01 vs. Kontroll, #p<0,05 vs. D, ##p<0,01 vs. D, ###p<0,001 vs. D; N=7-8/csoport.

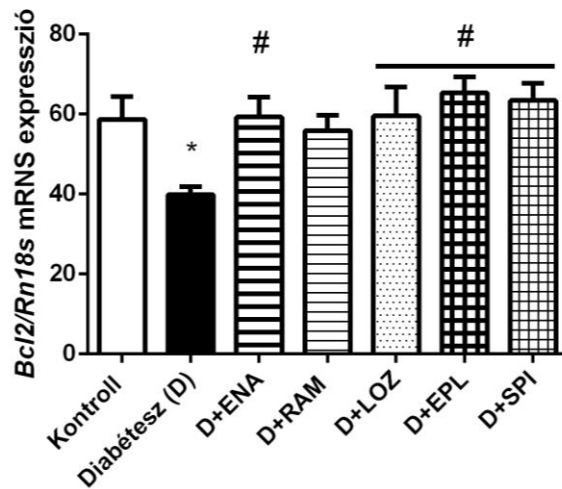
4.2.8. A RAAS-gátlók fokozzák az agyi TrkB - ERK - CREB - Bcl2 szignalizációs útvonalat T1DM állatmodellben

Az érett BDNF a neuronok túlélését és differenciációját a TrkB aktiválása révén beindított jelátviteli utakon keresztül idézi elő. Kísérletünkben a TrkB fehérje mennyisége DM hatására lecsökkent, és ezzel párhuzamosan a TrkB által aktivált jelátviteli útvonal főbb fehérjéinek, az ERK1/2 és CREB foszforilált formájának mennyisége is alacsonyabb volt a cukorbeteg állatokban. A RAAS-gátlók – a ramipril kivételével – növelték a receptor mennyiségét és emelték a foszforilált ERK1/2 és a CREB szintjét (19. ábra).



19. ábra. TrkB, pERK1/2, pCREB fehérjeszint kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatok hippokampuszában. Az ábra felső része a fehérjék reprezentatív immunoblotjait mutatja (A). A grafikonok a TrkB (B), foszforilált ERK1/2 (C) és CREB (D) fehérjeszintjét ábrázolja kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt diabéteszes állatok hippokampuszában. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer, TrkB: tropomyosin receptor kinase B, pERK1/2: phospho extracellular signal–regulated kinase 1/2, pCREB: phospho cAMP responsive element binding protein. Az értékeket átlag \pm SEM ábrázoltuk. * $p < 0,05$ vs. Kontroll; ** $p < 0,01$ vs. Kontroll, # $p < 0,05$ vs. D; N=7-8/csoport.

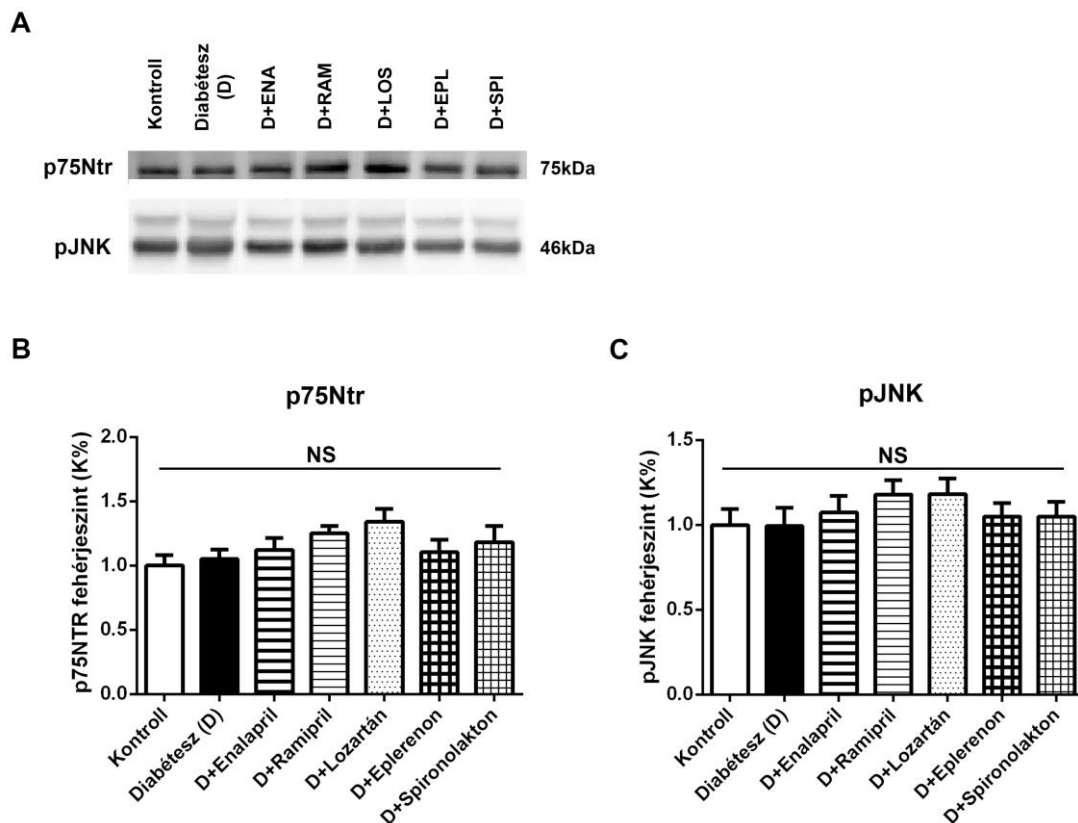
A szignalizációs útvonal végén a CREB transzkripció faktor aktivációja révén fokozódik az anti-apoptotikus *Bcl2* mRNS expressziója. Ezzel összhangban méréseink során a cukorbeteg patkányok hippokampuszában csökkent a CREB aktivációja, ezzel párhuzamosan a CREB által indukált *Bcl2* mRNS expressziója is alacsonyabb volt. A RAAS-gátlók növelték a foszforilált CREB mennyiségét, és emelkedett a *Bcl2* szintje is a kezelések hatására (20. ábra).



20. ábra. *Bcl2* mRNS expresszió kontroll, kezeletlen és RAAS-gátlókkal kezelt diabéteszes állatok hippokampuszában. A grafikon a *Bcl2* mRNS expresszióját ábrázolja kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt diabéteszes állatok hippokampuszában. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer, *Bcl2*: B cell lymphoma 2, *Rn18s*: 18S riboszómális RNS. Az értékeket átlag \pm SEM ábrázoltuk. * $p < 0,05$ vs. Kontroll, # $p < 0,05$ vs. D; N=7-8/csoport.

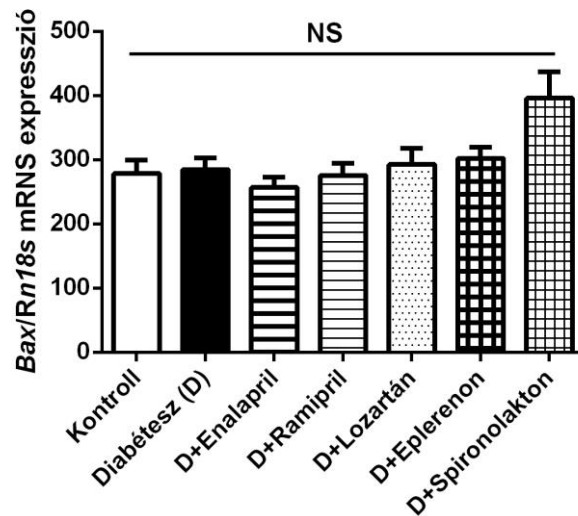
4.2.9. A RAAS-gátlók az agyi p75Ntr - JNK - Bax szignalizációs útvonalat nem befolyásolják T1DM állatmodellben

A prekursor BDNF jelátviteli útjának másik ága a p75Ntr - JNK - Bax szignalizációs útvonal. Méréseink alapján sem a DM sem a RAAS-gátlók nem befolyásolták a prekursor forma receptorának, a p75Ntr-nek, valamint az általa elindított jelátviteli útvonalban szereplő JNK foszforilált formájának mennyiségét a hippokampuszban (21. ábra).



21. ábra. p75Ntr, pJNK fehérjeszint kontroll, kezeletlen és RAAS-gátló szerekkel kezelt diabéteszes állatok hippocampusában. Az ábra felső része a fehérjék reprezentatív immunoblotjait mutatja (A). A grafikonok a p75Ntr (B), foszforilált JNK (C) fehérjeszintjét ábrázolja kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt diabéteszes állatok hippocampusában. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer, p75Ntr: a neurotrophin receptor p75, pJNK: phospho c-Jun N-terminal kinase, NS: nem szignifikáns. Az értékeket átlag \pm SEM ábrázoltuk. N=7-8/csoport.

A JNK által közvetetten indukált pro-apoptotikus *Bax* mRNS expressziója sem változott az egyes csoportokban, tehát eredményeink alapján a prekursor forma jelátviteli útvonala ebben a kísérleti felállásban nem aktiválódik (22. ábra).



22. ábra. *Bax* mRNS expresszió kontroll, kezeletlen és RAAS-gátló szerekkel kezelt diabéteszes állatok hippocampusában. A grafikon a *Bax* mRNS expresszióját ábrázolja kontroll, diabéteszes (D) és RAAS-gátlókkal (D+ENA: D+Enalapril, D+RAM: D+Ramipril, D+LOZ: D+Lozartán, D+EPL: D+Eplerenon, D+SPI: D+Spironolakton) kezelt diabéteszes állatok hippocampusában. RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer, *Bax*: Bcl2-associated X protein, *Rn18s*: 18S riboszómális RNS, NS: nem szignifikáns. Az értékeket átlag ± SEM ábrázoltuk. N=7-8/csoport.

5. MEGBESZÉLÉS

A DM és szövődményei napjaink globális népegészségügyi problémája, mely több mint 400 millió embert érint világszerte [161]. A cukorbetegség több mint 40%-a depressziós tünetekkel küzd, melyek rontják a metabolikus kontrollt és a betegek terápiához való hozzáférést, valamint növelik a DM-indukálta szövődmények kialakulását és a mortalitást [162, 163]. A depresszió gyakori előfordulásának ellenére a DM-hez társuló hangulatzavarok sokszor nem kerülnek felismerésre és a betegek nem részesülnek megfelelő terápiában. A kezelés eredményességét tovább nehezíti, hogy a DM és a depresszió közötti pontos patofiziológiai kapcsolat mindmáig nem tisztázott.

A T1DM és a depresszió közötti kapcsolat pontosabb megértésének céljából preklinikai vizsgálatainkban, cukorbetegség patkánymodelljében két kísérletsorozatot végeztünk el. Az elsőben a klinikumban általánosan alkalmazott antidepresszáns FLU kezelés hatásmechanizmusát és jelátviteli útvonalát vizsgáltuk. A második kísérletsorozatban a DM szövődményeinek kezelésére alkalmazott RAAS-gátló szerek esetleges antidepresszív hatásának bizonyítását tűztük ki célul.

Eredményeinkkel igazoltuk, hogy a cukorbetegség depresszióra jellemző viselkedést és neuroendokrin szervi elváltozásokat eredményez. Megállapítottuk továbbá, hogy a S1R - BDNF - TrkB - Bcl-2 szignalizációs útvonal patognomikus jelentőségű DM-hez társuló depresszió kialakulásában.

A neuroendokrin változások háttérében a HPA-tengely hiperaktivációja állhat. Ismert, hogy a HPA-tengely hosszantartó túlműködése – a folyamatos CRH termelés és/vagy a negatív visszacsatolás megszűnése révén – a mellékvese megnagyobbodását eredményezi. A timociták pusztulásáért és így a timusz atrófiájáért pedig a krónikus stressz állapot (pl. a hiperglikémia) által indukált gyulladási reakciókat és a fokozott glükokortikoid termelődést teszik felelőssé [158, 164]. Mindezen irodalmi adatokkal megegyeztek saját kísérleti eredményeink, melyekben a DM által kiváltott krónikus stressz a neuroendokrin szervek fentiekhez hasonló változását eredményezte.

Tekintettel arra, hogy az STZ erőteljesen toxikus a limfoid szövetekre [165], felvetődhet a kérdés, hogy az STZ-indukált T1DM állatmodellben nem maga a vegyület adása okozta-e a timusz atrófiát. Mic és munkatársai a közelmúltban bizonyították, hogy egyértelműen a hiperglikémiás állapot okozza a timusz méretének csökkenését, ugyanis

a szerv atrófiája csak több nap elteltével jelentkezik, mikorra a rövid féleletidejű STZ már kiürül a szervezetből [166].

Nagyon kevés kísérletben vizsgálták a neuroendokrin szervek méretének változását az antidepresszánsok alkalmazásának függvényében. Egyes tanulmányok arról számoltak be, hogy krónikusan, enyhe stressznek kitett patkányokban az SSRI-típusú fluoxetin kezelés csökkenti a megnagyobbodott mellékvese méretét, illetve gátolja a tímusz súlycsökkenését [167, 168]. Ezekben a vizsgálatokban az antidepresszáns kezelést a depresszió indukciójával párhuzamosan kezdték, a szervek változása preventív jelleggel gátolható volt.

Kísérleteinkben elsőként vizsgáltuk DM állatmodellben a FLU mellékvese megnagyobbodására és a tímusz atrófiára gyakorolt hatását; és azt találtuk, hogy az alkalmazott antidepresszáns kezelések nem befolyásolták a neuroendokrin szervek méretét. Esetünkben a kezelést a DM 5 hetes fennállását követően kezdtük el, és azt feltételezzük, hogy a szervi elváltozások visszafordítására a 2 hetes kezelési periódus nem elegendő. Erre utalnak Kioukia-Fougia kísérletei is; triciklusos antidepresszáns kezelés csak a vizsgálat kezdetétől adva bizonyult hatékonynak a szervek méreteit illetően [169]. Tekintettel arra, hogy FLU kezelést mindeddig az irodalomban nem alkalmaztak, az is elképzelhető, hogy a FLU hatása/hatásmechanizmusa eltér a többi SSRI-tól [168].

Az STZ-indukált T1DM patkánymodelljében a depresszió-szerű viselkedés meghatározására az erőltetett úszás teszt a leginkább alkalmazott viselkedési teszt, ezért kísérleteink során ezt használtuk. Az erőltetett úszás tesztet régóta alkalmazzák antidepresszánsok hatásának vizsgálatára, ugyanis könnyen kivitelezhető és rendkívül megbízható [170]. Az állatoknál jelentkező immobilitás (lebegés) a reménytelenség érzetét tükrözi, mely egyfajta passzív coping mechanizmusként, depresszió-szerű viselkedésként értelmezhető [171]. A régebbi tanulmányok a gyógyszerek antidepresszáns hatásának tesztelésekor csak az immobilitás (lebegés) időszázalékát vették figyelembe, azonban később kiderült, hogy az aktív szakasz (úszás, kapálózás, búvárkodás) viselkedési mintázatainak időszázaléka is fontos információt tartalmaz. Detke és munkatársai kimutatták, hogy az antidepresszánsok fajtájától (SSRI vagy noradrenalin visszavételt gátlók) függetlenül az immobilitás ideje csökken, viszont a különböző szerek eltérő módon befolyásolják az úszás vagy kapálózás időtartamát. A szerotonin neurotranszmisszió fokozása főként az úszási paraméter időszázalékát növeli,

ezzel szemben a norepinefrin neurotranszmisszió emelkedése a kapálózás idejét hosszabbítja meg [172].

Az eddigiekben végzett tanulmányok a depresszió-szerű viselkedést a cukorbetegség kezdeti, egy hónapnál rövidebb fennállását követően értékelték. Az irodalomban munkacsoportunk vizsgálta elsőként a depressziós tünetegyüttes megjelenését krónikus DM esetén. Kísérleteinkben kimutattuk, hogy a DM héthetes fennállását követően jelentősen emelkedik az immobilitás időszázaléka, azaz depresszióra jellemző viselkedés alakul ki.

A T1DM állatmodelleken végzett kísérletekben általában csak az immobilitás idejét határozzák meg, az aktív szakasz mozgásmintázatait csak két tanulmány részletezi. Nadeem és munkatársai által végzett kísérletekben 2 hetes DM alatt csak az úszási paraméter ideje (a kapálózás nem) csökkent cukorbeteg patkányokban [173]. Ezzel szemben Caletti kutatásaiban 30 napos cukorbetegséget követően az úszás és a kapálózás ideje is csökkent és a búvárkodás, mint önálló mozgási jelenség egyáltalán nem volt detektálható [174]. Eredményeink alapján az egyes aktív mozgásmintázatokat tekintve mind az úszás, mind a kapálózás időszázaléka csökkent, a búvárkodás nem változott a DM csoportban. Valószínűsíthető, hogy minél hosszabb ideje áll fenn a cukorbetegség és a hozzá társuló depresszió, annál erőteljesebb a passzív coping mechanizmus és ezzel párhuzamosan az aktív szakasz úszási és kapálózási idejének csökkenése. A búvárkodás fiziológiás körülmények között is a legkevésbé előforduló mozgási jelenség, melynek változása az egyes irodalmi vizsgálatokban sem konzekvens, ezért konszenzusra vagy bármiféle összefüggésre egyelőre más kutatók sem jutottak.

Cukorbeteg depressziós tüneteinek kezelésére elsősorban SSRI-típusú antidepresszáns készítményeket alkalmaznak a gyógyszerek nagyfokú hatékonysága és tolerálhatósága miatt [175]. Ismert, hogy az SSRI-ok mérséklék a depresszió-szerű viselkedést a krónikus stressz által kiváltott modellekben [176], azonban kevés experimentális adat áll rendelkezésre az SSRI-ok antidepresszáns hatásáról cukorbetegség esetén. FLU terápiát kizárólag egy tanulmányban használták, ahol T1DM kéthetes fennállása során FLU egyszeri adása nem eredményezett antidepresszáns hatást [177]. A FLU dózis-függését és többszöri adagolását DM krónikus modelljében még nem vizsgálták.

Kísérleteinkkel elsőként igazoltuk a hosszútávú FLU terápia jótékony hatását a T1DM-hez társuló depresszió kezelésében. Kimutattuk, hogy míg a 2 mg/ttkg FLU dózis hatástalan, a 20 mg/ttkg dózis jelentősen csökkenti a depresszió-szerű viselkedés kialakulását. Az állatok kezelési dózisait humán adagolásra átszámolva a 2 mg/ttkg dózis kisebb, míg a 20 mg/ttkg dózis a klinikai gyakorlatban alkalmazott 50-300 mg/nap dózistartományba esik bele [178].

Külön tanulmányozva az aktív mozgások egyes típusait nem találtunk különbséget a kezelési csoportok között. Korábbiakban hasonló vizsgálat nem történt, így az eredményeinket csak más – nem cukorbeteg patkányon végzett – kísérlettel tudjuk összehasonlítani. Összesen három munkacsoport tanulmányozta külön-külön az egyes aktív mozgási paramétereket FLU adását követően. Egészséges ivaréretlen patkányokban a krónikus FLU adagolásnak nem volt antidepresszáns hatása és az egyes mozgási paramétereken sem változtatott [179]. Ovariectomizált állatokban az úszás időszázaléka emelkedett egyszeri FLU kezelésre, azonban a kapálózás nem változott, míg krónikus enyhe stressz okozta depresszióban a FLU kezelés növelte mind a kapálózás, mind az úszás idejét [180, 181]. Sugimoto és munkatársai által végzett kísérletek bizonyították, hogy a FLU javítja a depresszió-szerű viselkedést DBA/2 és BALB/c egértörzsekben, azonban ICR, ddY vagy C57BL6 állatokban hatástalan [182]. Mindezek arra utalnak, hogy az antidepresszáns hatás kialakulását számos tényező befolyásolhatja, mint az állatmodell típusa, a faj, a törzs, a nem, a kezelés időtartama vagy a viselkedési teszt fajtája.

Az úszásteszt értékelése során gyakran felvetődik, hogy valóban antidepresszáns hatást látunk-e a gyógyszeres kezelést követően, vagy csak az állatok általános állapota illetve agilitása javul-e. Az antidepresszáns hatás bizonyítására két kiegészítő kísérletet végeztünk. Az elsőben egészséges, hím Wistar patkányoknak hosszútávon adva FLU-t (2, ill. 20 mg/ttkg/nap dózisban) bizonyítottuk, hogy a kezelés nem eredményez viselkedésbeli változást illetve nem okoz mellékhatásokat egészséges állatok esetében. Második lépésben elvégeztük a porond tesztet, mellyel a kezelések lokomotoros aktivitásra kifejtett hatása állapítható meg. A porond teszt során az antidepresszáns tulajdonsággal rendelkező vegyületek nem változtatták az állatok lokomotoros aktivitását, ami bizonyítja, hogy az immobilitás csökkenése az úszásteszt során a FLU kezelésnek tulajdonítható.

Kísérleteink során igazoltuk, hogy DM hatására fokozódik az immobilitás, tehát a cukorbeteg állatok fizikai állapota rosszabb. Az alkalmazott kezelések a lokomotoros aktivitást – tehát a fizikai erőnlétet – nem javították, azonban az úszástesztben csökkentették az immobilitás idejét, mely alátámasztja a magasabb dózisú FLU kezelés antidepresszáns hatását T1DM állatokban.

Bizonyítottuk továbbá, hogy a cukorbetegséghez társuló depresszió kivédésében – bár a FLU SSRI típusú antidepresszáns – a S1R jelátviteli útvonalnak központi szerepe van. Kísérleteinkben S1R specifikus antagonistá adása felfüggesztette a FLU antidepresszáns hatását. Megfigyeléseink megerősítik Sugimoto és munkatársai eredményeit, akik depresszió genetikai állatmodelljében kimutatták, hogy egy másik S1R antagonistá (BD1047) adása szintén megakadályozza a FLU antidepresszáns hatásának érvényesülését [183].

Ismert, hogy számos SSRI aktiválja a S1R-t, de közülük a FLU kötődik a legnagyobb affinitással ($K_i=36$ nM) a receptorhoz [136]. Az elmúlt évtizedben nyilvánvalóvá vált, hogy a S1R aktivációja különböző neurotranszmitterek révén és a strukturális változások modulációjával szerepet játszik a depresszió patofiziológiájában [184]. S1R agonista hatására a receptor levál a Bip-ről ezáltal chaperon aktivitása fokozódik, mely anti-apoptotikus és antiinflammatorikus folyamatokat indukálva neuroprotektív hatású [185].

A közelmúltban igazolták, hogy a S1R részt vesz a BDNF szekréciójának szabályozásában, mely részben magyarázza a S1R agonisták antidepresszáns hatását.

Az ER-ben prekursor formaként szintetizálódó BDNF elsőként a Golgi hálózatba kerül, ahol vezikulumokba csomagolódik és konstitutív vagy szabályozott úton szekretálódik a sejtől. A prekursor BDNF hasítás nélkül is szekretálódhat a neuronokból, de főként intracellulárisan furinok vagy extracellulárisan mátrix metalloproteinázok révén alakul érett BDNF formává [186]. Mind a prekursor, mind az érett BDNF biológiailag aktív, viszont ellentétes funkcióval bírnak. A prekursor BDNF pro-apoptotikus, az érett forma főként sejt túlélési szignálokat aktivál. A prekursor-érett BDNF átalakulása és a két forma pontos kapcsolata kevésbé tisztázott. A legtöbb tanulmány össz BDNF szintet vizsgál [187]; külön-külön az egyes BDNF formákat eddig csak az öregedéshez-kapcsolt kognitív funkciókkal, tanulással vagy neuronális plaszticitással foglalkozó kísérletekben mérték [188, 189]. A prekursor és érett BDNF

formák szintjének változását depresszió kapcsán is meghatározták, de kizárólag szérummintákban; agyszövetet nem vizsgáltak [190, 191].

A cukorbetegséghez társuló depresszió modellben elsőként detektáltuk az egyes BDNF formák változását az agyszövetben. Kimutattuk, hogy a hippokampuszban és a prefrontális régióban a FLU megemelte mind az össz, mind az izoforma-specifikus BDNF fehérjék szintjét, míg az mRNS expresszió változatlan maradt. Hasonló eredményekről számolt be Fujimoto és munkatársai, akik leírták, hogy specifikus S1R agonista kutamezin növelte a BDNF szintjét, az mRNS transzkripció serkentése nélkül [142]. Mindezek alapján feltételezzük, hogy a S1R agonisták a BDNF poszttranszlációs átalakulását (is) befolyásolhatják. Mivel a S1R-nek közvetlen szerepe van a BDNF szabályozásában, úgy véljük, hogy a DM során lecsökkent S1R szint a BDNF mennyiségének csökkenéséhez vezet a cukorbeteg állatok agyában. Az érett BDNF túlélési szignálokat is aktivál, ezért úgy gondoljuk, hogy a FLU által indukált S1R chaperon aktivitás – megnövelve a BDNF szekréciót – gátolja az idegsejtek elhalását, ezáltal mérsékli a DM-hez társuló depresszió kialakulását.

A FLU DM-ben történő alkalmazásának jótékony hatását korlátozhatják ismert vagy feltételezett mellékhatásai. Krónikus SSRI kezelés során előfordó mellékhatások közül az egyik leggyakoribb a gyógyszer által előidézett májkárosodás. Kísérleteink során a FLU nem befolyásolta a májenzimek szintjét, mely alátámasztja azokat a klinikai megfigyeléseket, melyek szerint a FLU a legkevésbé hepatotoxikus szer az SSRI antidepresszánsok közül [192].

Egyes klinikai esettanulmányok arról számolnak be, hogy az antidepresszáns készítmények kedvezőtlenül befolyásolhatják a glükóz homeosztázist, hiperglikémizáló, esetenként hipoglikémizáló hatásúak lehetnek. A FLU-val kapcsolatban mindössze két adatot említ az irodalom. Yamada és munkatársai kimutatták, hogy egészséges egereknek adott egyszeri FLU kezelés átmenetileg emeli a vércukorszintet [193]. T2DM-ben egyetlen depresszióban szenvedő nő esete kapcsán számolnak be arról, hogy a FLU kezelést követően emelkedett a vércukorszint, mely az antidepresszáns elhagyása után visszaállt az inzulinnal beállított eredeti vércukorértékre [194]. A FLU hatásáról T1DM-ben nincs irodalmi adat. Kísérleteinkben a FLU sem a vércukor-, sem a fruktózamin szintet nem befolyásolta, mely alátámasztja, hogy a FLU kezelés hosszútávon sem befolyásolja a szénhidrát-anyagcserét.

A lipoprotein metabolizmus zavar hozzájárul az ateroszklerózis kialakulásához, emellett a kardiovaszkuláris mortalitás független rizikótényezője is cukorbetegségben [195]. Kevés vizsgálat foglalkozik a FLU lipid paraméterekre gyakorolt hatásával. Az irodalmi adatok alapján a FLU kezelés csökkenti a koleszterin szintet és jótékonyan befolyásolja a lipid háztartást [196, 197]. A klinikai megfigyelésekkel párhuzamosan kísérleteinkben mi is igazoltuk, hogy a FLU csökkenti a DM-indukált hiperlipidémiát.

Első kísérletsorozatunkat összefoglalva megállapíthatjuk, hogy T1DM-ben a cukorbetegség depresszióra jellemző viselkedést és neuroendokrin változásokat indukál, melyek hátterében a S1R - BDNF jelátviteli út szerepe feltételezhető. A FLU antidepresszáns hatásában részben a S1R aktivációja vesz részt.

A cukorbetegségben jelentkező depresszió nemcsak a szénhidrátanyagcsere zavarát súlyosbítja, de jelentősen növeli a szövődmények gyakoriságát. A DM következtében létrejövő számos társbetegség közül, munkacsoportunk részletesen a vesét érintő szövődményeket, a DNP patomechanizmusát és új kezelési lehetőségeit vizsgálja.

DNP során mind a szisztémás, mind az intrarenális RAAS aktiválódik, ezért a nemzetközi- és hazai irányelvek alapján a RAAS-gátlók az elsőként választandó terápiás szerek a vesekárosodás progressziójának lassítására. A klinikai gyakorlatban mikroalbuminúria megjelenésekor elsődlegesen ACE-gátlót vagy ARB-t alkalmaznak. Gyakran előfordul azonban, hogy az ACE-gátlók vagy az ARB-k hatása nem kielégítő a proteinúria csökkentésében az ún. aldosteron szökés jelensége miatt. Az aldosteron szökés lényege, hogy az ANG II-től függetlenül is termelődik aldosteron, amely önmagában is képes serkenteni a gyulladási és a fibrotikus folyamatokat, ezáltal fokozva a DNP progresszióját [198]. A jelenség a DNP-s betegek 20-40%-ában fordul elő és ezekben az esetekben aldosteron antagonisták alkalmazása indokolt [199]. Az aldosteron antagonisták monoterápiás használata DNP esetén jelenleg nem szerepel az ajánlásokban, azonban egyre több klinikai vizsgálat igazolja, hogy a spironolakton monoterápiában is javítja a proteinúriával járó vesebetegség progresszióját mind T1DM mind T2DM betegeknél [200, 201].

Mivel a spironolakton struktúrája nagymértékben hasonlít a progeszteronéhoz, a MR mellett az androgén és progeszteron receptorhoz is bekötődik, így férfiakban libidó csökkenést és ginekomasziát, nőkben főként menstruációs zavarokat idézhet elő [202].

Ez az antiandrogén mellékhatásprofil limitálja a spironolakton használhatóságát és fokozott körültekintést igényel az alkalmazás során. A MR-hez szelektíven kötődő eplerenon mellékhatásai jóval enyhébbek, azonban a szer monoterápiás indikációi között egyelőre csak a miokardiális infarktust követő kongesztív szívelégtelenség, illetve a hipertónia szerepel. A DNP terápiájára az eplerenont még nem törzskönyvezték. Kísérleteink során T1DM-ben igazoltuk, hogy a RAAS-gátló szerek – köztük az aldosteron antagonisták – a vérnyomás csökkentése nélkül hatékonyan mérsékelik a DNP progresszióját. Kimutattuk továbbá, hogy a rutinszerűen alkalmazott ACE-gátlók, ARB-k, illetve a spironolakton mellett, a kevesebb mellékhatással járó eplerenon is ugyanolyan hatékonyan javítja a vese strukturális és funkcionális károsodását.

A RAAS-gátlók pleiotróp (antihipertenzív, nefroprotektív) hatásai – melyeket fenti kísérleti eredményeink is alátámasztottak – a közelmúltban új megvilágításba kerültek. Igazolták, hogy ARB-t vagy ACE-gátlót szedő hipertóniás betegeknek csökken a depresszió és javulnak a kognitív funkciók, emellett kevesebb antidepresszánsot igényelnek, mint azok a betegek, akik vérnyomáscsökkentőként béta-blokkolót szedtek [203, 204]. Ezen klinikai vizsgálatok eredményei felvetették a RAAS-gátlók antidepresszáns tulajdonságát. A klinikai tapasztalatokat állatkísérletes adatok is megerősítik, melyek kimutatták, hogy ARB-k vagy ACE-gátlók antidepresszáns hatással bírnak erőltetett úszás teszt során [205, 206]

Az aldosteron antagonisták antidepresszáns hatásával kapcsolatos kutatások nem ennyire egységesek. Míg az állatkísérletek azt bizonyítják, hogy a szisztémásan vagy közvetlenül az agyba juttatott spironolakton antidepresszáns hatású [207, 208]; addig humán tanulmányokban az MR antagonizálása felfüggesztette a triciklusos antidepresszánsok által jelentkező javulást [209]. A RAAS inhibitorok antidepresszáns hatásának hátterében az agyi RAAS rendszer működésének gátlása állhat. Az elmúlt évtizedben vált nyilvánvalóvá, hogy az agyban is működik a szisztémás RAAS-tól részben független lokális RAAS, melynek funkciója főként az ANG II által stimulált AT 1 receptor aktivációja révén érvényesül. Az agyban az ANG II elsődlegesen stresszhormonként funkcionál, lokálisan is termelődik, illetve a vér-agy gáton átjutva a szisztémás keringésből is bekerülhet a központi idegrendszerbe [210]. Az ANG II szintje akut vagy krónikus stresszhatásra megemelkedik és gyulladásozó folyamatokat, valamint

a HPA-tengely aktivációját idézi elő, mely depresszió-szerű viselkedést eredményezhet [211].

A RAAS-gátlók antidepresszív hatásáról DM kapcsán csupán 3 tanulmány készült. Pavlatou és munkatársai kimutatták, hogy normotóniás, T2DM-ben szenvedő betegekben javul a depresszió ACE-gátló kezelés hatására [212]. T1DM-ben szenvedő közel ezer betegen végzett vizsgálat szerint, azok akik a társuló veseszövődmények miatt RAAS-gátló kezelést kaptak, kisebb dózisú antidepresszáns (SSRI vagy MAO-gátló) igényeltek, mint akik nem részesültek RAAS inhibitor terápiában [213]. Az eddigi egyetlen állatkísérletes eredmény szerint (mely idén jelent meg), telmizartánnal végzett 3-hetes kezelés antidepresszáns hatást fejtett ki STZ-indukált T1DM korai szakaszában [214].

Kísérleteinkben elsőként igazoltuk, hogy az ARB-khez hasonlóan, a többi RAAS-gátló kezelés is mérsékli a krónikusan fennálló T1DM által indukált depressziót. A RAAS-gátlók antidepresszáns tulajdonságát egyértelműen igazolja, hogy míg az immobilitás időtartama a kezelt csoportban csökkent, az állatok lokomotoros aktivitása nem változott. Az aktív szakasz paramétereinek elkülönült vizsgálatokor csak az ACE-gátlókkal kezelt állatoknál tapasztaltunk javulást; és csak az úszási paraméter tekintetében. Feltételezzük, hogy az ACE-gátlók antidepresszáns hatásmechanizmusának egyes elemei – az általunk vizsgált jelátviteli útvonalakon kívül – részben eltérhetnek az ARB-ktől vagy aldosteron antagonistákétól. Vizsgálatainkban az aldosteron antagonisták ugyanolyan hatékonyan csökkentették a depresszióra jellemző immobilitási mozgásmintázatot, mint az ARB-k vagy ACE-gátlók.

Ismert, hogy depressziós állatmodellekben (izolációs stressz, hidegstressz modell) ARB hatására csökken a HPA-tengely aktivitása és csökken a CRH, ACTH, valamint kortikoszteron felszabadulás [215]. Spontán hipertóniás rágszálómodellben igazolták, hogy a CRH és a kortikoszteron szint ACE-gátlók hatására is mérséklődik [216]. Ezzel szemben aldosteron antagonisták hatására fokozódik a HPA-tengely aktivitása, ugyanis az MR antagonizálásával megszűnik a HPA-tengely negatív visszacsatolása [217]. Vizsgálatainkban a HPA-tengely fokozott működését jelző mellékvese megnagyobbodás és a tímusz tömegének csökkenése csak a kezeletlen cukorbeteg állatoknál mutatkozott. Kísérleteinkben a RAAS-gátlók a tímusz tömegét nem befolyásolták, míg a mellékvese méretét az aldosteron antagonisták növelték. Mivel az aldosteron a mellékvesekéregben

termelődik, feltételezzük, hogy az MR antagonizálás révén a szervezet „relatív aldoszteron (vagy kortikoszteron) hiányként” érzékelve kompenzatorikus aldoszteron termelésbe kezdett – ez vezethetett a mellékvese hipertrófiához.

Eredményeink értékelésekor fontos kiemelnünk, hogy bár kísérleti adataink szerint az aldoszteron antagonisták antidepresszáns hatásúak, a MR blokkolása a fenti mechanizmusokon keresztül (HPA-tengely aktiváció, kortizol szekréció fokozása) éppen ellentétes hatást eredményezhet, ezért a depresszió kezelésének szempontjából valószínűleg nem az aldoszteron-antagonisták az ideális szerek.

Ismert, hogy a kognitív funkcióvesztés, a memóriazavarok és a hangulatbetegségek patomechanizmusában kulcsfontosságú a BDNF és jelátviteli útvonala. A prekursor és érett BDNF szignáltranszdukciója különböző receptorokon keresztül valósul meg, melyek alapvetően hol egymással ellentétes, hol konvergáló folyamatokat indítanak be. Az útvonalak összetettsége miatt kutatásaink során mind a prekursor, mind az érett BDNF esetében csak a downstream jelátvitelben szereplő főbb pontok változását vizsgáltuk. Mivel mind a FLU-val végzett kísérleteink, mind az irodalmi adatok alapján depresszióban a BDNF szintje a prefrontális kéregben és a hippokampuszban azonosan változik, a RAAS-gátló szerek BDNF-re kifejtett hatását már csak a hippokampuszban vizsgáltuk.

A prekursor BDNF - p75Ntr kapcsolatot a közelmúltban fedezték fel és igazolták, hogy a prekursor BDNF az érett formával ellentétes folyamatokat indít be: gátolja az idegsejtek differenciációját és apoptózist indukál [218]. A hangulatbetegségekben betöltött szerepéről összesen egy tanulmány áll rendelkezésre, melyben leírják, hogy a prekursor BDNF és a p75Ntr mennyisége depressziós betegek szérumában emelkedik. [219]. Cukorbetegség kapcsán azonban egyáltalán nincs adata prekursor forma jelentőségéről. Elsőként mutattuk ki, hogy cukorbeteg patkányok hippokampuszában a prekursor BDNF fehérjeszintje csökken. A RAAS-gátló kezelések a prekursor BDNF szintjét ismét megemelték, azonban a p75Ntr receptor mennyisége és az általa indukált apoptotikus útvonal fehérjéinek szintje (JNK - Bax) nem változik sem DM-ben sem a kezelések hatására. Mindezek alapján feltételezzük, hogy a DM-hez társuló depresszió patomechanizmusában a p75Ntr által indukált pro-apoptotikus útvonal kevésbé jelentős és a kezelések antidepresszáns hatása is független a prekursor BDNF - p75Ntr -JNK - Bax szignáltranszdukciós útvonaltól.

Felvetődik azonban a kérdés, hogy miért van diszkrépancia a prekursor BDNF és a p75Ntr pro-apoptotikus útvonalban szereplő fehérjék mennyiségi változása között. Úgy gondoljuk, hogy a prekursor BDNF cukorbetegség során lecsökkent mennyisége nem elegendő a receptor aktiválásához. A kezelések hatására megemelkedett prekursor BDNF szint, pedig azért nem aktiválja a p75Ntr útvonalat, mert párhuzamosan az átalakító enzim (extracelluláris proteáz plazmin) mennyisége is megemelkedik, mely hatására a prekursor BDNF-ből azonnal érett forma alakul ki. A szöveti plazminogén aktivátor fokozza az extracelluláris proteáz plazmin aktivitását, mely hasítja a prekursor BDNF-et [220]. Ismert, hogy az ANG II az asztrocitákban fokozza a plazminogén aktivátor gátlásáért felelős enzim (PAI-1) szekrécióját és aktivitását [221]. A közelmúltban azt is kimutatták, hogy különböző RAAS-gátló kezelések hatékonyan csökkentik a PAI-1 mennyiségét T1DM-ben és ezzel csökkentik a renális fibrózis, illetve a DNP kialakulását [222]. Mindezek alapján feltételezzük, hogy a RAAS gátlás ezzel a mechanizmussal, vagyis a gátló hatású PAI-1 gátlásával is hozzájárulhat a plazminogén aktivátor enzim fokozott működéséhez, ezáltal az érett BDNF mennyiségének növekedéséhez és az antidepresszáns hatás kifejlődéséhez. Hipotézisünk igazolásához továbbiakban a PAI-1 mennyiségének és aktivitásának mérését tervezzük.

Az érett BDNF fő jelátviteli útvonalának szereplőiről (TrkB - CREB - Bcl-2) felvetették, hogy a depresszió kialakulásában betöltött patognomikus jelentőségük mellett, a betegség biomarkereinek is tekinthetők, mivel szérumban ill. agyi szintjük antidepresszáns kezelés hatására emelkedik és mennyiségük korrelál a depresszió javulásával [223]. Cukorbetegségben hasonló adatok nem ismertek és kevésbé körüljárt a RAAS szerepe is az útvonal szabályozásában.

Kognitív funkciókat vizsgáló állatmodellekben (demencia ill. Alzheimer-kór) igazolták, hogy mind az ARB telmizartán, mind az ACE-gátló perindopril javította a memóriát és a kognitív funkciókat és növeli a BDNF szintjét [224, 225]. Depressziós modellekben vagy krónikus stresszt követően hasonló vizsgálatokra mindeddig nem került sor.

Kísérleteinkben kimutattuk, hogy cukorbeteg állatok hippocampuszában az érett BDNF szintje csökken, és ezzel párhuzamosan a jelátviteli út releváns fehérjéinek (TrkB, ERK és fő effektor molekulaként ismert CREB) expressziója is alacsonyabb. Xiang és

munkatársai hasonló eredményekre jutottak: T2DM patkánymodelljében kognitív diszfunkciót és alacsonyabb foszforilált CREB szintet mértek [226].

Kísérleteinkben kimutattuk, hogy RAAS-gátlók hatására az érett BDNF szintje megemelkedik, mely fokozza a TrkB - Erk - CREB - Bcl2 jelátviteli útvonal fehérjéinek mennyiségét. Mindezek alapján úgy véljük, hogy a RAAS-gátlók antidepresszáns hatásának hátterében álló mechanizmusok egyike, hogy a transzkripció faktor CREB pozitív feedback mechanizmussal serkenti a BDNF és az anti-apoptotikus Bcl2 fehérje termelődését, elősegítve az idegsejtek túlélését, regenerálódását és a szinapszisok formálódását. Eredményeinket Goel és munkatársai adatai is alátámasztják, akik LPS-indukálta kognitív diszfunkció állatmodelljében leírták, hogy az ARB kandezartán kezelés fokozza az agyban a BDNF - CREB jelátviteli útvonalat, csökkentve az idegsejtek pusztulását és javítva a memóriát [227].

Mivel a kezeléseket a RAAS-gátlók non-depresszor dóziséval végeztük, eredményeink azt mutatják, hogy a RAAS inhibitorok neuroprotektív és antidepresszáns hatása független a szerek vérnyomáscsökkentő tulajdonságától.

Összefoglalva eredményeink arra utalnak, hogy a DNP és a depresszió közös kialakulásában a RAAS által szabályozott BDNF - TrkB jelátviteli útvonal központi szerepet játszik. Mindezek alapján valószínűsíthető, hogy DNP-ben nemcsak a vesekárosodás, hanem a hangulatzavarok is sikerrel kezelhetők RAAS-gátlók segítségével.

Ph.D. munkám fő célja a DM-hez társuló depresszió patomechanizmusának vizsgálata volt. Kimutattuk, hogy a T1DM-indukálta depresszióra jellemző viselkedés és neuroendokrinológiai változások antidepresszáns FLU adásával hatékonyan csökkenthetők. Igazoltuk, hogy a depresszió kialakulásában a S1R - BDNF jelátviteli útvonal központi szerepet játszik. Összességében a FLU egy ígéretes és biztonságos kezelési lehetőség a DM-hez társuló depresszió kezelésében, bár humán vizsgálatok és nagyobb populációkon végzett multicentrikus tanulmányok elvégzése szükséges a S1R agonisták klinikai hatékonyságának további bizonyítására.

Bizonyítottuk a DNP kezelésében elsőként választandó RAAS-gátlók monoterápiás hatékonyságát mind a nefropátia progressziójának lassításában, mind a depresszió-szerű viselkedés mérséklésében. Kimutattuk, hogy a BDNF - TrkB - CREB

jelátviteli útvonal modulációja központi jelentőségű az antidepresszáns hatás kialakításában. Eredményeink további adatokkal támasztják alá, hogy a RAAS gátlása nemcsak a nefropátiát csökkenti, hanem jótékony hatású lehet a cukorbetegséghez társuló depresszió megelőzésében is.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

1. Igazoltuk, hogy az antidepresszáns FLU kezelés dóziszfüggő módon mérsékli a T1DM során kialakuló depressziót.
2. Kimutattuk, hogy a S1R - BDNF jelátviteli útvonal részt vesz a T1DM-indukálta depresszió patomechanizmusában. A S1R agonista kezelés fokozza a T1DM során csökkent BDNF szintet a depresszió kialakulásáért felelős agyi régiókban, a hippokampuszban és a prefrontális kortextben.
3. Elsőként mutattuk ki, hogy az ARB-k mellett az ACE-gátlókkal és aldoszteron antagonistákkal végzett hosszútávú, non-depresszor dózisú kezelés antidepresszáns hatású a T1DM indukálta depresszióban.
4. A prekursor BDNF - p75Ntr által indukált pro-apoptotikus szignalizáció nem vesz részt a T1DM-hez társuló depresszió kialakulásában és a RAAS-gátlók antidepresszív hatásmechanizmusában.
5. Az érett BDNF - TrkB - CREB jelátviteli útvonal kulcsfontosságú a T1DM-hez társuló depresszió patomechanizmusában és a RAAS-gátlók antidepresszáns hatásának kialakításában az idegsejtek túlélésének segítése révén.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A diabétesz mellitusz (DM) napjaink egyik legjelentősebb népegészségügyi problémája, mely hatalmas egészségügyi és gazdasági terhet jelent az euroatlanti társadalmak számára. A depresszió szintén milliókat érintő népbetegség világszerte. A két betegség közös elfordulása rontja az életminőséget, csökkenti a várható élettartamot és növeli a szövődmények, köztük a diabéteszes nefropátia (DNP) kialakulásának kockázatát. A két betegség komorbiditásában a közös kórélettani háttér szerepe már régen felvetődött, azonban a pontos patomechanizmus egyelőre nem ismert.

Ph.D. munkám során a cukorbetegség és a depresszió létrejöttében szerepet játszó közös kórélettani/jelátviteli folyamatokat és kezelési lehetőségeiket tanulmányoztam. Vizsgáltuk, hogy a DM mikrovaszkuláris szövődményeként létrejövő DNP terápiájában elsődlegesen alkalmazott renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer (RAAS) gátló szerek hogyan befolyásolják a depresszió kialakulását és milyen mechanizmusok állhatnak az antidepresszáns hatás hátterében.

Kísérleteink során kimutattuk, hogy az agyi sigma-1 receptor (S1R) – brain-derived neurotrophic factor (BDNF) jelátviteli útvonal részt vesz a DM-indukálta depresszió kialakulásában. Igazoltuk, hogy a klinikumban rutinszerűen alkalmazott, antidepresszáns hatású fluvoxamin aktiválja a S1R-t, mely fokozza a BDNF mennyiségét, ezáltal mérsékeli a depressziós tüneteket. Bizonyítottuk, hogy míg az prekursor BDNF - p75Ntr - JNK - Bax jelátviteli útvonal nem változik, addig az érett BDNF izoforma által aktivált TrkB - CREB - Bcl2 szignalizáció csökken a diabéteszes patkányok agyában.

Igazoltuk a DNP kezelésében elsőként választandó RAAS-gátlók monoterápiás hatékonyságát mind a nefropátia progressziójának lassításában, mind a depresszió-szerű viselkedés mérséklésében. Kimutattuk, hogy a RAAS-gátló kezelések aktiválják a TrkB-CREB jelátviteli útvonal működését, mely elősegíti a neuronok túlélését és a neuroplaszticitást, ezzel hozzájárul a RAAS-gátlók antidepresszáns hatásának kialakulásához.

Összefoglalva eredményeink további adatokkal támasztják alá, hogy a RAAS gátlása nemcsak a nefropátiát csökkenti, hanem jótékony hatású lehet a cukorbetegséghez társuló depresszió megelőzésében is. A S1R - BDNF jelátviteli útvonal jelentőségének igazolása pedig új gyógyszerfejlesztési vizsgálatok alapjául szolgálhat a jövőben.

8. SUMMARY

Today diabetes mellitus (DM) is a major public health problem which signifies an enormous financial burden for Euro-Atlantic communities. Likewise, depression affects millions of patients worldwide. Concurring occurrence of the diseases impairs quality of life, decreases life expectancy and increases the risk of serious complications such as diabetic nephropathy (DNP). A common pathophysiologic background of these comorbid diseases has been speculated, but the exact pathomechanism is not known to-date.

During my PhD work I studied the common pathophysiologic/signaling mechanisms and treatment options of DM and depression. Renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) inhibitors are the primary treatment choice for DNP developing as a microvascular complication of DM. We investigated the effect of RAAS on the development of depression and the possible mechanisms of the possible antidepressant properties.

We showed the significant involvement of the sigma-1 receptor (S1R) - brain-derived neurotrophic factor (BDNF) signaling pathway in the development of DM-induced depression. We demonstrated that the routinely used antidepressant fluvoxamine activates S1R, which increases BDNF level, that in turn reduces depressive-like symptoms. We proved that while the precursor BDNF - p75Ntr - JNK - Bax pathway remains unchanged, mature BDNF - TrkB - CREB - Bcl2 signaling is decreased in the brains of diabetic rats.

We proved that RAAS blockers – the primary treatment option in DNP – in monotherapy are effective in preventing the progression of nephropathy as well as in reducing depressive-like behavior. We showed that treatment with various RAAS inhibitors activates the TrkB - CREB signaling pathway, which promotes neuron survival and neuroplasticity, thus contributing to the antidepressant effect of these agents.

In summary, our data confirms that RAAS blockade not only hinders nephropathy, but could also effectively improve DM associated depressive-like behavior. Finally, verification of the role of S1R - BDNF signaling could be a basis of future drug development treating DM-induced complications.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. IDF Diabetes Atlas, 7th edn. 2015; Available from: <http://www.diabetesatlas.org>.
2. Gaál, Z., L. Gergő, T. Hídvégi, G. Jermendy, P. Kempler, G. Winkler, and I. Wittmann, (2017) Egészségügyi szakmai irányelv – A diabetes mellitus kórismezéséről, a cukorbetegség antihyperglykaemiás kezeléséről és gondozásáról felnőttkorban Diabetologia Hungarica. 25(1): p. 3-77.
3. Vokó, Z., L. Nagyjánosi, and Z. Kaló, (2009) A cukorbetegség közvetlen egészségügyi költségei Magyarországon, LAM. 19(12): p. 775-780.
4. Szollár, L., Kórélettan, A szénhidrát anyagcsere zavarai. Budapest: Semmelweis Kiadó. 2005. 187-207.
5. American Diabetes, A., (2004) Diagnosis and classification of diabetes mellitus, Diabetes Care. 27 Suppl 1: p. S5-S10.
6. Alberti, K.G. and P.Z. Zimmet, (1998) Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation, Diabet Med. 15(7): p. 539-53.
7. Jermendy, G. and N. Hosszúfalusi, A diabetes mellitus meghatározása és felosztása, in Z. Tulassay, Editor. A belgyógyászat alapjai, Medicina Könyvkiadó Zrt.: Budapest. 2011 p. 1577-1585.
8. Scheen, A.J., (2003) Pathophysiology of type 2 diabetes, Acta Clin Belg. 58(6): p. 335-41.
9. Bellamy, L., J.P. Casas, A.D. Hingorani, and D. Williams, (2009) Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis, Lancet. 373(9677): p. 1773-9.
10. Zhang, X., E.W. Gregg, D.F. Williamson, L.E. Barker, W. Thomas, K.M. Bullard, G. Imperatore, D.E. Williams, and A.L. Albright, (2010) A1C level and future risk of diabetes: a systematic review, Diabetes Care. 33(7): p. 1665-73.
11. Maletkovic, J. and A. Drexler, (2013) Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state, Endocrinol Metab Clin North Am. 42(4): p. 677-95.
12. Kikkawa, R., (2000) Chronic complications in diabetes mellitus, Br J Nutr. 84 Suppl 2: p. S183-5.
13. Ghaderian, S.B., F. Hayati, S. Shayanpour, and S.S. Beladi Mousavi, (2015) Diabetes and end-stage renal disease; a review article on new concepts, J Renal Inj Prev. 4(2): p. 28-33.

14. Wittmann, I., Cukorbetegség okozta vesebetegségek, A diabéteszes nefropátia epidemiológiája. Budapest: Oriold és Társai Kiadó és Szolgáltató Kft. 2011.
15. Lim, A., (2014) Diabetic nephropathy - complications and treatment, *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 7: p. 361-81.
16. Mogensen, C.E., C.K. Christensen, and E. Vittinghus, (1983) The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy, *Diabetes.* 32 Suppl 2: p. 64-78.
17. Rosta, K., (2009) A Na⁺/K⁺ ATPáz szerepe a diabetes mellitus patomechanizmusában in *Molekuláris Orvostudományok Tudományági Doktori Iskola, Semmelweis Egyetem: Budapest.* p. 111.
18. Haneda, M., K. Utsunomiya, D. Koya, T. Babazono, T. Moriya, H. Makino, K. Kimura, Y. Suzuki, T. Wada, S. Ogawa, M. Inaba, Y. Kanno, T. Shigematsu, I. Masakane, K. Tsuchiya, K. Honda, K. Ichikawa, and K. Shide, (2015) A new classification of Diabetic Nephropathy 2014: a report from Joint Committee on Diabetic Nephropathy, *Clin Exp Nephrol.* 19(1): p. 1-5.
19. Schena, F.P. and L. Gesualdo, (2005) Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy, *J Am Soc Nephrol.* 16 Suppl 1: p. S30-3.
20. Timothy C. Evans, M., PhD, and Peter Capell, MD, (2000) Diabetic Nephropathy, *CLINICAL DIABETES.* 18(1).
21. Dronavalli, S., I. Duka, and G.L. Bakris, (2008) The pathogenesis of diabetic nephropathy, *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 4(8): p. 444-52.
22. Strippoli, G.F., S. Di Paolo, R. Cincione, A.M. Di Palma, A. Teutonico, G. Grandaliano, F.P. Schena, and L. Gesualdo, (2003) Clinical and therapeutic aspects of diabetic nephropathy, *J Nephrol.* 16(4): p. 487-99.
23. Ohkubo, Y., H. Kishikawa, E. Araki, T. Miyata, S. Isami, S. Motoyoshi, Y. Kojima, N. Furuyoshi, and M. Shichiri, (1995) Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a randomized prospective 6-year study, *Diabetes Res Clin Pract.* 28(2): p. 103-17.
24. Chamberlain, J.J., A.S. Rhinehart, C.F. Shaefer, Jr., and A. Neuman, (2016) Diagnosis and Management of Diabetes: Synopsis of the 2016 American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes, *Ann Intern Med.* 164(8): p. 542-52.
25. Baltatzi, M., C. Savopoulos, and A. Hatzitolios, (2011) Role of angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers in hypertension of chronic kidney disease and renoprotection. Study results, *Hippokratia.* 15(Suppl 1): p. 27-32.

26. Bilous, R., N. Chaturvedi, A.K. Sjolie, J. Fuller, R. Klein, T. Orchard, M. Porta, and H.H. Parving, (2009) Effect of candesartan on microalbuminuria and albumin excretion rate in diabetes: three randomized trials, *Ann Intern Med.* 151(1): p. 11-20, W3-4.
27. Phillips, C.O., A. Kashani, D.K. Ko, G. Francis, and H.M. Krumholz, (2007) Adverse effects of combination angiotensin II receptor blockers plus angiotensin-converting enzyme inhibitors for left ventricular dysfunction: a quantitative review of data from randomized clinical trials, *Arch Intern Med.* 167(18): p. 1930-6.
28. Schjoedt, K.J., K. Rossing, T.R. Juhl, F. Boomsma, L. Tarnow, P. Rossing, and H.H. Parving, (2006) Beneficial impact of spironolactone on nephrotic range albuminuria in diabetic nephropathy, *Kidney Int.* 70(3): p. 536-42.
29. Deschepper, C.F., (1994) Angiotensinogen: hormonal regulation and relative importance in the generation of angiotensin II, *Kidney Int.* 46(6): p. 1561-3.
30. Hackenthal, E., M. Paul, D. Ganten, and R. Taugner, (1990) Morphology, physiology, and molecular biology of renin secretion, *Physiol Rev.* 70(4): p. 1067-116.
31. Corvol, P., A. Michaud, F. Soubrier, and T.A. Williams, (1995) Recent advances in knowledge of the structure and function of the angiotensin I converting enzyme, *J Hypertens Suppl.* 13(3): p. S3-10.
32. Unger, T., (2002) The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease, *Am J Cardiol.* 89(2A): p. 3A-9A; discussion 10A.
33. Johnston, C.I. and J. Risvanis, (1997) Preclinical pharmacology of angiotensin II receptor antagonists: update and outstanding issues, *Am J Hypertens.* 10(12 Pt 2): p. 306S-310S.
34. Welches, W.R., K.B. Brosnihan, and C.M. Ferrario, (1993) A comparison of the properties and enzymatic activities of three angiotensin processing enzymes: angiotensin converting enzyme, prolyl endopeptidase and neutral endopeptidase 24.11, *Life Sci.* 52(18): p. 1461-80.
35. Weber, K.T. and C.G. Brilla, (1991) Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system, *Circulation.* 83(6): p. 1849-65.
36. Steckelings, U.M., E. Kaschina, and T. Unger, (2005) The AT2 receptor--a matter of love and hate, *Peptides.* 26(8): p. 1401-9.
37. JP, B.R.a.B., (1961) Evidence for a central mechanism of angiotensin induced hypertension, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 106: p. 834-837.

38. Sakai, K. and C.D. Sigmund, (2005) Molecular evidence of tissue renin-angiotensin systems: a focus on the brain, *Curr Hypertens Rep.* 7(2): p. 135-40.
39. Ganten, D., R. Boucher, and J. Genest, (1971) Renin activity in brain tissue of puppies and adult dogs, *Brain Res.* 33(2): p. 557-9.
40. Paul, M., A. Poyan Mehr, and R. Kreutz, (2006) Physiology of local renin-angiotensin systems, *Physiol Rev.* 86(3): p. 747-803.
41. Schelling, P., D. Meyer, H.E. Loos, G. Speck, M.I. Phillips, A.K. Johnson, and D. Ganten, (1982) A micromethod for the measurement of renin in brain nuclei: its application in spontaneously hypertensive rats, *Neuropharmacology.* 21(5): p. 455-63.
42. Iwai, N. and T. Inagami, (1992) Quantitative analysis of renin gene expression in extrarenal tissues by polymerase chain reaction method, *J Hypertens.* 10(8): p. 717-24.
43. Hermann, K., M.K. Raizada, C. Summers, and M.I. Phillips, (1987) Presence of renin in primary neuronal and glial cells from rat brain, *Brain Res.* 437(2): p. 205-13.
44. Bunnemann, B., K. Fuxe, R. Metzger, B. Bjelke, and D. Ganten, (1992) The semi-quantitative distribution and cellular localization of angiotensinogen mRNA in the rat brain, *J Chem Neuroanat.* 5(3): p. 245-62.
45. Phillips, M.I. and B. Stenstrom, (1985) Angiotensin II in rat brain comigrates with authentic angiotensin II in high pressure liquid chromatography, *Circ Res.* 56(2): p. 212-9.
46. Paul, M., M. Bader, U.M. Steckelings, T. Voigtlander, and D. Ganten, (1993) The renin-angiotensin system in the brain. Localization and functional significance, *Arzneimittelforschung.* 43(2A): p. 207-13.
47. McKinley, M.J., A.L. Albiston, A.M. Allen, M.L. Mathai, C.N. May, R.M. McAllen, B.J. Oldfield, F.A. Mendelsohn, and S.Y. Chai, (2003) The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles, *Int J Biochem Cell Biol.* 35(6): p. 901-18.
48. Geerling, J.C. and A.D. Loewy, (2009) Aldosterone in the brain, *Am J Physiol Renal Physiol.* 297(3): p. F559-76.
49. Roland, B.L., K.X. Li, and J.W. Funder, (1995) Hybridization histochemical localization of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in rat brain, *Endocrinology.* 136(10): p. 4697-700.
50. Morimoto, S., M.D. Cassell, and C.D. Sigmund, (2002) Neuron-specific expression of human angiotensinogen in brain causes increased salt appetite, *Physiol Genomics.* 9(2): p. 113-20.

51. Morimoto, S., M.D. Cassell, T.G. Beltz, A.K. Johnson, R.L. Davisson, and C.D. Sigmund, (2001) Elevated blood pressure in transgenic mice with brain-specific expression of human angiotensinogen driven by the glial fibrillary acidic protein promoter, *Circ Res.* 89(4): p. 365-72.
52. Luoh, H.F. and S.H. Chan, (1998) Participation of AT1 and AT2 receptor subtypes in the tonic inhibitory modulation of baroreceptor reflex response by endogenous angiotensins at the nucleus tractus solitarii in the rat, *Brain Res.* 782(1-2): p. 73-82.
53. Gomez-Sanchez, E.P., (1986) Intracerebroventricular infusion of aldosterone induces hypertension in rats, *Endocrinology.* 118(2): p. 819-23.
54. Watanabe, T., M. Hashimoto, S. Okuyama, T. Inagami, and S. Nakamura, (1999) Effects of targeted disruption of the mouse angiotensin II type 2 receptor gene on stress-induced hyperthermia, *J Physiol.* 515 (Pt 3): p. 881-5.
55. Belcheva, I., M. Chobanova, and V. Georgiev, (1998) Differential behavioral effects of angiotensin II microinjected unilaterally into the CA1 hippocampal area, *Regul Pept.* 74(2-3): p. 67-71.
56. Braszko, J.J., A. Walesiuk, and P. Wielgat, (2006) Cognitive effects attributed to angiotensin II may result from its conversion to angiotensin IV, *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 7(3): p. 168-74.
57. Wang, J., L. Ho, L. Chen, Z. Zhao, W. Zhao, X. Qian, N. Humala, I. Seror, S. Bartholomew, C. Rosendorff, and G.M. Pasinetti, (2007) Valsartan lowers brain beta-amyloid protein levels and improves spatial learning in a mouse model of Alzheimer disease, *J Clin Invest.* 117(11): p. 3393-402.
58. Reardon, K.A., F.A. Mendelsohn, S.Y. Chai, and M.K. Horne, (2000) The angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor, perindopril, modifies the clinical features of Parkinson's disease, *Aust N Z J Med.* 30(1): p. 48-53.
59. Isingrini, E., T. Desmidt, C. Belzung, and V. Camus, (2009) Endothelial dysfunction: A potential therapeutic target for geriatric depression and brain amyloid deposition in Alzheimer's disease?, *Curr Opin Investig Drugs.* 10(1): p. 46-55.
60. Yu, M.K., N.S. Weiss, X. Ding, W.J. Katon, X.H. Zhou, and B.A. Young, (2014) Associations between depressive symptoms and incident ESRD in a diabetic cohort, *Clin J Am Soc Nephrol.* 9(5): p. 920-8.
61. Cukor, D., J. Coplan, C. Brown, S. Friedman, A. Cromwell-Smith, R.A. Peterson, and P.L. Kimmel, (2007) Depression and anxiety in urban hemodialysis patients, *Clin J Am Soc Nephrol.* 2(3): p. 484-90.

62. Hedayati, S.S., H.B. Bosworth, M. Kuchibhatla, P.L. Kimmel, and L.A. Szczech, (2006) The predictive value of self-report scales compared with physician diagnosis of depression in hemodialysis patients, *Kidney Int.* 69(9): p. 1662-8.
63. Wuerth, D., S.H. Finkelstein, A.S. Klinger, and F.O. Finkelstein, (2003) Chronic peritoneal dialysis patients diagnosed with clinical depression: results of pharmacologic therapy, *Semin Dial.* 16(6): p. 424-7.
64. Dobbels, F., M.A. Skeans, J.J. Snyder, A.V. Tuomari, J.R. Maclean, and B.L. Kasiske, (2008) Depressive disorder in renal transplantation: an analysis of Medicare claims, *Am J Kidney Dis.* 51(5): p. 819-28.
65. Lopes, A.A., J. Bragg, E. Young, D. Goodkin, D. Mapes, C. Combe, L. Piera, P. Held, B. Gillespie, F.K. Port, O. Dialysis, and S. Practice Patterns, (2002) Depression as a predictor of mortality and hospitalization among hemodialysis patients in the United States and Europe, *Kidney Int.* 62(1): p. 199-207.
66. Kaveh, K. and P.L. Kimmel, (2001) Compliance in hemodialysis patients: multidimensional measures in search of a gold standard, *Am J Kidney Dis.* 37(2): p. 244-66.
67. Vazquez, I., F. Valderrabano, J. Fort, R. Jofre, J.M. Lopez-Gomez, F. Moreno, D. Sanz-Guajardo, and G. Spanish Cooperative Renal Patients Quality of Life Study, (2005) Psychosocial factors and health-related quality of life in hemodialysis patients, *Qual Life Res.* 14(1): p. 179-90.
68. Diefenthaler, E.C., M.B. Wagner, C.E. Poli-de-Figueiredo, P.R. Zimmermann, and D. Saitovitch, (2008) Is depression a risk factor for mortality in chronic hemodialysis patients?, *Rev Bras Psiquiatr.* 30(2): p. 99-103.
69. Berton, O. and E.J. Nestler, (2006) New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines, *Nat Rev Neurosci.* 7(2): p. 137-51.
70. Fisher, M., (2013) Prevalence of diagnosed clinical depression, *Washington Post.*
71. APA, (2000) *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*: Washington, DC.
72. WHO, (1992) *Classification of Mental and Behavioural Disorders: Clinical Descriptions and Diagnostic Guidelines*: Geneva, Switzerland.
73. Kollégium, P.S., (2008) *Az Egészségügyi Minisztérium Szakmai Protokollja.*
74. Zung, W.W., (1965) A Self-Rating Depression Scale, *Arch Gen Psychiatry.* 12: p. 63-70.
75. Zigmond, A.S. and R.P. Snaith, (1983) The hospital anxiety and depression scale, *Acta Psychiatr Scand.* 67(6): p. 361-70.
76. Beck, A.T., C.H. Ward, M. Mendelson, J. Mock, and J. Erbaugh, (1961) An inventory for measuring depression, *Arch Gen Psychiatry.* 4: p. 561-71.

77. Hidasi, Z., P. Salacz, and É. Csibri, (2012) Depresszió neuropszichiátriai betegségekben - Összefoglaló közlemény, *Ideggyogy Sz*, (65(1-2)): p. 6-15.
78. Sheline, Y.I., P.W. Wang, M.H. Gado, J.G. Csernansky, and M.W. Vannier, (1996) Hippocampal atrophy in recurrent major depression, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 93(9): p. 3908-13.
79. Keller, M.B., R.M. Hirschfeld, K. Demyttenaere, and D.S. Baldwin, (2002) Optimizing outcomes in depression: focus on antidepressant compliance, *Int Clin Psychopharmacol*. 17(6): p. 265-71.
80. Willis, T., (1971) *Diabetes: A Medical Odyssey*, USV Pharmaceutical Corp.
81. Nouwen, A., C.E. Lloyd, and F. Pouwer, (2009) Depression and type 2 diabetes over the lifespan: a meta-analysis. Response to Mezuk et al, *Diabetes Care*. 32(5): p. e56; author reply e57.
82. Anderson, R.J., K.E. Freedland, R.E. Clouse, and P.J. Lustman, (2001) The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes: a meta-analysis, *Diabetes Care*. 24(6): p. 1069-78.
83. de Groot, M., R. Anderson, K.E. Freedland, R.E. Clouse, and P.J. Lustman, (2001) Association of depression and diabetes complications: a meta-analysis, *Psychosom Med*. 63(4): p. 619-30.
84. Payne, M.E., S.E. Steck, R.R. George, and D.C. Steffens, (2012) Fruit, vegetable, and antioxidant intakes are lower in older adults with depression, *J Acad Nutr Diet*. 112(12): p. 2022-7.
85. Weyerer, S., (1992) Physical inactivity and depression in the community. Evidence from the Upper Bavarian Field Study, *Int J Sports Med*. 13(6): p. 492-6.
86. Korczak, D.J., S. Pereira, K. Koulajian, A. Matejcek, and A. Giacca, (2011) Type 1 diabetes mellitus and major depressive disorder: evidence for a biological link, *Diabetologia*. 54(10): p. 2483-93.
87. Hodrea, J., L. Lénárt, R. Gellai, S. Kőszegi, L. Wagner, F. Bánki, Á. Vér, Á. Vannay, T. Tulassay, and A. Fekete, (2013) A diabeteshez társuló depresszió patomechanizmusa, *Magyar Belorvosi Archívum*. 4: p. 198-203.
88. Foss-Freitas, M.C., N.T. Foss, D.M. Rassi, E.A. Donadi, and M.C. Foss, (2008) Evaluation of cytokine production from peripheral blood mononuclear cells of type 1 diabetic patients, *Ann N Y Acad Sci*. 1150: p. 290-6.
89. Rapoport, M.J., T. Bistrizter, D. Aharoni, M. Weiss, Y. Ramot, A. Buchs, K. Bloch, and P. Vardi, (2005) TH1/TH2 cytokine secretion of first degree relatives of T1DM patients, *Cytokine*. 30(5): p. 219-27.

90. Li, J., M. Huang, and X. Shen, (2014) The association of oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in diabetic patients with hyperglycemic crisis, *J Diabetes Complications*. 28(5): p. 662-6.
91. Maury, E. and S.M. Brichard, (2010) Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome, *Mol Cell Endocrinol*. 314(1): p. 1-16.
92. Felger, J.C. and F.E. Lotrich, (2013) Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications, *Neuroscience*. 246: p. 199-229.
93. Raison, C.L., L. Capuron, and A.H. Miller, (2006) Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression, *Trends Immunol*. 27(1): p. 24-31.
94. Dantzer, R., J.C. O'Connor, G.G. Freund, R.W. Johnson, and K.W. Kelley, (2008) From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain, *Nat Rev Neurosci*. 9(1): p. 46-56.
95. Tiedge, M., S. Lortz, J. Drinkgern, and S. Lenzen, (1997) Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells, *Diabetes*. 46(11): p. 1733-42.
96. Hong, J.H., M.J. Kim, M.R. Park, O.G. Kwag, I.S. Lee, B.H. Byun, S.C. Lee, K.B. Lee, and S.J. Rhee, (2004) Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats, *Clin Chim Acta*. 340(1-2): p. 107-15.
97. Khanzode, S.D., G.N. Dakhale, S.S. Khanzode, A. Saoji, and R. Palasodkar, (2003) Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors, *Redox Rep*. 8(6): p. 365-70.
98. Sarandol, A., E. Sarandol, S.S. Eker, S. Erdinc, E. Vatansever, and S. Kirli, (2007) Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems, *Hum Psychopharmacol*. 22(2): p. 67-73.
99. da Silva Haeser, A., A. Sitta, A.G. Barschak, M. Deon, A.T. Barden, G.O. Schmitt, S. Landgraff, R. Gomez, H.M. Barros, and C.R. Vargas, (2007) Oxidative stress parameters in diabetic rats submitted to forced swimming test: the clonazepam effect, *Brain Res*. 1154: p. 137-43.
100. Huang, C.C., C.C. Lee, and K.S. Hsu, (2010) The role of insulin receptor signaling in synaptic plasticity and cognitive function, *Chang Gung Med J*. 33(2): p. 115-25.
101. Craft, S. and G.S. Watson, (2004) Insulin and neurodegenerative disease: shared and specific mechanisms, *Lancet Neurol*. 3(3): p. 169-78.

102. Herrera, R., G. Manjarrez, E. Nishimura, and J. Hernandez, (2003) Serotonin-related tryptophan in children with insulin-dependent diabetes, *Pediatr Neurol.* 28(1): p. 20-3.
103. Mann, J.J., A. Apter, J. Bertolote, A. Beautrais, D. Currier, A. Haas, U. Hegerl, J. Lonnqvist, K. Malone, A. Marusic, L. Mehlum, G. Patton, M. Phillips, W. Rutz, Z. Rihmer, A. Schmidtke, D. Shaffer, M. Silverman, Y. Takahashi, A. Varnik, D. Wasserman, P. Yip, and H. Hendin, (2005) Suicide prevention strategies: a systematic review, *JAMA.* 294(16): p. 2064-74.
104. Strachan, M.W., I.J. Deary, F.M. Ewing, and B.M. Frier, (2000) Recovery of cognitive function and mood after severe hypoglycemia in adults with insulin-treated diabetes, *Diabetes Care.* 23(3): p. 305-12.
105. Rivier, C. and W. Vale, (1983) Modulation of stress-induced ACTH release by corticotropin-releasing factor, catecholamines and vasopressin, *Nature.* 305(5932): p. 325-7.
106. Munck, A., P.M. Guyre, and N.J. Holbrook, (1984) Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions, *Endocr Rev.* 5(1): p. 25-44.
107. Hudson, J.I., M.S. Hudson, A.J. Rothschild, L. Vignati, A.F. Schatzberg, and J.C. Melby, (1984) Abnormal results of dexamethasone suppression tests in nondepressed patients with diabetes mellitus, *Arch Gen Psychiatry.* 41(11): p. 1086-9.
108. Lebinger, T.G., P. Saenger, D.K. Fukushima, J. Kream, R. Wu, and J.W. Finkelstein, (1983) Twenty-four-hour cortisol profiles demonstrate exaggerated nocturnal rise in diabetic children, *Diabetes Care.* 6(5): p. 506-9.
109. Roy, M.S., A. Roy, W.T. Gallucci, B. Collier, K. Young, T.C. Kamilaris, and G.P. Chrousos, (1993) The ovine corticotropin-releasing hormone-stimulation test in type I diabetic patients and controls: suggestion of mild chronic hypercortisolism, *Metabolism.* 42(6): p. 696-700.
110. Gibbons, J.L. and H.P. Mc, (1962) Plasma cortisol in depressive illness, *J Psychiatr Res.* 1: p. 162-71.
111. Nemeroff, C.B., E. Widerlov, G. Bissette, H. Walleus, I. Karlsson, K. Eklund, C.D. Kilts, P.T. Loosen, and W. Vale, (1984) Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients, *Science.* 226(4680): p. 1342-4.
112. Dunn, A.J. and C.W. Berridge, (1990) Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses?, *Brain Res Brain Res Rev.* 15(2): p. 71-100.

113. Nemeroff, C.B., K.R. Krishnan, D. Reed, R. Leder, C. Beam, and N.R. Dunnick, (1992) Adrenal gland enlargement in major depression. A computed tomographic study, *Arch Gen Psychiatry*. 49(5): p. 384-7.
114. Reul, J.M., I. Stec, M. Soder, and F. Holsboer, (1993) Chronic treatment of rats with the antidepressant amitriptyline attenuates the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system, *Endocrinology*. 133(1): p. 312-20.
115. McIntyre, R.S., J.K. Soczynska, J.Z. Konarski, H.O. Woldeyohannes, C.W. Law, A. Miranda, D. Fulgosi, and S.H. Kennedy, (2007) Should Depressive Syndromes Be Reclassified as "Metabolic Syndrome Type II"?, *Ann Clin Psychiatry*. 19(4): p. 257-64.
116. Lloyd, A.J., I.N. Ferrier, R. Barber, A. Gholkar, A.H. Young, and J.T. O'Brien, (2004) Hippocampal volume change in depression: late- and early-onset illness compared, *Br J Psychiatry*. 184: p. 488-95.
117. Barde, Y.A., D. Edgar, and H. Thoenen, (1982) Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain, *EMBO J*. 1(5): p. 549-53.
118. Lu, B., P.T. Pang, and N.H. Woo, (2005) The yin and yang of neurotrophin action, *Nat Rev Neurosci*. 6(8): p. 603-14.
119. Sairanen, M., G. Lucas, P. Ernfors, M. Castren, and E. Castren, (2005) Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus, *J Neurosci*. 25(5): p. 1089-94.
120. Cunha, C., R. Brambilla, and K.L. Thomas, (2010) A simple role for BDNF in learning and memory?, *Front Mol Neurosci*. 3: p. 1.
121. Lee, R., P. Kermani, K.K. Teng, and B.L. Hempstead, (2001) Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins, *Science*. 294(5548): p. 1945-8.
122. Hempstead, B.L., (2015) Brain-Derived Neurotrophic Factor: Three Ligands, Many Actions, *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 126: p. 9-19.
123. Yamanaka, M., Y. Itakura, M. Ono-Kishino, A. Tsuchida, T. Nakagawa, and M. Taiji, (2008) Intermittent administration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) ameliorates glucose metabolism and prevents pancreatic exhaustion in diabetic mice, *J Biosci Bioeng*. 105(4): p. 395-402.
124. Krabbe, K.S., A.R. Nielsen, R. Krogh-Madsen, P. Plomgaard, P. Rasmussen, C. Erikstrup, C.P. Fischer, B. Lindegaard, A.M. Petersen, S. Taudorf, N.H. Secher, H. Pilegaard, H. Bruunsgaard, and B.K. Pedersen, (2007) Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes, *Diabetologia*. 50(2): p. 431-8.
125. Autry, A.E. and L.M. Monteggia, (2012) Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders, *Pharmacol Rev*. 64(2): p. 238-58.

126. Castren, E., V. Voikar, and T. Rantamaki, (2007) Role of neurotrophic factors in depression, *Curr Opin Pharmacol.* 7(1): p. 18-21.
127. Chen, B., D. Dowlatshahi, G.M. MacQueen, J.F. Wang, and L.T. Young, (2001) Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication, *Biol Psychiatry.* 50(4): p. 260-5.
128. Shimizu, E., K. Hashimoto, N. Okamura, K. Koike, N. Komatsu, C. Kumakiri, M. Nakazato, H. Watanabe, N. Shinoda, S. Okada, and M. Iyo, (2003) Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants, *Biol Psychiatry.* 54(1): p. 70-5.
129. Eisch, A.J., C.A. Bolanos, J. de Wit, R.D. Simonak, C.M. Pudiak, M. Barrot, J. Verhaagen, and E.J. Nestler, (2003) Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain-nucleus accumbens pathway: a role in depression, *Biol Psychiatry.* 54(10): p. 994-1005.
130. Coyle, J.T. and R.S. Duman, (2003) Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments, *Neuron.* 38(2): p. 157-60.
131. Jang, S.W., X. Liu, M. Yepes, K.R. Shepherd, G.W. Miller, Y. Liu, W.D. Wilson, G. Xiao, B. Bianchi, Y.E. Sun, and K. Ye, (2010) A selective TrkB agonist with potent neurotrophic activities by 7,8-dihydroxyflavone, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107(6): p. 2687-92.
132. Su, T.P., T. Hayashi, T. Maurice, S. Buch, and A.E. Ruoho, (2010) The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator, *Trends Pharmacol Sci.* 31(12): p. 557-66.
133. Kekuda, R., P.D. Prasad, Y.J. Fei, F.H. Leibach, and V. Ganapathy, (1996) Cloning and functional expression of the human type 1 sigma receptor (hSigmaR1), *Biochem Biophys Res Commun.* 229(2): p. 553-8.
134. The Human Protein Atlas. SigmaR1; Available from: <http://www.proteinatlas.org/ENSG00000147955-SIGMAR1/tissue>.
135. Maurice, T., F.J. Roman, and A. Privat, (1996) Modulation by neurosteroids of the in vivo (+)-[3H]SKF-10,047 binding to sigma 1 receptors in the mouse forebrain, *J Neurosci Res.* 46(6): p. 734-43.
136. Narita, N., K. Hashimoto, S. Tomitaka, and Y. Minabe, (1996) Interactions of selective serotonin reuptake inhibitors with subtypes of sigma receptors in rat brain, *Eur J Pharmacol.* 307(1): p. 117-9.
137. Wang, Y., L. Guo, H.F. Jiang, L.T. Zheng, A. Zhang, and X.C. Zhen, (2016) Allosteric Modulation of Sigma-1 Receptors Elicits Rapid Antidepressant Activity, *CNS Neurosci Ther.* 22(5): p. 368-77.

138. Moriguchi, S., H. Sakagami, Y. Yabuki, Y. Sasaki, H. Izumi, C. Zhang, F. Han, and K. Fukunaga, (2015) Stimulation of Sigma-1 Receptor Ameliorates Depressive-like Behaviors in CaMKIV Null Mice, *Mol Neurobiol.* 52(3): p. 1210-22.
139. Sha, S., J. Hong, W.J. Qu, Z.H. Lu, L. Li, W.F. Yu, and L. Chen, (2015) Sex-related neurogenesis decrease in hippocampal dentate gyrus with depressive-like behaviors in sigma-1 receptor knockout mice, *Eur Neuropsychopharmacol.* 25(8): p. 1275-86.
140. Hashimoto, K., (2013) Sigma-1 receptor chaperone and brain-derived neurotrophic factor: emerging links between cardiovascular disease and depression, *Prog Neurobiol.* 100: p. 15-29.
141. Kikuchi-Utsumi, K. and T. Nakaki, (2008) Chronic treatment with a selective ligand for the sigma-1 receptor chaperone, SA4503, up-regulates BDNF protein levels in the rat hippocampus, *Neurosci Lett.* 440(1): p. 19-22.
142. Fujimoto, M., T. Hayashi, R. Urfer, S. Mita, and T.P. Su, (2012) Sigma-1 receptor chaperones regulate the secretion of brain-derived neurotrophic factor, *Synapse.* 66(7): p. 630-9.
143. Xu, Q., X.F. Ji, T.Y. Chi, P. Liu, G. Jin, S.L. Gu, and L.B. Zou, (2015) Sigma 1 receptor activation regulates brain-derived neurotrophic factor through NR2A-CaMKIV-TORC1 pathway to rescue the impairment of learning and memory induced by brain ischaemia/reperfusion, *Psychopharmacology (Berl).* 232(10): p. 1779-91.
144. Failli, P., C. Alfarano, S. Franchi-Micheli, E. Mannucci, E. Cerbai, A. Mugelli, and L. Raimondi, (2009) Losartan counteracts the hyper-reactivity to angiotensin II and ROCK1 over-activation in aortas isolated from streptozotocin-injected diabetic rats, *Cardiovasc Diabetol.* 8: p. 32.
145. Taira, M., H. Toba, M. Murakami, I. Iga, R. Serizawa, S. Murata, M. Kobara, and T. Nakata, (2008) Spironolactone exhibits direct renoprotective effects and inhibits renal renin-angiotensin-aldosterone system in diabetic rats, *Eur J Pharmacol.* 589(1-3): p. 264-71.
146. Coppey, L.J., E.P. Davidson, T.W. Rinehart, J.S. Gellett, C.L. Oltman, D.D. Lund, and M.A. Yorek, (2006) ACE inhibitor or angiotensin II receptor antagonist attenuates diabetic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats, *Diabetes.* 55(2): p. 341-8.
147. O'Sullivan, J.B. and S.B. Harrap, (1995) Resetting blood pressure in spontaneously hypertensive rats. The role of bradykinin, *Hypertension.* 25(2): p. 162-5.

148. Hao, L., Y. Kanno, R. Fukushima, Y. Watanabe, Y. Ishida, and H. Suzuki, (2004) Effects of eplerenone on heart and kidney in two-kidney, one-clip rats, *Am J Nephrol.* 24(1): p. 54-60.
149. Banki, N.F., A. Ver, L.J. Wagner, A. Vannay, P. Degrell, A. Prokai, R. Gellai, L. Lenart, D.N. Szakal, E. Kenesei, K. Rosta, G. Reusz, A.J. Szabo, T. Tulassay, C. Baylis, and A. Fekete, (2012) Aldosterone antagonists in monotherapy are protective against streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats, *PLoS One.* 7(6): p. e39938.
150. Kendler, K.S., L.M. Karkowski, and C.A. Prescott, (1999) Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression, *Am J Psychiatry.* 156(6): p. 837-41.
151. Pittenger, C. and R.S. Duman, (2008) Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms, *Neuropsychopharmacology.* 33(1): p. 88-109.
152. Bronikowski, A.M., P.A. Carter, J.G. Swallow, I.A. Girard, J.S. Rhodes, and T. Garland, (2001) Open-field behavior of house mice selectively bred for high voluntary wheel-running, *Behav Genet.* 31(3): p. 309-16.
153. Porsolt, R.D., M. Le Pichon, and M. Jalfre, (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments, *Nature.* 266(5604): p. 730-2.
154. Slattery, D.A. and J.F. Cryan, (2012) Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents, *Nat Protoc.* 7(6): p. 1009-14.
155. Kurtz, T.W., K.A. Griffin, A.K. Bidani, R.L. Davisson, J.E. Hall, P. Subcommittee of, and R. Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure, (2005) Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 2: blood pressure measurement in experimental animals: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 25(3): p. e22-33.
156. Banki, E., P. Degrell, P. Kiss, K. Kovacs, A. Kemeny, K. Csanaky, A. Duh, D. Nagy, G. Toth, A. Tamas, and D. Reglodi, (2013) Effect of PACAP treatment on kidney morphology and cytokine expression in rat diabetic nephropathy, *Peptides.* 42: p. 125-30.
157. Hao, J., S.X. Liu, S. Zhao, Q.J. Liu, W. Liu, and H.J. Duan, (2012) High-fat diet causes increased serum insulin and glucose which synergistically lead to renal tubular lipid deposition and extracellular matrix accumulation, *Br J Nutr.* 107(1): p. 74-85.
158. Zelena, D., L. Filaretova, Z. Mergl, I. Barna, Z.E. Toth, and G.B. Makara, (2006) Hypothalamic paraventricular nucleus, but not vasopressin, participates in chronic

- hyperactivity of the HPA axis in diabetic rats, *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 290(2): p. E243-50.
159. Polyakova, M., K. Stuke, K. Schuemberg, K. Mueller, P. Schoenknecht, and M.L. Schroeter, (2015) BDNF as a biomarker for successful treatment of mood disorders: a systematic & quantitative meta-analysis, *J Affect Disord.* 174: p. 432-40.
 160. Liu, W., X. Han, X. Zhou, S. Zhang, X. Cai, L. Zhang, Y. Li, M. Li, S. Gong, and L. Ji, (2016) Brain derived neurotrophic factor in newly diagnosed diabetes and prediabetes, *Mol Cell Endocrinol.* 429: p. 106-13.
 161. U S Renal Data System, U., (2010) Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD.
 162. Islam, S.M., L.B. Rawal, and L.W. Niessen, (2015) Prevalence of depression and its associated factors in patients with type 2 diabetes: A cross-sectional study in Dhaka, Bangladesh, *Asian J Psychiatr.* 17: p. 36-41.
 163. Egede, L.E. and C. Ellis, (2010) Diabetes and depression: global perspectives, *Diabetes Res Clin Pract.* 87(3): p. 302-12.
 164. Zelena, D., A. Domokos, I. Barna, K. Csabail, G. Bagdy, and G.B. Makara, (2007) The role of vasopressin in chronic stress studied in a chronic mild stress model of depression, *Ideggyogy Sz.* 60(3-4): p. 196-200.
 165. Mic, A.A., F.A. Mic, C.A. Tatu, M. Ionac, V.L. Ordodi, and V. Paunescu, (2007) Indomethacin inhibits thymic involution in mice with streptozotocin-induced diabetes, *Comp Med.* 57(5): p. 476-81.
 166. Ani A. Mic, A.T.G., Maria Suciuc, Seyed Mohammad Reza Azghadi, Felix A. Mic, (2015) Diabetes impairs thymocyte proliferation and causes thymocyte apoptosis with subsequent thymus involution in mouse, *Annals of R.S.C.B.* XIX(3): p. 21-33.
 167. Cai, L., R. Li, W.J. Tang, G. Meng, X.Y. Hu, and T.N. Wu, (2015) Antidepressant-like effect of geniposide on chronic unpredictable mild stress-induced depressive rats by regulating the hypothalamus-pituitary-adrenal axis, *Eur Neuropsychopharmacol.* 25(8): p. 1332-41.
 168. Freire-Garabal, M., M.J. Nunez, C. Losada, D. Pereiro, M.P. Riveiro, E. Gonzalez-Patino, J.M. Mayan, and M. Rey-Mendez, (1997) Effects of fluoxetine on the immunosuppressive response to stress in mice, *Life Sci.* 60(26): p. PL403-13.
 169. Kioukia-Fougia, N., K. Antoniou, S. Bekris, C. Liapi, I. Christofidis, and Z. Papadopoulou-Daifoti, (2002) The effects of stress exposure on the hypothalamic-

- pituitary-adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 26(5): p. 823-30.
170. Lucki, I., (1997) The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs, *Behav Pharmacol*. 8(6-7): p. 523-32.
 171. Cryan, J.F., R.J. Valentino, and I. Lucki, (2005) Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test, *Neurosci Biobehav Rev*. 29(4-5): p. 547-69.
 172. Detke, M.J., M. Rickels, and I. Lucki, (1995) Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants, *Psychopharmacology (Berl)*. 121(1): p. 66-72.
 173. Nadeem, R.I., H.I. Ahmed, and E.E. El-Denshary, (2015) Effect of Imipramine, Paroxetine, and Lithium Carbonate on Neurobehavioral Changes of Streptozotocin in Rats: Impact on Glycogen Synthase Kinase-3 and Blood Glucose Level, *Neurochem Res*. 40(9): p. 1810-8.
 174. Caletti, G., D.B. Olguins, E.F. Pedrollo, H.M. Barros, and R. Gomez, (2012) Antidepressant effect of taurine in diabetic rats, *Amino Acids*. 43(4): p. 1525-33.
 175. Markowitz, S.M., J.S. Gonzalez, J.L. Wilkinson, and S.A. Safren, (2011) A review of treating depression in diabetes: emerging findings, *Psychosomatics*. 52(1): p. 1-18.
 176. Sanchez, C. and E. Meier, (1997) Behavioral profiles of SSRIs in animal models of depression, anxiety and aggression. Are they all alike?, *Psychopharmacology (Berl)*. 129(3): p. 197-205.
 177. Kamei, J., S. Miyata, K. Morita, A. Saitoh, and H. Takeda, (2003) Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on immobility time in the tail suspension test in streptozotocin-induced diabetic mice, *Pharmacol Biochem Behav*. 75(2): p. 247-54.
 178. Nair, A.B. and S. Jacob, (2016) A simple practice guide for dose conversion between animals and human, *J Basic Clin Pharm*. 7(2): p. 27-31.
 179. Benmansour, S., R.S. Weaver, A.K. Barton, O.S. Adeniji, and A. Frazer, (2012) Comparison of the effects of estradiol and progesterone on serotonergic function, *Biol Psychiatry*. 71(7): p. 633-41.
 180. de Jong, T.R., L.J. Snaphaan, T. Pattij, J.G. Veening, M.D. Waldinger, A.R. Cools, and B. Olivier, (2006) Effects of chronic treatment with fluvoxamine and paroxetine during adolescence on serotonin-related behavior in adult male rats, *Eur Neuropsychopharmacol*. 16(1): p. 39-48.
 181. Lyttle, K., Y. Ohmura, K. Konno, T. Yoshida, T. Izumi, M. Watanabe, and M. Yoshioka, (2015) Repeated fluvoxamine treatment recovers juvenile stress-

- induced morphological changes and depressive-like behavior in rats, *Brain Res.* 1616: p. 88-100.
182. Sugimoto, Y., Y. Kajiwara, K. Hirano, S. Yamada, N. Tagawa, Y. Kobayashi, Y. Hotta, and J. Yamada, (2008) Mouse strain differences in immobility and sensitivity to fluvoxamine and desipramine in the forced swimming test: analysis of serotonin and noradrenaline transporter binding, *Eur J Pharmacol.* 592(1-3): p. 116-22.
 183. Sugimoto, Y., N. Tagawa, Y. Kobayashi, K. Mitsui-Saito, Y. Hotta, and J. Yamada, (2012) Involvement of the sigma1 receptor in the antidepressant-like effects of fluvoxamine in the forced swimming test in comparison with the effects elicited by paroxetine, *Eur J Pharmacol.* 696(1-3): p. 96-100.
 184. Fishback, J.A., M.J. Robson, Y.T. Xu, and R.R. Matsumoto, (2010) Sigma receptors: potential targets for a new class of antidepressant drug, *Pharmacol Ther.* 127(3): p. 271-82.
 185. Hashimoto, K., (2015) Activation of sigma-1 receptor chaperone in the treatment of neuropsychiatric diseases and its clinical implication, *J Pharmacol Sci.* 127(1): p. 6-9.
 186. Mizoguchi, H., J. Nakade, M. Tachibana, D. Ibi, E. Someya, H. Koike, H. Kamei, T. Nabeshima, S. Itohara, K. Takuma, M. Sawada, J. Sato, and K. Yamada, (2011) Matrix metalloproteinase-9 contributes to kindled seizure development in pentylentetrazole-treated mice by converting pro-BDNF to mature BDNF in the hippocampus, *J Neurosci.* 31(36): p. 12963-71.
 187. Etemad, A., F. Sheikhzadeh, and N.A. Asl, (2015) Evaluation of brain-derived neurotrophic factor in diabetic rats, *Neurol Res.* 37(3): p. 217-22.
 188. Perovic, M., V. Tesic, A. Mladenovic Djordjevic, K. Smiljanic, N. Loncarevic-Vasiljkovic, S. Ruzdijic, and S. Kanazir, (2013) BDNF transcripts, proBDNF and proNGF, in the cortex and hippocampus throughout the life span of the rat, *Age (Dordr).* 35(6): p. 2057-70.
 189. Wetsel, W.C., R.M. Rodriguiz, J. Guillemot, E. Rousset, R. Essalmani, I.H. Kim, J.C. Bryant, J. Marcinkiewicz, R. Desjardins, R. Day, D.B. Constam, A. Prat, and N.G. Seidah, (2013) Disruption of the expression of the proprotein convertase PC7 reduces BDNF production and affects learning and memory in mice, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110(43): p. 17362-7.
 190. Niitsu, T., T. Ishima, T. Yoshida, T. Hashimoto, D. Matsuzawa, Y. Shirayama, M. Nakazato, E. Shimizu, K. Hashimoto, and M. Iyo, (2014) A positive correlation between serum levels of mature brain-derived neurotrophic factor and negative symptoms in schizophrenia, *Psychiatry Res.* 215(2): p. 268-73.

191. Yoshimura, R., T. Kishi, H. Hori, K. Atake, A. Katsuki, W. Nakano-Umene, A. Ikenouchi-Sugita, N. Iwata, and J. Nakamura, (2014) Serum proBDNF/BDNF and response to fluvoxamine in drug-naive first-episode major depressive disorder patients, *Ann Gen Psychiatry*. 13: p. 19.
192. Voican, C.S., E. Corruble, S. Naveau, and G. Perlemuter, (2014) Antidepressant-induced liver injury: a review for clinicians, *Am J Psychiatry*. 171(4): p. 404-15.
193. Yamada, J., Y. Sugimoto, and K. Inoue, (1999) Selective serotonin reuptake inhibitors fluoxetine and fluvoxamine induce hyperglycemia by different mechanisms, *Eur J Pharmacol*. 382(3): p. 211-5.
194. Oswald, P., D. Souery, and J. Mendlewicz, (2003) Fluvoxamine-induced hyperglycaemia in a diabetic patient with comorbid depression, *Int J Neuropsychopharmacol*. 6(1): p. 85-7.
195. Reddy, V.S., Q.T. Bui, J.R. Jacobs, S.M. Begelman, D.P. Miller, W.J. French, and b. Investigators of National Registry of Myocardial Infarction, (2015) Relationship between serum low-density lipoprotein cholesterol and in-hospital mortality following acute myocardial infarction (the lipid paradox), *Am J Cardiol*. 115(5): p. 557-62.
196. Tse, L., R.M. Procyshyn, D.H. Fredrikson, H.N. Boyda, W.G. Honer, and A.M. Barr, (2014) Pharmacological treatment of antipsychotic-induced dyslipidemia and hypertension, *Int Clin Psychopharmacol*. 29(3): p. 125-37.
197. de Zwaan, M. and D.O. Nutzinger, (1996) Effect of fluvoxamine on total serum cholesterol levels during weight reduction, *J Clin Psychiatry*. 57(8): p. 346-8.
198. Navaneethan, S.D. and E.L. Bravo, (2013) Aldosterone breakthrough during angiotensin receptor blocker use: more questions than answers?, *Clin J Am Soc Nephrol*. 8(10): p. 1637-9.
199. Nakagawa, T., (2010) Diabetic nephropathy: Aldosterone breakthrough in patients on an ACEI, *Nat Rev Nephrol*. 6(4): p. 194-6.
200. Kato, S., S. Maruyama, H. Makino, J. Wada, D. Ogawa, T. Uzu, H. Araki, D. Koya, K. Kanasaki, Y. Oiso, M. Goto, A. Nishiyama, H. Kobori, E. Imai, M. Ando, and S. Matsuo, (2015) Anti-albuminuric effects of spironolactone in patients with type 2 diabetic nephropathy: a multicenter, randomized clinical trial, *Clin Exp Nephrol*. 19(6): p. 1098-106.
201. Nielsen, S.E., F. Persson, E. Frandsen, T. Sugaya, G. Hess, D. Zdunek, K.J. Shjoedt, H.H. Parving, and P. Rossing, (2012) Spironolactone diminishes urinary albumin excretion in patients with type 1 diabetes and microalbuminuria: a randomized placebo-controlled crossover study, *Diabet Med*. 29(8): p. e184-90.

202. Lainscak, M., F. Pelliccia, G. Rosano, C. Vitale, M. Schiariti, C. Greco, G. Speziale, and C. Gaudio, (2015) Safety profile of mineralocorticoid receptor antagonists: Spironolactone and eplerenone, *Int J Cardiol.* 200: p. 25-9.
203. Braszko, J.J., W. Karwowska-Polecka, D. Halicka, and P.R. Gard, (2003) Captopril and enalapril improve cognition and depressed mood in hypertensive patients, *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 14(4): p. 323-43.
204. Nasr, S.J., J.W. Crayton, B. Agarwal, B. Wendt, and R. Kora, (2011) Lower frequency of antidepressant use in patients on renin-angiotensin-aldosterone system modifying medications, *Cell Mol Neurobiol.* 31(4): p. 615-8.
205. Nayak, V. and P.A. Patil, (2008) Antidepressant activity of fosinopril, ramipril and losartan, but not of lisinopril in depressive paradigms of albino rats and mice, *Indian J Exp Biol.* 46(3): p. 180-4.
206. Vijayapandi, P. and A.N. Nagappa, (2005) Biphasic effects of losartan potassium on immobility in mice, *Yakugaku Zasshi.* 125(8): p. 653-7.
207. Wu, T.C., H.T. Chen, H.Y. Chang, C.Y. Yang, M.C. Hsiao, M.L. Cheng, and J.C. Chen, (2013) Mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone prevents chronic corticosterone induced depression-like behavior, *Psychoneuroendocrinology.* 38(6): p. 871-83.
208. Mostalac-Preciado, C.R., P. de Gortari, and C. Lopez-Rubalcava, (2011) Antidepressant-like effects of mineralocorticoid but not glucocorticoid antagonists in the lateral septum: interactions with the serotonergic system, *Behav Brain Res.* 223(1): p. 88-98.
209. Holsboer, F., (2001) Stress, hypercortisolism and corticosteroid receptors in depression: implications for therapy, *J Affect Disord.* 62(1-2): p. 77-91.
210. Saavedra, J.M., H. Ando, I. Armando, G. Baiardi, C. Bregonzio, M. Jezova, and J. Zhou, (2004) Brain angiotensin II, an important stress hormone: regulatory sites and therapeutic opportunities, *Ann N Y Acad Sci.* 1018: p. 76-84.
211. Saavedra, J.M., (2012) Angiotensin II AT(1) receptor blockers as treatments for inflammatory brain disorders, *Clin Sci (Lond).* 123(10): p. 567-90.
212. Pavlatou, M.G., G. Mastorakos, I. Lekakis, S. Liatis, G. Vamvakou, E. Zoumakis, I. Papassotiriou, A.D. Rabavilas, N. Katsilambros, and G.P. Chrousos, (2008) Chronic administration of an angiotensin II receptor antagonist resets the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and improves the affect of patients with diabetes mellitus type 2: preliminary results, *Stress.* 11(1): p. 62-72.
213. Ahola, A.J., V. Harjutsalo, C. Forsblom, and P.H. Groop, (2014) Renin-angiotensin-aldosterone-blockade is associated with decreased use of antidepressant therapy in patients with type 1 diabetes and diabetic nephropathy, *Acta Diabetol.* 51(4): p. 529-33.

214. Aswar, U., S. Chepurwar, S. Shintre, and M. Aswar, (2017) Telmisartan attenuates diabetes induced depression in rats, *Pharmacol Rep.* 69(2): p. 358-364.
215. Armando, I., A. Carranza, Y. Nishimura, K.L. Hoe, M. Barontini, N.J. Terro, N.N.A. Falco, T. Ito, A.V. Juorio, and J.M. Saavedra, (2001) Peripheral Administration of an Angiotensin II AT1 Receptor Antagonist Decreases the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Response to Isolation Stress, *Endocrinology.* 142(9): p. 3880-3889.
216. Raasch, W., C. Wittmershaus, A. Dendorfer, I. Voges, F. Pahlke, C. Dodt, P. Dominiak, and O. Jhren, (2006) Angiotensin II inhibition reduces stress sensitivity of hypothalamo-pituitary-adrenal axis in spontaneously hypertensive rats, *Endocrinology.* 147(7): p. 3539-46.
217. Young, E.A., J.F. Lopez, V. Murphy-Weinberg, S.J. Watson, and H. Akil, (1998) The role of mineralocorticoid receptors in hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation in humans, *J Clin Endocrinol Metab.* 83(9): p. 3339-45.
218. Shu, Y.H., X.M. Lu, J.X. Wei, L. Xiao, and Y.T. Wang, (2015) Update on the role of p75NTR in neurological disorders: A novel therapeutic target, *Biomed Pharmacother.* 76: p. 17-23.
219. Zhou, L., J. Xiong, Y. Lim, Y. Ruan, C. Huang, Y. Zhu, J.H. Zhong, Z. Xiao, and X.F. Zhou, (2013) Upregulation of blood proBDNF and its receptors in major depression, *J Affect Disord.* 150(3): p. 776-84.
220. Daniel, P.B., W. Lux, A.L. Samson, W.D. Schleuning, B. Niego, T.W. Weiss, A. Tjarnlund-Wolf, and R.L. Medcalf, (2007) Two conserved regions within the tissue-type plasminogen activator gene promoter mediate regulation by brain-derived neurotrophic factor, *FEBS J.* 274(9): p. 2411-23.
221. Yoshida, H., T. Imaizumi, K. Tanji, H. Sakaki, N. Metoki, Y. Sato, K. Wakabayashi, H. Kimura, and K. Satoh, (2006) Interleukin-1 β enhances the angiotensin-induced expression of plasminogen activator inhibitor-1 through angiotensin receptor upregulation in human astrocytes, *Brain Res.* 1073-1074: p. 38-47.
222. Gu, C., J. Zhang, N.A. Noble, X.R. Peng, and Y. Huang, (2016) An additive effect of anti-PAI-1 antibody to ACE inhibitor on slowing the progression of diabetic kidney disease, *Am J Physiol Renal Physiol.* 311(5): p. F852-F863.
223. Fisar, Z. and J. Hroudova, (2010) Intracellular signalling pathways and mood disorders, *Folia Biol (Praha).* 56(4): p. 135-48.
224. Kishi, T., Y. Hirooka, and K. Sunagawa, (2012) Telmisartan protects against cognitive decline via up-regulation of brain-derived neurotrophic factor/tropomyosin-related kinase B in hippocampus of hypertensive rats, *J Cardiol.* 60(6): p. 489-94.

225. Ali, M.R., A.M. Abo-Youssef, B.A. Messiha, and M.M. Khattab, (2016) Tempol and perindopril protect against lipopolysaccharide-induced cognition impairment and amyloidogenesis by modulating brain-derived neurotropic factor, neuroinflammation and oxido-nitrosative stress, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 389(6): p. 637-56.
226. Xiang, Q., J. Zhang, C.Y. Li, Y. Wang, M.J. Zeng, Z.X. Cai, R.B. Tian, W. Jia, and X.H. Li, (2015) Insulin resistance-induced hyperglycemia decreased the activation of Akt/CREB in hippocampus neurons: Molecular evidence for mechanism of diabetes-induced cognitive dysfunction, *Neuropeptides.* 54: p. 9-15.
227. Goel, R., S.A. Bhat, K. Hanif, C. Nath, and R. Shukla, (2017) Angiotensin II Receptor Blockers Attenuate Lipopolysaccharide-Induced Memory Impairment by Modulation of NF-kappaB-Mediated BDNF/CREB Expression and Apoptosis in Spontaneously Hypertensive Rats, *Mol Neurobiol.*

10. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK BIBLIOGRÁFIAI ADATAI

Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. **Lenart L**, Hodrea J, Hosszu A, Koszegi S, Zelena D, Balogh D, Szkibinszkij E, Veres-Szekely A, Wagner L, Vannay A, Szabo AJ, Fekete A. The role of sigma-1 receptor and brain-derived neurotrophic factor in the development of diabetes and comorbid depression in streptozotocin-induced diabetic rats. PSYCHOPHARMACOLOGY 234: pp. 1-10. (2016). **IF: 3,54**
2. Gellai Renata, Hodrea Judit, **Lenart Lilla**, Hosszu Adam, Kőszegi Sandor, Balogh Dora, Ver Agota, Banki Nora F, Fülöp Norbert, Molnar Agnes, Wagner Laszlo, Vannay Adam, Szabo J Attila, Fekete Andrea. The role of O-linked N-acetylglucosamine modification in diabetic nephropathy. AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY: RENAL PHYSIOLOGY In press: p. In press. (2016). **IF: 3,39**
3. Hodrea Judit, **Lénárt Lilla**, Gellai Renáta, Kőszegi Sándor, Wagner László, Bánki N Fanni, Vér Ágota, Vannay Ádám, Tulassay Tivadar, Fekete Andrea. A diabeteshez társuló depresszió patomechanizmusa. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 66:(4) pp. 198-203. (2013)
4. Bánki Nóra Fanni, Kőszegi Sándor, Wagner László, **Lénárt Lilla**, Varga Dóra, Gellai Renáta, Hodrea Judit, Vér Ágota, Szabó J Attila, Tulassay Tivadar, Fekete Andrea. Új terápiás támpontok a diabéteszes nephropathia kezelésében: a renin-angiotenzin-aldoszteron-rendszer és a Na/K ATP-áz szerepe. GYERMEKGYÓGYÁSZAT 64:(2) pp. 70-73. (2013)
5. Banki N F, Ver A, Wagner L J, Vannay A, Degrell P, Prokai A, Gellai R, **Lenart L**, Szakal D -N, Kenesei E, Rosta K, Reusz G, Szabo A J, Tulassay T, Baylis C, Fekete A. Aldosterone antagonists in monotherapy are protective against streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. PLOS ONE 7:(6) Paper e39938. 8 p. (2012). **IF: 3,73**

Más témában megjelent publikációk

1. Hosszu A, Antal Z, **Lenart L**, Hodrea J, Koszegi S, Balogh DB, Banki NF, Wagner L, Denes A, Hamar P, Degrell P, Vannay A, Szabo AJ, Fekete A. Sigma1-Receptor Agonism Protects against Renal Ischemia-Reperfusion Injury. JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF NEPHROLOGY in: p. press. (2016). **IF: 8,491**

2. Szigeti A, Ecsedy M, Schneider M, **Lenart L**, Lesch B, Nagy ZZ, Fekete A, Recsan Z. Stromal Cell-Derived Factor 1 Polymorphism in Retinal Vein Occlusion. PLOS ONE 11:(11) Paper e0166544. 11 p. (2016). **IF: 3,057**
3. Nemcsik J, Laszlo A, **Lenart L**, Eorsi D, Torzsa P, Korosi B, Cseprekal O, Tisler A, Tabak A, Gonda X, Rihmer Z, Hodrea J, Nemcsik-Bencze Z, Fekete A. Hyperthymic affective temperament and hypertension are independent determinants of serum brain-derived neurotrophic factor level. ANNALS OF GENERAL PSYCHIATRY 15: Paper 17. 7 p. (2016). **IF: 1,411**
4. Laszlo A, Babos L, Kis-Igari Z, Palfy A, Torzsa P, Eory A, Kalabay L, Gonda X, Rihmer Z, Cseprekal O, Tisler A, Hodrea J, **Lenart L**, Fekete A, Nemcsik J. Identification of hypertensive patients with dominant affective temperaments might improve the psychopathological and cardiovascular risk stratification: a pilot, case-control study. ANNALS OF GENERAL PSYCHIATRY 14: Paper 33. 8 p. (2015). **IF: 1,411**

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Rendkívüli hálával tartozom témavezetőmnek Dr. Fekete Andreának az évek során nyújtott fáradhatatlan segítségéért. Köszönöm a belém vetett bizalmát, a tanításomra fordított idejét és nem utolsó sorban azt a szemléletformálást, amit tőle kaptam. Köszönöm, hogy szakmailag és emberileg is támogatott.

Köszönettel tartozom Szabó Attila és Tulassay Tivadar professzor uraknak a lehetőségért, hogy Ph.D. munkámat az I.sz. Gyermekgyógyászati Klinika Kutatólaboratóriumában végezhettem.

Nagyon köszönöm laborunk „senior” kutatóinak, Hodrea Juditnak, Vannay Ádámnak, Wagner Lászlónak, hogy szakértő tanácsaikkal mindvégig segítették a munkámat a tudományos kutatás és a publikálás területén.

Külön köszönettel tartozom a „Lendület” munkacsoport tagjainak: Hosszú Ádámnak, Balogh Dórának, Szkibinszkij Edgárnak, Kőszegi Sándornak és Gellai Renátának, a kísérletek tervezésében és kivitelezésében nyújtott segítségükért, hogy egymást támogatva, baráti légkörben dolgozhattunk a mindennapi munkám során.

Ezúton is köszönet illeti kollaborációs partnereinket: Mikics Évát, Zelena Dórát és Dénes Ádámot a Kísérleti Orvostudományi Intézetből a viselkedési tesztek, illetve a neuroinflammációval kapcsolatos mérések kivitelezésében nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért.

Nagyon köszönöm Bernáth Máriának a kísérletek technikai kivitelezése során nyújtott segítségét és baráti támogatását.

Köszönöm I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika és a MTA-SE Nefrológiai Kutatólaboratórium valamennyi dolgozójának, hogy a napi szinten felmerülő kérdések, nehézségek megoldásában segítettek. Köszönöm, hogy motiváló és barátságos légkört teremtettek a laborban.

Végül, de nem utolsó sorban mérhetetlen hálával tartozom Hosszú Ádámnak és családomnak önzetlen támogatásukért, pótolhatatlan segítségükért, aggódó gondoskodásukért és véget nem érő biztatásukért.