



**DİYABETİK NEFROPATİDE SİSTEMİK ADROPİN UYGULAMASININ
OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİLERİ**

Çağrı Alp DÜZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2020

ÇAĞRI ALP DÜZ tarafından hazırlanan “Diyabetik Nefropatide Sistemik Adropin Uygulamasının Oksidatif Stres Üzerine Etkileri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Çiğdem ÖZER

Fizyoloji AD, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan : Prof. Dr. Sami AYDOĞAN

Fizyoloji AD, Yüksek İhtisas Üniversitesi

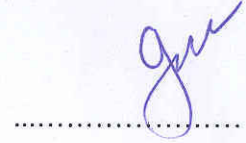
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. K. Gonca AKBULUT

Fizyoloji AD, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 13/01/2020

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Çağrı Alp DÜZ

13 / 01 / 2020

DİYABETİK NEFROPATİDE SİSTEMİK ADROPİN UYGULAMASININ OKSİDATİF
STRES ÜZERİNE ETKİLERİ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Çağrı Alp DÜZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2020

ÖZET

Genetik faktörler, beslenme alışkanlıkları ve sedanter yaşam gibi etkenler sonucu görülen diabetes mellitus (DM) hastalığına sahip kişi sayısı her geçen yıl artmaktadır. Ölüm nedenleri arasında üst sıralarda yer alan diyabetin ana morbidite ve mortalite nedenlerinden birisi insidansı %30-40 olan diyabetik nefropatidir (DN). Bu nedenle diyabet tedavisinde nefropati ana hedeflerden birisidir. Karaciğer, beyin, kalp ve koroner arterde sentezlenen adropin insülin duyarlılığında, glukoz intoleransında, enerji homeostazisinde rol oynar ve düşük adropin seviyeleri çeşitli patolojik değişiklikler ile ilişkilidir. Çalışmamızda sıçanlarda streptozotosin (STZ) ile oluşturulan DN'de sistemik adropin uygulamasının böbrek dokusu üzerine biyokimyasal ve morfolojik etkilerini incelemeyi amaçladık. 28 adet Wistar albino sıçan 4 gruba ayrıldı: 1. Kontrol (K), 2. Adropin (A), 3. Diyabet (D), 4. Diyabet+Adropin (D+A). Diyabet gruplarına tek doz, intraperitoneal (ip) olarak 65 mg/kg STZ uygulanırken, kontrol ve adropin gruplarına STZ çözücüsü uygulandı. Adropin gruplarına STZ ve/veya STZ çözücüsü verilmesinden 8 hafta sonra 10 gün boyunca ip olarak günde 2 defa 450 nmol/ kg adropin uygulaması yapıldı. Kontrol ve diyabet gruplarına ise 8 haftayı takiben 10 gün, günde 2 defa % 0.9 serum fizyolojik (SF) verildi. Denekler son doz uygulamasından 1 gün sonra ketamin-ksilazin anestezi altında intrakardiyak kan alınarak feda edildi. Çalışma sonunda böbrek dokusunda total oksidan, malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) seviyeleri, glomerüler ϕ ap, glomerüler bazal membran kalınlığı ölçüldü ve kollajen lif yoğunluğu değerlendirildi. Sonuçlar IBM SPSS Statics 22 programında karşılaştırıldı ve $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Diyabet grubunda kontrol ve adropin grupları ile karşılaştırıldığında yüksek MDA, TOS ($p<0,05$), VEGF ($p<0,05$) ve TNF- α ($p<0,05$) seviyelerinde, glomerüler ϕ ap ($p<0,05$), kollajen lif yoğunluğu ($p<0,05$) ve glomerüler bazal membran kalınlığı ($p<0,05$) bulundu. Diyabet+Adropin grubunda diyabet grubuna göre azalmış VEGF ($p<0,05$) ve TOS seviyeleri ($p<0,05$), kollajen lif yoğunluğu ($p<0,05$), glomerüler ϕ ap ($p<0,05$), ve bazal membran kalınlığı ($p<0,05$) tespit edildi.

Bilim Kodu : 1023

Anahtar Kelimeler : Adropin, Diyabetik Nefropati, Oksidatif Stres

Sayfa Adedi : 84

Danışman : Prof. Dr. Çiğdem ÖZER

EFFECTS OF SYSTEMIC ADROPIN ADMINISTRATION ON OXIDATIVE STRESS IN DIABETIC NEPHROPATHY

(M. Sc. Thesis)

Çağrı Alp DÜZ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2020

ABSTRACT

The number of person who have diabetes mellitus (DM) that is caused by factors such as genetic factors, nutritional habits and sedentary lifestyle is increasing each year. Diabetes is among the major causes of death and diabetic nephropathy, with an incidence of 30-40%, is one of the major causes of morbidity and mortality of diabetes. Therefore DN is one of the main targets in treatment of diabetes. Adropin that is synthesised by liver, brain, heart and coronary artery plays a role in insülin sensivity and glucose homeostasis. Low adropin levels associated with various pathological processes such as obesity, nephropathy, coronary atherosclerosis and myocard infarction. We aimed to investigate biochemical and morphological effects of systemic adropine administration on renal tissue in dibatic nephropathy. Diabetes was created through streptozotocin (STZ) injection intraperitoneally. 28 Wistar albino rats were divided into 4 groups: 1.Control (C), 2. Adropin (A), 3. Diabetes Mellitus (D), 4. Diabetes + Adropin (D+A). Diabetes groups received intraperitoneally a single dose of 65 mg/kg STZ. STZ solvent was applied on control and adropin groups. Adropin groups were treated with 450 nmol/kg adropine twice daily for 10 days intraperitoneally after 8 weeks from STZ injection. C and D groups were given %0.9 physiological serum two dose per day for 10 days intraperitoneally after 8 weeks. In next day following final injection, animals are sacrificed with drawing blood from heart under ketamin-ksilazin anesthesia condition. Total oxidant status (TOS), malondialdehyde (MDA), glutation (GSH), vascular endothelial growth factor (VEGF) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) levels, glomerular diameter, glomerular basement membrane thickening, collagen fiber density were measured in kidney tissue. We analyzed data using IBM SPSS Statics 22 software and $p<0,05$ was considered statistically significant. Increased levels of MDA, TOS ($p<0,05$), VEGF ($p<0,05$), TNF- α ($p<0,05$), collagen fiber density ($p<0,05$), glomerular diameter ($p<0,05$) and basement membrane thickness ($p<0,05$) were detected in diabetes group. Decreased MDA, VEGF ($p<0,05$) and TOS levels ($p<0,05$), collagen fiber density ($p<0,05$), glomerular diameter ($p<0,05$) and basement membrane thickness ($p<0,05$).

Science Code : 1023

Key Words : Adropin, Diabetic Nephropathy, Oxidative Stress

Page Number : 84

Supervisor : Prof. Dr. Çiğdem ÖZER

TEŞEKKÜR

Fizyoloji eğitimim süresince bilgileri, tecrübeleri ve problemlere çözüm odaklı yaklaşımları ile desteklerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Çiğdem Özer'e, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sibel Dinçer'e, değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Gonca AKBULUT ve Doç. Dr. Şevin GÜNEY'e, Uzm. Dr. Pelin ÖZDEMİR'e ve tez dönemimde desteklerini aldığım Fizyoloji, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalları'ndaki arkadaşlarıma ve hayatımın her döneminde yanımda olan değerli aileme teşekkürü borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Diabetes Mellitus	5
2.1.1. Diabetes mellitus'un tanımı	5
2.1.2. Diabetes mellitus'un tanısı ve tanı kriterleri	5
2.1.3. Diabetes mellitus'un sınıflandırılması ve hastalık oluşum mekanizmaları (Patofizyolojisi/Patogenezi).....	6
2.1.4. Diabetes mellitus'un komplikasyonları	15
2.2. Oksidatif Stres	19
2.2.1. Serbest radikaller.....	19
2.2.2. Serbest radikal aracılı toksisite	20
2.2.3. Antioksidan mekanizma.....	22
2.3. Diyabetik Nefropati	22
2.3.1. Patofizyoloji ve oksidatif stres.....	24
2.4. Adropin	26

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler, Solüsyonlar, Deney Hayvanları ve Laboratuvar Koşulları.....	29
3.1.1. Deney hayvanları ve laboratuvar koşulları.....	29
3.1.2. Kullandığımız cihazlar	29
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve solüsyonlar	30
3.1.4. Kullanılan kitler	30
3.2. Solüsyonların Hazırlanması.....	31
3.2.1. Sodyum sitrat tamponu.....	31
3.2.2. Streptozotosin solüsyonu	31
3.2.3. Adropin solüsyonu	31
3.3. Deney Protokolü	31
3.4. Böbrek Dokusunda Yapılan Biyokimyasal Analizler	33
3.4.1. GSH ölçümü	33
3.4.2. MDA ölçümü	33
3.4.3. Total oksidan düzeyi.....	34
3.5. Böbrek Dokusunun Mikroskopik Değerlendirilmesi	34
3.5.1. Hematoksilen-Eosin boyama yöntemi	34
3.5.2. Masson'un trikrom boyaması.....	34
3.5.3. Periyodik Asit Schiff (PAS) boyaması.....	35
3.8. İmmünohistokimyasal Yöntem.....	35
3.9. İstatistiksel Analizler	36
4. BULGULAR.....	37
4.1. Açlık Kan Şekeri Düzeyleri	37
4.2. Böbrek Dokusunda Oksidan Stres ve Antioksidan Parametre Bulguları	38
4.2.1. Total oksidan düzeyleri.....	38

4.2.2. MDA düzeyleri	39
4.2.3. GSH düzeyleri	40
4.3. Hematoksilen- Eozin Boyası Işık Mikroskobu Bulguları	40
4.4. Masson'un Trikrom Boyası Işık Mikroskobu Bulguları	48
4.5. Periyodik Asit Schiff (PAS) Boyası Işık Mikroskobu Bulguları	52
4.6. Böbrek Dokusunda İmmünohistokimyasal Bulgular.....	54
4.6.1. TNF- α düzeyleri	54
4.6.2. VEGF düzeyleri	56
4.7. Korelasyon Analizleri	57
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	67
EKLER.....	81
EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayı	82
ÖZGEÇMİŞ	84

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Amerikan Diyabet Derneğine göre DM tanı kriterleri	6
Çizelge 2.2. Etiyolojik sınıflama.	7
Çizelge 2.3. Diabetes mellitus komplikasyonları	16
Çizelge 2.4. Antioksidanlar ve etkileri.....	22
Çizelge 2.5. Diyabetik nefropati evrelendirmesi	23
Çizelge 2.6. Diyabetik nefropatide albuminüri değerleri ve klinik özellikler	23
Çizelge 3.1. Deney grupları.....	31

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. Plazma açlık kan glikoz düzeyleri	37
Şekil 4.2. Böbrek dokusu TOS değerleri.....	38
Şekil 4.3. Böbrek dokusu MDA değerleri	39
Şekil 4.4. Doku GSH düzeyleri	40
Şekil 4.5. Glomerüler çap	47
Şekil 4.6. Kollajen lif yoğunluğu	48
Şekil 4.7. Glomerüler bazal membran kalınlığı	52
Şekil 4.8. Doku TNF- α düzeyleri	54
Şekil 4.9. Doku VEGF düzeyleri	56

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda normal histolojik görünüm	41
Resim 4.2. Adropin grubu böbrek dokusunda normal histolojik görünüm	42
Resim 4.3. Diyabet grubu böbrek korteks ve medulla bölgeleri	43
Resim 4.4. Diyabet grubu böbrek korteks bölgesi dejeneratif değişiklikler	44
Resim 4.5. Diyabet grubu böbrek medulla bölgesi.....	45
Resim 4.6. D+A grubuna ait böbrek korteks ve medulla dokusu.....	46
Resim 4.7. K ve A gruplarına ait böbrek korteksi ve medullası	49
Resim 4.8. D grubu böbrek dokusu korteksi kollajen lif yoğunluğu ve fibrozis.	50
Resim 4.9. D+A grubu böbrek dokusu korteks ve medulla kollajen lif dağılımı.....	51
Resim 4.10. Deney grupları glomeruler bazal membran yapıları	53
Resim 4.11. TNF- α immunreaktivite görüntüleri	55
Resim 4.12. VEGF immünreaktivite görüntüleri	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrat derece
Cm	Santimetre
dl	Desilitre
g	Gram
km	Kilometre
m	Metre
mg	Miligram
M	Molar
ml	Mililitre
mmol	Milimol
m ²	Metrekare
ng	Nanogram
nmol	Nanomol
rpm	Devir/dakika
X	Yakınlaştırma katsayısı
µl	Mikrolitre
µmol	Mikromol

Kısaltmalar	Açıklamalar
A	Adropin
AGEs	Advanced Glycation End Products (İleri glikasyon son ürünleri)
AKŞ	Açlık Kan Şekeri
APG	Açlık Plazma Glikoz
CAT	Catalase (Katalaz)
CCL	Chemokine Ligand (Kemokin ligand)
CD	Cluster of Differentiation
D	Diyabet

Kısaltmalar**Açıklamalar**

D+A	Diyabet+Adropin
DM	Diabetes Mellitus
DAB	Diaminobenzidin
DN	Diyabetik Nefropati
DNA	Deoksiribonükleik Asit
Enho	Enerji Homeostazis İlişkili Gen
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ER	Endoplazmik Retikulum
FOXO1	Forkhead Box Protein 1
GAD	Glutamik Asit Dekarboksilaz
GBM	Glomerüler Bazal Membran
GDM	Gestasyonel Diabetes Mellitus
GLUT	Glikoz Taşıyıcı
GPR	G Protein Eşli Metabolik Reseptör
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon-s Transferaz
HbA1c	Hemoglobin A1c
HE	Hemotoksilen-Eosin
HLA	Human Leukocyte Antigen (İnsan Lökosit Antijen)
IAA	İnsülin Otoantikör
IFN	İnterferon
IGF	Insulin-like growth factor (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü)
IL	İnterlökin
IRS	İnsülin Reseptör Substrat
İP	İntraperitoneal
K	Kontrol
LADA	Latent Autoimmun Diabetes in Adults (Erişkinlerde Latent Otoimmün Diyabet)

MDA	Malondialdehit
MDA-5	Melanoma Differentiation Associated Protein 5
MHC	Major Histocompatibility Complex (Major Doku Uygunluk Kompleksi)
MODY	Maturity-Onset Diabetes of Young (Gençlerde Görülen Erişkin Tip Diyabet)
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NFκB	Nükleer Faktör κ B
OGTT	Oral Glikoz Tolerans Testi
PAS	Periyodik Asit Schiff
PAI	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
PGC	Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör
PAH	Periferel Arteryal Hastalık
RAS	Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistem
RIG-I	Retinoic Acid-Inducible Gene-1 (Retinoik Asit İndüklenebilir Gen-I)
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SDH	Sorbitol Dehidrogenaz
SOD	Süperoksit Dismutaz
STAT	Signal Transducer and Activator of Transcription 1
STZ	Streptozotosin
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TBM	Tübüler Bazal Membran
TCA	Trikloroasetikasit
TGF	Transforming Growth Factor
TLR	Toll-like Receptor
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
UDP-GlcNAc	Üridin Difosfat N-asetil Glikozamin
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VKİ	Vücut Kitle İndeksi

Kısaltmalar**Açıklamalar****VLDL**

Very Low Density Lipoproteins
(Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)

ZnT8

Çinko Taşıyıcı 8



1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM) kronik hiperglisemi ile karakterize, bozulmuş insülin sekresyonu ve/veya insülin direncinin neden olduğu metabolik bozuklukları ifade eden çatı terimdir. Tüm dünyada sağlık harcamalarında önemli bir yer tutan bu hastalığa sahip kişi sayısı her geçen yıl artmaktadır [1, 2].

DM'li hastalarda morbidite ve mortalitenin ana nedeni iki gruba ayırabileceğimiz vasküler komplikasyonlardır. Makrovasküler komplikasyonlar aterosklerozis, periferik vasküler hastalık ve koroner arter hastalığını içerirken mikrovasküler komplikasyonlara nefropati, nöropati ve retinopati dahil olur [3].

DM'nin en yaygın ve ciddi mikrovasküler komplikasyonları arasında yer alan nefropati yaklaşık %30-40 gibi yüksek bir insidansa sahiptir ve bu komplikasyona sahip kişilerin yaklaşık %50'sinde son dönem böbrek hastalığı gelişir. Ayrıca kronik böbrek hastalığı özellikleri gösteren tip 1 ve tip 2 DM'li hastaların yaklaşık %70'inde ilerleyen dönemlerde diyabetik nefropati (DN) gelişir [4].

DN, genetik yatkınlık, hiperglisemi, polyol yolak aktivasyonu, renin-anjiyotensin sistem aktivasyonu, protein kinaz C yolak aktivasyonu, artmış ileri glikasyon son ürünleri (AGEs), artmış reaktif oksijen türleri (ROS) ve artmış glomerüler filtrasyonu içeren birçok faktörün etkisiyle görülen patolojik değişiklikler sonucunda gelişir [5].

Hiperglisemi AGE oluşumuna ve glomerüler hipertrofiye neden olur. Glomerüllerde, hemodinamik değişikliklerinde etkisiyle, gerginlik ve sürtünme kuvvetini artırarak oksidatif stresi artıran ve inflamasyona neden olan sitokinlerin ve konnektif doku büyüme faktörlerinin sekresyonuna neden olur [5]. DN patogeneğinde tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar sitokinler, adhezyon molekülleri, enzimler ve insülin growth faktör (IGF), transforming growth factor (TGF- β) gibi büyüme faktörleri rol oynar [6].

İnflamatuvar sitokinlerden TNF- α seviyelerinde, diyabetik sıçanların böbreklerinde ve DN'li hastaların serum ve üriner konsantrasyonlarında artış meydana gelir [7, 8]. TNF- α inflamatuvar sitokin kaskatlarını ve vasküler geçirgenliği artırarak lokal inflamasyonu tetiklemenin yanısıra nükleer faktör κ B (NF κ B) aktivasyonuna neden olur. Glomerüler, mesengial, epitelial hücreler üzerinde sitotoksik özelliklere sahiptir ve renal hasara neden olabilir [9].

DN'de seviyeleri değişen faktörlerden bir diğeri; vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)' dir. VEGF endotel bağımlı vazodilatasyonda, artmış vasküler permeabilitede, endotelial hücrelerin; hayatta kalmasında, diferensiyasyonunda ve proliferasyonunda önemli bir role sahiptir. İnsanlarda DN'de VEGF seviyesi böbreklerde ana VEGF-A üreticileri olan podositlerin kaybıyla uyumlu olarak azalır. Bunun tersine kemirgenlerde VEGF-A seviyeleri artar. Bu farklılık iki türün böbrek fenotiplerindeki farklı özelliklerden kaynaklanır [10].

DN süreçlerinde yer alan birçok moleküler mekanizma ile oksidatif stres ilişkilidir. Hiperglisemi ve artan AGE nedeniyle oksidanlar lehine değişen antioksidan-oksidan arasındaki denge böbreklerde patolojik olayları tetikler [5]. Renal ve vasküler reaktif oksidatif türlerin ana kaynağı nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazdır [9]. NADPH'ın, reaksiyon basamaklarında yer aldığı polyol yolağının aktiflenmesi sonucu intrasellüler NADPH düzeylerinin azalması ile protein kinaz C ve oksidatif stres üretimi artarken antioksidan olan redükte glutatyon (GSH) seviyeleri, NADPH'ın glutatyon redüktaz kofaktörü olması nedeniyle azalır [11].

Diyabet ve oksidatif stres arasındaki ilişkiyi gösteren diğer bir biyobelirteç grubu, lipid peroksidasyon ürünleridir ve DM'de hücreler lipid peroksidasyonuna hassas bir hale gelir. Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan Malondialdehit (MDA), tiyobarbitürik asitle reaksiyona girdikten sonra lipid peroksitleri ölçmek için kullanılan önemli biyobelirteçlerden biri haline gelir [12].

Oksidanlara karşılık hücrelerde antioksidan savunma sistemini glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT), süperoksid dismutaz (SOD) gibi enzimatik antioksidanlar ve glutatyon (GSH), alfa lipoik asit, vitamin C ve E'yi içeren non-enzimatik antioksidanlar oluşturur [13].

Non-enzimatik antioksidanlardan GSH mitokondri, sitoplazma ve nükleusta bulunarak GPx, glutatyon -s transferaz (GST) kofaktörü olarak görev almakla birlikte vitamin C ve E gibi bazı antioksidanları aktif formlarına çevirir [13]. Diyabetik sıçanlarda serum ve renal korteks GSH seviyeleri azalır [14].

Endojen antidiyabetik özelliklere sahip bir diğer protein de enerji homeostasis-ilişkili (Enho) gen tarafından kodlanan, 76 amino asitli, karaciğer, beyin, kalp ve koroner arterde eksprese edilen bir peptid olan adropindir. İskelet kaslarında yağ oksidasyonunun yerine karbonhidrat oksidasyonunun tercih edilmesinde rolü vardır ve düşük plazma seviyeleri diyabet veya kardiyovasküler hastalıklara sahip kişilerde endotelial disfonksiyon ile yakından ilişkilidir [15, 16, 17].

Tüm bu patolojik değişiklikler sonucunda glomerüler bazal membranda (GBM), tübüler bazal membranda (TBM) ve mezengial dokuda kalınlaşma, afferent ve efferent arteriyollerde hiyalinizasyon, glomerülotübüler bileşke anormallikleri gibi morfolojik değişiklikler oluşur. Bu değişiklikler proteinüriye ilerleyen mikroalbuminüri ve glomerüler filtrasyon hızında azalma gibi fonksiyonel değişikliklerle sonuçlanır [18].

Değişen böbrek fonksiyonlarından bir diğeri de renin-anjiyotensin sistemidir (RAS). Hiperglisemi, AGE ve mekanik stres ile artan RAS aktivasyonu mezengial ve tübüler epitelial hücrelerde hipertrofi, podositlerde yapısal değişiklikler ve apoptozis, ROS'ta artış, intraglomerüler hipertansiyon, kapiller basınçta ve erken dönemde GFR'de artış gibi DN ile ilişkili değişikliklerin görülmesinde rol oynar [19, 20, 21].

Hayvanlar üzerinde yapılan deneyler uzun yıllardır hem diyabette görülen patolojik değişiklikler hakkında hem de yeni terapötik ajanların araştırılmasında geniş bir bilgi sağlamaktadır. Diyabet modeli oluşturmak için kullanılan ajanlardan biri GLUT2'ler aracılığı ile pankreatik β hücrelerinde toplanma eğiliminde olan, geniş spektrumlu antibiyotik ve anti-neoplastik özelliklere sahip, metil-nitrosoüre bölümünün DNA'yı alkillemesi sonucu toksik etki gösteren nitrozüre türevi STZ'dir [22, 23].

Literatürdeki bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda, diyabetin en sık komplikasyonlarından biri olan, yaşam kalitesini ve süresini azaltan, sağlık harcamalarını artıran DN'de adropinin sistemik uygulamasının böbrek dokusu

üzerine olan etkilerini histolojik (morfoloji), immünohistokimyasal (TNF- α ve VEGF) ve biyokimyasal (MDA, GSH ve TOS) değerlendirmeler ile incelemeyi amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1. Diabetes mellitus'un tanımı

DM pankreastan yeterli insülin üretilemediğinde ve/veya hedef dokuların üretilen insülini etkili bir şekilde kullanamaması nedeniyle oluşan, kronik hiperglisemi ile karakterize, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında değişikliklerin görüldüğü, devamlı tıbbi bakım gerektiren, bir grup kronik metabolik bozukluktur [1, 2].

DM'nin ayırıcı özelliği olan hiperglisemi kronik süreçte farklı organların uzun süreli hasarına, disfonksiyonuna ve yetmezliğine neden olur [24].

Diyabet ile ilişkili semptomlar poliüri, polidipsi, yorgunluk, bulanık görme, kilo kaybı, zayıf yara iyileşmesi, uyuşma, karıncalanmadır [25].

En yüksek yedinci ölüm nedeni olan DM'nin, dünya genelinde 2017 yılında 425 milyon kişiyi etkilediği bildirilmiştir ve 2045 yılında 629 milyon kişiyi etkileyeceği düşünülmektedir [26, 27]. Hasta sayısının her geçen yıl artışında sedanter yaşam ve düşük egzersiz düzeyleri, yüksek şeker ve yüksek kalori içeren beslenme alışkanlıkları ve genetik yatkınlık önemli rol oynar [28].

Uygun tedavi edilmeyen diyabet ciddi komplikasyonlar ile seyretmektedir. Bu komplikasyonlar, ketoasidoz, nonketotik hiperosmolar koma, mikroanjiyopatiler (retinopatiler, nöropatiler ve ya nefropatiler) ve makroanjiyopatiler (periferik vasküler hastalıklar, iskemik kardiyomyopati ve ya serebrovasküler arazlar) gibi damar hasarlarıdır. Komplikasyonlar mortaliteye neden olabilir [29].

2.1.2. Diabetes mellitus'un tanısı ve tanı kriterleri

Diyabet tanısında açlık plazma glukoz (APG) düzeyleri veya oral glikoz tolerans testiyle (OGTT) belirlenen plazma glikoz düzeyleri ve glikolize hemoglobin (HbA1c) düzeyleri değerlendirilir [30].

Çizelge 2.1. Amerikan Diyabet Derneğine göre DM tanı kriterleri [30,31].

	DM	Prediabet
APG	≥ 126 mg/dl	100-125 mg/dl
OGTT	≥ 200 mg/dl	140-199 mg/dl
Rastgele Plazma Glukoz	≥ 200 mg/dl+ Klasik hiperglisemi veya hiperglisemik kriz semptomları	
HbA1c	$\geq \%6.5$	$\%5.7$ - $\%6.4$

HbA1c glikolize olmuş hemoglobindir ve hastalarda $\%7$ 'den, normal kişilerde $\%6$ 'dan düşük seviyelerde tutulmalıdır. Test kişinin son 2-3 ayında ki glisemik durumu hakkında bilgi verir ve 2-3 aylık süre içerisinde yapılan testlerde HbA1c ile glukoz düzeyleri arasında ilişki vardır. Düşük HbA1c değerleri mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyon riskini azaltır [32]. Glisemik kontrolün bir işaretidir ve glisemik kontrolün akut izlenmesinden daha çok kronik kontrol için kullanılır. HbA1c stres, hastalık gibi süreçlerde daha az değişim göstermesi, açlık periyoduna gereksinim duyulmaması gibi avantajlara sahiptir ancak maliyetin yüksek olması, anemi, hemoglobin patolojilerinden etkilenmesi nedeniyle tanıda diğer testlerde ihtiyaç vardır [30].

OGTT minimum 8 saat açlık periyodundan sonra 75 g glikoz yüklemesi ile yapılır. Yüklemeden önce ve 2 saat sonra alınan kan örneklerinden plazma glikoz düzeyi belirlenir. OGTT yüksek analitik performansı ve standardizasyonu olmasına rağmen testten önce 8 saat açlık gerektirmesi ve yenilenebilir olmaması dezavantajlarıdır [33]. APG maliyetinin düşük olması ve kolay uygulanabilmesi klinikte daha çok APG tercihi nedeniyle olurken OGTT diyabet ve prediyabet değerlendirmesinde daha duyarlıdır [34].

2.1.3. Diabetes mellitus'un sınıflandırılması ve hastalık oluşum mekanizmaları (Patofizyolojisi/Patogenezi)

Diyabet vakalarını etiyolojik olarak Tip1, Tip 2, diğer spesifik tipler ve gestasyonel diyabet başlıkları altında 4 gruba ayırabiliriz. Ancak hastalık sürecinde kişisel büyük

farklılıklar görülür ve hastalar bazı durumlarda tek bir sınıfta kategorize edilemez [24, 35].

Çizelge 2.2. Etiyolojik sınıflama [24].

I.	Tip 1 diyabet: Mutlak insülin yokluğuna kadar ilerleyebilen β hücre yıkımı.
A.	İmmün aracılı
B.	İdiopatik
II.	Tip 2 diyabet: İnsülin direnci ve insülin defekti ile seyreder.
III.	Gestasyonel diyabet
IV.	Diğer spesifik tipler
A.	β hücre fonksiyonunda genetik defektler
B.	İnsülin etkinliğinde genetik defektler
C.	Ekzokrin pankreas hastalıkları
D.	Endokrinopatiler
E.	İlaç ve Kimyasal nedenli
F.	Enfeksiyonlar
G.	İmmün aracılı diyabetin diğer formları
H.	Diyabet ilişkili genetik semptomlar

Tip 1 diabetes mellitus

İnsülin bağımlı diyabet veya juvenil diyabet olarakta bilinen Tip 1 DM tüm diyabetlilerin %5-10' unu oluşturur ve gelişim nedeni çoğunlukla pankreatik β hücrelerinin immün yıkımı ile insülin sekresyonun bozulması sonucu gelişen insülinin mutlak yokluğudur ve insülin replasman tedavisi gereklidir [24, 28, 36, 37].

Tip 1 DM'de pankreatik β hücreleri uzun süreli otoimmün atağa maruz kalırken Langerhans adacıklarında komşuları olan α ve δ hücrelerine herhangi bir hedefleme gerçekleşmez ve Tip 1 DM'ye uzanan süreçlerin sonunda hastalık süresine bağlı olarak β hücrelerinin %60-100'ünün kaybı söz konusudur [38]. Otoimmün süreçler tanı konulmadan aylar ve çoğunlukla yıllar önce başlar ve bu spesifik otoantikörlerin varlığı ile sonraki yıllarda görülecek Tip 1 DM tahmin edilebilir [39].

Hastalık patogenezi ilişkili aktif otoantikora, β hücre yıkım düzeyine, disglisemiye ve hiperglisemi semptomlarına göre evrelere ayrılır. Evre 1 ve evre 2 presemptomatik

Tip 1 DM ve evre 3 semptomatik Tip 1 DM'dir. Evre 1'den itibaren otoantikor varlığı görülür ve β hücre kaybı başlar. Hiperglisemi evre 2'de başlarken evre 3'de bunlara ek olarak semptomlar görülür [40].

Langerhans adacıklarını hedefleyen otoantikor oluşumu T ve B hücreleri arasındaki etkileşimlere bağlıdır. Bu oluşum sürecindeki ilk basamaklar dentritik hücreler tarafından otoantijen sunumu ve otoantijen spesifik CD4+ and CD8+ T hücrelerinin cevaplarıdır [40]. Bu hücreler makrofajlar ile birlikte adacık ve çevrelerinde toplanmıştır ancak yıkıcı etkinlikleri yoktur [41]. β hücre yıkımına giden, özellikle insüline ve glutamat dekarboksilaza (GAD) karşı otoantikor oluşumuna neden olan otoimmün süreçleri tetikleyen faktörler hala tam olarak aydınlatılamamıştır [39, 41, 42]. Ancak hastalıkla ilişkili 50'den fazla genin varlığı belirlenmiştir. Bu predispozan genleri tetikleyen inek sütü, yağlar, buğday glütenu, soya ürünleri, çay, kahve, vitamin defisitleri, N-nitroso bileşikleri ve diğer toksinlerin oluşturduğu çevresel faktörlerin, özellikle bir virüs enfeksiyonunun, pankreatik β hücrelerine otoimmün saldırıyı başlattığı düşünülmektedir [38, 40, 41].

Yaş ve genetik farklılıklara bağlı olarak görülen ve ilk tespit edilen antikorlar genellikle insülini veya glutamik asit dekarboksilaz 2 (GAD65) 'yi hedefler. Çoğunlukla HLA-DR4-DQ8 haplotipli çocuklarda görülen insülin otoantikoru (IAA) nadiren 6 aydan önce görülmekle birlikte 1-2 yaşlarında en yüksek seviyelerde görülür. 1 yaşından önce çevresel faktörlere maruziyetler insülin otoantikorunun etiyolojisinde yer alır. HLA-DR3-DQ2 haplotipe sahip çocuklarda görülürken etiyolojisinde birçok faktör rol oynar [40, 43]. Doğumdan sonra genellikle ilk otoantikor olarak IAA'ya rastlanırken çocukluk veya genç yetişkinlik gibi ileri yaşlarda ise ilk otoantikor olarak GAD65 otoantikoru görülür [44].

Tip 1 DM ile ilişkili, bu iki otoantikordan sonra gelişen, protein tirozin fosfotaz benzeri moleküller IA-2, IA2 β ve çinko transporter 8 (ZnT8) antikorları da tanımlanmıştır [40, 43]. Bu major islet antikorlarının ortak özelliği sekretuar yolla bulunmalarıdır. Herbiri β hücrelerinin metabolizmasında ve devamlılığında rol oynarken sekretuar yolla farklı görevlere sahiptir [45]. 2 veya daha fazlasının görüldüğü çocukların ilk dekatta klinik olarak Tip 1 DM geliştirme riski %70 iken, 20 yıldan fazla takip edildiğinde hastalık geliştirme riski %100'e yakındır [44]. Bu listeye sonradan

tetraspanin 7'ye ve GAD65'in %76 homoloğu olan ve daha az otoantijenite özelliği gösteren GAD67'ye karşı gelişen otoantikörler eklenmiştir [43, 46].

Tip 1 DM'de otoimmün atağın bir tezahürü olarak ortaya çıkan inflamasyon, doku hasarı, enfeksiyon, doku stresi, hücrelerin ve dokuların işlev bozukluğu gibi nedenlerle ortaya çıkarak iyileşmenin ilk başmaklarını oluşturup enfeksiyonun, hücre hasarının önlenmesinde ve iyileştirilmesinde, doku bütünlüğünün sağlanmasında ve korunmasında önemli görevler üstlenir. Ancak inflamatuvar moleküllere hatalı cevapların oluşturulması ve inflamasyonun kronik süreçte dokudan uzaklaştırılamaması, bir takım patolojik olaylar ile tip 1 diyabet gibi kronik inflamatuvar ve immünolojik hastalıkların riskini artırır [47, 48].

Otoimmün ve inflamatuvar hücrelerin varlığı ile karakterize pankreatik adacık inflamasyonu olarak tanımlanan insülitiste inflamasyon en az 3 adacığı içerir ve bir islette 15 veya daha fazla sayıda CD45+ hücresi mevcuttur. İnsülitis β hücrelerinin varlığında artarken, azalan β hücreleri ile birlikte azalır [47, 49].

İnsülitis otoantijenlere ve/veya bu otoantijenlerle moleküler benzerliği olan epitoplara sahip virüslerin T hücrelerini aktiflemesi ile gelişir ve lokalizasyonuna bağlı olarak iki şekilde isimlendirilir [47]. İntra-insülitis islet parankiminde bulunurken, dominant form olan peri-insülitis genellikle isletin bir kutbunda lokal olarak bulunup islet periferi ile temastadır [39].

İnsülitis makrofajları, dentritik hücreleri ve daha çok sayıda sitotoksik CD8⁺ T hücreleri varlığı ile karakterize olarak T ve B lenfositlerini içerir [39, 40]. β hücre yıkımının başlaması makrofajlar aracılığı ile gerçekleşir [50]. Makrofajlar antijen sunucu özelliğinden (dentritik hücreler ile birlikte) ve aktive olduklarında reaktif nitrojen türlerini, serbest oksijen radikallerini ve interferon (IFN)- α , IFN- β , IFN- γ , IL-1 β 'yı içeren proinflamatuvar sitokinleri salgılamalarından dolayı hem adacık β hücrelerine hasar verirken hemde inflamasyonda yer alan diğer hücreleri aktive eder [41, 50].

CD8⁺ T hücrelerinin, viral enfeksiyonlarla da ilişkili olarak islet β hücrelerinde aşırı eksprese edilen human lökosit antijen I (HLA-I) moleküllerini tanınması ve hastalığın

ilerleyen zamanları ile birlikte bu hücrelerin artmış antijen spesifitesi insülitis ve hastalık patogenezinin kronik sürecini açıklar [39].

İnsülitis ile ilişkili moleküler değişiklere adacıklara lenfosit göçünü artıran hyaluronan ve katepsin artışı da eşlik eder [39].

B lenfositlerinin varlığı ise hastalık şiddeti ile ilişkilidir. Adacıkta fazla sayıda CD20 B lenfosit varlığının, düşük sayılara sahip bireylerle karşılaştırıldığında, şiddetli otoimmüniteyle uyumlu olarak azalmış yaş ortalaması ve daha az sayıda insülin içeren adacığa neden olduğu gösterilmiştir [51].

Coxavirus B5 enfeksiyonu gibi viral tetikleyiciler, otoantijenlerin varlığı, IFN- α , IFN- γ , interlökin-1 β , pankreatik adacıklarda toll-like reseptör (TLR) 3, melanoma differentiation-associated protein 5 (MDA-5) ve retinoik asit-indüklenebilir gen-I (RIG-I) ekspresyonunu artırır. Ayrıca virüsler tarafından üretilen çift iplikli RNA (dsRNA) TLR3, RIG-I ve MDA-5 aktivasyonu aracılığı ile inflamatuvar sitokin, kemokin üretimini ve β hücre apoptozisini tetikler. Üretilen kemokin ve sitokinler majör histocompatibility complex-I (MHC-I) antijen ekspresyonunu artırır. Tüm bu değişiklikler immün hücrelerin adacıklara göçünü ve aktivasyonunu tetikleyerek proinflamatuvar sitokin salgılanmasına (IL-1 β , TNF, IFN γ) neden olur. NF κ B ve STAT-1 transkripsiyon faktörleri aracılığıyla da sitokinler tarafından β hücre ölümü tetiklenir. Viral enfeksiyonun ortadan kaldırılmasına rağmen genetik olarak yatkın kişilerde otoantijenlerin varlığının devam etmesi ile inflamasyon kronik ve patolojik bir sürece girerek β hücre kaybının devam etmesine neden olur [47].

Yetişkin başlangıçlı olması ve insülin sekresyonun yavaş kaybı ile karakterize olan yetişkinde latent otoimmün diyabet (LADA)'de Tip 1 DM sınıfında yer alır [37, 52]. LADA tip 2 diyabetten pankreatik otoantikörlerin, özellikle Tip 1 DM'nin öngörülmesinde iyi bir işaret olan glutamik asit dekarboksilaz (GAD) otoantikoru varlığı ve kalıcılığı ile ayırt edilir [53].

Tip 1 DM'nin bir diğer formu heterogenez non-immün insülin defisiti olarak tanımlanan idiopatik diyabettir. β hücre otoimmünite belirteçleri görülmez ve HLA

(insan lökosit antijen) ilişkili değildir. Ketoasidoza yatkınlık ile kalıcı insülopeni görülür. Yaşamın sürdürülmesi için insülin replasman tedavisi gereklidir [24, 54].

Tip 2 diabetes mellitus

İnsülin bağımsız diabetes mellitus veya yetişkin başlangıçlı diyabet olarakta bilinen Tip 2 DM diyabetlilerin %90-95'ini oluşturur ve oluşan insülin direncine karşılık yetersiz kompensatuvar insülin salınımı cevabından kaynaklanır [24, 28, 36]. Bu sınıfta hiperglisemi çeşitli hedef dokularda fonksiyonel ve patolojik değişikliklere neden olabilecek düzeydeyken, diyabet tanısı almadan önce klinik semptomlar olmadan uzun bir süre geçebilir. Bu asemptomatik periyot sırasında oral glikoz yüklemesi veya açlık plazma glikoz seviyesi ölçümü ile veya HbA1C ölçümü ile karbonhidrat metabolizmasında ki anormallikler gösterilebilir [24].

Genetik bir hastalık olan Tip 2 DM 50'den fazla gen bölgesi ile ilişkilidir [53, 55]. Tip 2 DM patofizyolojisine katılan genler insülin üretimi, sekresyonu, hedef hücrede ki reseptörü ve yollarındaki proteinleri kodlayan farklı genlerdir ve defektleri sonucu gelişen insülin üretiminde, insülinin hedef hücrelerde ki etkisi üzerinde ve bunların sonucunda metabolizmada görülen patolojik değişiklikler insülin direnci ve defisiti tablosuna neden olur [53].

Tip 2 diyabet gelişiminde iskelet kasları, adipoz doku, beyin, ince bağırsak, böbrekler, karaciğer ve pankreasta α ve β hücreleri yer alır ve tanıda β hücrelerinin yarısına kadar kaybı görülebilir [56].

Kan glukoz düzeylerini fizyolojik aralıklarda tutmak için insülin direncine karşılık artmış β hücre fonksiyonu ortaya çıkar. Buna rağmen açlık ve glikoz yüklemesinden 2 saat sonra hafif derecede artmış kan glukoz düzeyleri görülür. Zamanla glikoz toksisitesi, insülinin kullanılamaması nedeniyle metabolizmanın yağ kullanımına kaymasıyla trigliseritlerin portal veni kullanarak pankreasa ulaşması sonucu gelişen lipotoksiste ve amiloid birikimi ile oksidatif ve endoplazmik retikulum stresi ve mitokondrial disfonksiyonlar aracılığı ile β hücre hasarı, fonksiyon bozukluğu ve kaybı görülür [53, 55, 57, 58]. Ayrıca apoptozis, dediferensiyasyon ve transdiferansiyasyon gibi faktörlerde görülür [59, 60].

Tüm bu değişikliklerin yanısıra hiperglisemi tablosuna, β hücre kaybı ile birlikte ortaya çıkan α hücrelerinden glukagon sekresyonunda artış ve insülin salgılayan hücrelerin bihormonal fonksiyon göstererek glukagon salgılaması neden olur [60, 61]

Hiperglisemik koşullarda β hücrelerinde artan ROS seviyelerinin yanısıra CAT, GPx ve SOD gibi antioksidan enzim seviyelerindeki azalma nedeniyle apoptozis ve azalmış insülin sekresyonu görülür. Ayrıca glikoz varlığında serbest yağ asit oksidasyonunun β hücrelerinde baskılanması nedeniyle uzun zincirli açıl koenzim A birikimi hem apoptozisi tetikler hemde potasyum kanallarını açarak ve ATP üretimini azaltarak insülin sekresyonunu baskılar [57].

Tip 2 diyabette pulsatif insülin sekresyon paterninin bozulması hücre içinde devamlı yüksek düzeyde kalsiyum varlığından kaynaklanır. Hücre içi yüksek kalsiyum düzeyi hem apoptozisi tetikler hem de kalsiyumun intrasellüler konsantrasyonlarındaki fizyolojik dalgalanmalarının bozulmasına neden olarak kalsiyuma bağlı insülin sekresyon paterninin değişimine neden olur [62].

β hücreleri tip 2 diyabette hücresel özelliklerini kaybeder, daha az farklılaşır ve prekürsör benzeri durumlarda görülür. Artmış glisemik seviyeler altında β hücrelerinde insülini ve GLUT'ları kodlayan genlerde dahil olmak üzere birçok gen ekspresyonu değişir [63].

Tip 2 diyabette beta hücre disfonksiyonlarına katkı sağlayan bir diğer faktör adacıklarda makrofaj ve lenfosit infiltrasyonu ile karakterize inflamasyon varlığıdır. Makrofaj varlığı azalmış insülin ekspresyonu, β hücrelerinde oksidatif stres aracılı DNA hasarı ve amiloid birikimi ile ilişkilidir. Tip 2 DM'de adacıklarda TNF- α , IL-11, IL-8, IL-1 β , kemokin C-C motif ligand (CCL) -2, CCL-11 ve CCL-13 sitokin ve kemokin seviyeleri yüksektir [64, 65].

Amiloid polipeptid insülin sekresyonu ile birlikte ekstrasellüler alana geçer. Ekstrasellüler alanda insülin sekresyonunun artışı nedeniyle ortaya çıkan amiloid birikimi insülin ve glukagon sekresyonunun inhibisyonu ve β hücre kaybı ile ilişkilidir [57, 66]. Amiloid birikimi endoplazmik retikulum (ER) stresini, inflamasyonu, özellikle

Ca^{+2} 'ye karşı olmak üzere membran permeabilitesini artırır ve mitokondri hasarı ile ROS üretiminin artmasına ve adenosin trifosfat (ATP) depolarının boşalmasına kadar patolojik süreçlerde yer alır [66].

Tip 2 diyabetin bir diğer özelliği olan insülin direnci genetik faktörler ve ana etken obezite olmak üzere yaş, egzersiz düzeyi, beslenme alışkanlıkları ve ilaçlar gibi çevresel faktörlerin etkisiyle gelişir. Obezite ve vücut yağ dağılımı açısından santral obezite periferik obeziteye göre daha güçlü bir insülin direnci nedenidir [67]. İnsülin direnci insülin reseptörlerinde, glukoz transporterlarında, sinyal proteinlerinde mutasyonlar, insülin reseptörlerinin posttranslasyonel modifikasyonlarında patolojik değişiklikler, insülin reseptör substratın (IRS), insülin reseptör sayısının ve katalitik etkisinin azalması ile karakterizedir [58].

Karaciğerde insülin etkisinin azalması glukoneogenesiste yer alan enzimlerin artışına sebep olan FOXO1 transkripsiyon faktörünün insülin aracılı inhibisyonundan kurtularak aktive olmasına ve glukoneogenezin artmasına neden olur. Glukoneogenez artışı açlık hiperglisemisini açıklayan en önemli faktörlerden biridir. Buna ek olarak kasta azalan GLUT4 reseptör sayısı sonucu glikoz kullanımı azalır [68, 69].

Obezite ile birlikte adipoz dokuda lipoliz artar. Lipoliz artışı adipokin ve lipokin sekresyonlarında değişikliklere, adipoz inflamasyonuna ve yağ asitlerinin serbestlenmesi sonucu karaciğer, iskelet kası gibi insüline cevap veren organlarda birikerek lipotoksisteye neden olurken, dokularda obezite ile artan trigliseritlerde insülin duyarlılığını azaltarak insülin direncinin ortaya çıkışında patolojik bir etken olarak yer alır [70].

Adipositler tarafından salgılanan leptin ve adiponektin seviyeleri de insülin direnci ile ilişkilidir. Artan trigliserit Glut 4 translokasyonunu ve hücre içine glikoz alımını engelleyerek insülin direncine neden olur. Adiponektin tip 2 diyabete yatkınlığı gösterilmiş kromozom 3q27'de bulunan Adipo Q geni tarafından kodlanır. Karaciğer ve kasta yağ asitlerinin yakımını artırarak trigliserit miktarını azaltır. Obezite ile adiponektin miktarı azalırken artan adiponektin seviyesi ile kilo kaybı artar. Leptin

ise vücut ağırlığını azaltır, yağ oksidasyonunu ve insülin duyarlılığını artırır. Düşük leptin seviyeleri hiperglisemi, hiperinsülinemi ve insülin direnci ile ilişkilidir [71, 72].

Obezite ile yağ dokudan tümör nekrozis faktör- α , plazminojen aktivatör-1 ve IL-6 gibi salgılanan sitokin seviyeleri değişir ve bu değişim steatozis, karaciğerden çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) sekresyonunun ve lipolizisin artması ile sonuçlanarak hem lokal hemde sistemik etki oluşturur [73].

İnsülin direncine neden olan bir diğer faktörde kanda yüksek glikoz değerlerini düşürmek için ortaya çıkmış hiperinsülinemi durumunun kendisidir. Hiperinsülinemik koşullarda kas lifine yüksek seviyelerde glikoz alınması ve yıkılması sonucu oluşan laktat seviyelerindeki artış karaciğere lipogenesis için daha fazla substrat sağlar. Bunun yanı sıra hiperglisemik koşullarda obezite ve aşırı beslenme ile artan serbest yağ asitleri ve diğer substratlarda insülini artırarak bu patolojik döngüye neden olurlar. Ayrıca yüksek insülin varlığı hedef dokularda inflamasyon oluşturarak insülin direncine katkı sağlar [69].

Gestasyonel diabetes mellitus

Hamileliklerin %1-14'ünde görülme oranı ile hamileliğin en yaygın metabolik bozukluğu olan gestasyonel diabetes mellitus (GDM) daha önce diyabet tanısı almayan kadınların hamileliklerinin ikinci ve üçüncü trimesterinde gelişen anormal kan glikoz seviyeleri ile seyreden, glikoz intolerans tipi olarak tanımlanır [5, 74, 75].

Hamilelik sürecinde annenin glukoz metabolizmasında meydana gelen değişiklikler çevresel ve genetik faktörlerin etkisiyle kompanse edilemediğinde insülin direnci ve eksikliği meydana gelir. Feto-plasental unit ve yüksek seviyede human plasental laktojen, plasenta kaynaklı human growth faktör hormon, progesteron, kortizol, prolaktin ve diğer birçok hormonun etkisiyle artan glikoz kullanımı ve periferel dokularda insülin duyarlılığında azalma meydana gelir. Kompansasyon hepatik glukoneogenesis ve lipolizde artış ile gerçekleştirilir [16]. Uygun kompansasyon gerçekleştirilemediğinde görülen hiperglisemi, adipoz dokuda artış, inflamasyon, oksidatif stres, glukoneogenesis ve plasental faktörler GDM oluşumuna neden olan patolojik süreçlere katılır [76].

Fetal makrozomi, annede diyabet ve obeziteyi de içeren çocukta ve annede metabolik bozukluklar, preeklampsi, sezeryan endikasyonu, perinatal mortalitede artış, omuz distosisi, brakial pleksus yaralanmaları, neonatal polistemi ve ölü doğum gestasyonel diyabet ile ilişkili problemlerdir [77, 78].

Diyabetin diğer formları

Diyabetin daha az bilinen ve monogenik diabetes sendromlarının bir diğer yaygın formu diyabet vakalarının %1-2'sini oluşturduğu tahmin edilen MODY (gençlerde görülen erişkin tipi diyabet veya İngilizcesi maturity onset diabetes of young)'dir ve tipik olarak otoimmünite veya insülin direncinden yoksundur [24, 79, 80]. MODY etiyolojisi ilaçlar, organ nakli, yaralanma, genetik veya genetik olmayan hastalıklar ve gen mutasyonunu içerir. Yetişkin başlangıçlı diyabete benzemekle birlikte tanı çoğunlukla çocuklukta konulur. Hastalık genç yaşlarda başlar (tipik olarak 25 yaş altı) ve insülin bağımlı değildir. Monogenik diyabetlerin en iyi bilinen formu olan bu gruba neonatal diyabet hastalarının (6 aydan önce tanı alan) çoğu dahil edilir ve bazı gestasyonel diyabet vakalarının nedeni de MODY mutasyonlarıdır [80, 81].

Bu mutasyonların sonucunda beta hücre disfonksiyonu ile yükselmiş kan glikoz düzeyi görülür [81]. Değişen pankreatik beta hücre fonksiyonu başlangıçta insülinin glikoz ile uyarılan azalmış sekresyonu nedeniyle [80]. Mody ile ilişkili olan en az 13 gen olduğu bildirilmiştir ve MODY'nin genetik tipleri farklı nedenler ve farklı klinik özelliklere sahiptir [82].

MODY'ye neden olan mutasyonlara ek olarak diğer β hücre genetik defektleri, insülinin hedef dokularında görülen ve insülin etkinliği ile ilişkili genetik defektler, ekzokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler, enfeksiyonlar, Tip 1 DM'ye neden olan süreçlere ek olarak diğer bazı immün reaksiyonlar ve hastalıklar, bazı genetik sendromlar ve bazı ilaçlar ve kimyasallar diyabete neden olur [24].

2.1.4. Diabetes mellitus'un komplikasyonları

Diyabetik komplikasyonlar akut ve kronik komplikasyonlar başlıkları altında ele alınabilir (Çizelge 2.3). Akut komplikasyonlar, hipoglisemi ve hipergliseminin neden

olduğu ketoasidoz ve komadır. Kronik komplikasyonlar da küçük kan damarlarının hasarından kaynaklanan mikrovasküler ve arterlerin hasarından kaynaklanan makrovasküler komplikasyonlar olarak iki gruba ayrılır. Mikrovasküler komplikasyonlar nöropati, nefropati, retinopatiji içerirken makrovasküler komplikasyonlar periferik vasküler hastalıklar, iskemik kardiyomyopati veya serebrovasküler arazlarla sonuçlanan kardiyovasküler hastalıkları içerir [29, 83].

Çizelge 2.3. Diabetes mellitus komplikasyonları

I.	Akut Komplikasyonlar
1.	Ketoasidoz
2.	Koma
II.	Kronik Komplikasyonlar
A.	Mikrovasküler komplikasyonlar
1.	Nefropati
2.	Retinopati
3.	Nöropati
	Otonomik nöropati
	Servikal ve lumbosakral radikülopleksus nöropati
	Nöropatik cachexia
	Toraksik radikülopati
	Akut diyabetik mononöropatiler
B.	Makrovasküler komplikasyonlar
1.	PVH
2.	İskemik kardiyomyopati
3.	Serebrovasküler hastalıklarla sonuçlanan kardiyovasküler hastalıklar

Diyabetik ketoasidoz insülin eksikliği, enfeksiyon, ilaçlar ve diğer bazı fizyolojik stresörler nedeniyle gelişebilir. Glikozun kullanılamaması sonucu enerji metabolizmasının devamlılığı için lipaz aktivite artışı keton ve ketonik asitler gibi asidik ürünlerin birikimine neden olur. Glikojen ve proteininde glikoz üretimi için yıkılması ile birlikte tüm bu faktörler hipergliseminin şiddetlenmesine ve dehidratasyon, metabolik asidoz ve hiperosmolar durumla sonuçlanan ozmotik diürece neden olur [84, 85].

Hipoglisemi 70 mg/dl plazma glukoz düzeyi ve altı olarak tanımlanır ve diyabette hayatı tehdit eden ciddi semptomlara neden olabilir. Hipoglisemi sırasında sempatik aktivitenin artması sonucu gelişen aterosklerotik plak stabilitesinin bozulması, aritmi, kardiyak ve serebral iskeminin yanı sıra duyu durum bozuklukları, hafıza zayıflıkları, terleme, sinirlilik, açlık hissi gibi semptomlara neden olur. 50 mg/dl

altında ki plazma glukoz seviyeleri de bilişsel bozulma, yorgunluk, sinirlilik, görme kaybı, koma ve nöbetlerle sonuçlanabilmektedir [86].

Diyabette görülen kapiller bazal membran kalınlaşması ve endotelyal hiperplazi gibi vasküler değişiklikler, hiperglisemi ve hiperlipidemi nedeniyle gelişen hipoksi sonucunda ortaya çıkan diyabetik nöropati diyabetli hastaların yarısından fazlasını etkiler ve bir veya daha fazla ekstremitenin amputasyonuna kadar ilerleyen klinik tabloya neden olabilir. Diabetik nöropati sinir sisteminin çeşitli bölgeleri ve seviyelerinde görülebilir [83, 87].

Diabetik nöropatinin bir formu olan diabetik otonomik nöropati istirahat taşikardisi, postural hipotansiyon, aritmi, gastroparezi, diare, kabızlık, gustatuvar terleme, kuru cilt, erektil disfonksiyon, retrograd ejakülasyon, atonik mesane, anormal renal sodyum tutulumu, pupil disfonksiyonu ve bronkokonstrüksiyonu içeren otonomik değişikliklerle ortaya çıkar [88].

Asimetrik tutulum gösteren ve 50 yaş üstü erkelerde görülen diyabetik lumbosakral radikülopleksus nöropati birden fazla seviyede tutulumla seyreder. Lumbal bölgede unilateral ağrı, kalça ve uyluk kaslarında zayıflık görülürken, bu motor tutulum ayak bileği dorsifleksör kaslarını da etkileyerek düşük ayak sendromuna neden olabilir. Diz ve ayak bileği reflekslerinde kayıp mevcuttur. Servikal bölgede de görülebilen tutulum lumbal bölge ve alt ekstremitte tutulumundan sonra görülür [87].

Diyabetik nöropatik kaşeksi ağırlı bilateral simetrik periferik nöropatidir ve şiddetli kilo kaybı ile emosyonel bozukluklar tabloya eşlik eder [89].

Diyabetik torasik radikülopati abdominalde ve göğüste bir patoloji varlığını düşündürür ve gövde, göğüs ve abdominal duvarda şiddetli ağrı ve disestezi ile karakterizedir [90].

İnsülin seviyelerindeki değişiklikler, hızlı kilo kaybı ve tedaviye alışma süreçleri gibi diyabetin geçiş dönemlerinde görülen akut diyabetik mononöropatilerde okulomotor, fasiyal ve troklear sinir tutulumlarını içeren kranial nöropatiyi, median, femoral, peroneal sinirler gibi periferik sinirleri etkileyen nöropatileri içerir [90].

Diyabetik inflamatuvar nöropatilerin en yaygın formu otoimmün kaynaklı kronik inflamatuvar demyelinizan polinöropatidir. Sinir kökleri, pleksuslar, periferel sinir gövdelerini etkiler. Dört ekstremitede simetrik proksimal ve distal kas zayıflığı, büyük duyuusal sinir liflerinde duyuusal kayıp ve reflekslerde kayıp görülür [91].

Diyabetin bir diğerkomplikasyonu mikrovaskülerden daha çok nörovasküler bir hastalık olan retinopatidir. Diyabetin retinayı etkilemesinin nedeni retinanın metabolik aktivitesidir. Yüksek vasküler desteğı olan dış tabakadan daha çok beslenmesi zayıf iç retina ve nöronlarını etkiler [92]. Nöronal apoptozis artışı ve nöroretinal destek hücrelerinin metabolizmasında değışimler görülür [93]. Kontrast duyarlılık, multifokal elektoretinogram, tritan renk kusurları ve anormal koyu adaptasyondaki bazı fonksiyonel anormallikler, diyabetik retinopatiye giden süreç ve diyabetik retinopati ile ilişkilidir [92].

Vasküler değışikler arteryal ve venül dilatasyonu, kapiller bazal membran kalınlaşmasını, neovaskülerizasyonu, hemoraji, kan-retina bariyerinde hasarı, ödem ve sızıntıyı içerir [93].

Patolojik değışikliklerle sonuçlanan biyokimyasal süreçlerde renin anjiyotensin sistemin artmış aktivasyonu, protein kinaz C aktivasyonu, eritropoietin gibi VEGF'ten bağımsız neovaskülerizasyona neden olan faktörler ve VEGF artışı, oksidatif stres, inflamasyon, AGEs ve sorbitol artışı rol oynar [93].

Makrovasküler komplikasyonlar ise serebrovasküler arazlar, iskemik kardiyomyopati ve periferel arterial hastalıkları (PAD) içerir [29, 94].

Periferel arterial hastalık (PAH) aterosklerozun bir sonucudur ve özellikle alt ekstremitelerin aterosklerotik oklüzyonu görülür. Yaş, hastalık süresi ve periferel nöropati varlığı diyabetli hastalarda PAH görülme riskini artırır. Diyabette PAH anatomik olarak femoral-popliteal, tibial, peroneal arterleri tutar ve iskemik ülser ve arterial trombozisin neden olduğı ani iskemi ile ilişkilidir. Nöropatinin eşlik etmesi sonucu ağrı hissinde kayıp yaşanabilmektedir. PAH ve DM birlikteliğı alt ekstremitel amputasyonlarının yüksek riski ile ilişkilidir [94, 95].

Diyabette hedef organlardan bir diğeri kalptir. İlişkili kalp patolojileri iskemik kardiyomyopati ve koroner arter hastalığı ve hipertansiyon olmadan gelişen diyabetik kardiyomyopatidir. Diyabetik kardiyomyopatide fibrozis, myokardiyal sertlik, sol ventrikül kütesinde ve duvar kalınlığında artışı içeren hipertrofi, bozulmuş diastolik ve sistolik fonksiyon, apoptotik ve nekrotik hücre kaybı görülür [29, 96].

Diyabet inme, geçici iskemik atak, inme ilişkili demans görülme riskini artırır [97]. Diyabette özellikle hipergliseminin ve hipertansiyonun varlığı nedeniyle intraserebral hemoraj, akut iskemik inme, transient iskemik atak, anevrizmal subaraknoid hemoraj ve serebral venöz sinüs trombozu dahil olmak üzere inme'nin tüm tipleri görülebilir [98].

2.2. Oksidatif Stres

2.2.1.Serbest radikaller

Oksidan stres göstergesi olan ve kontrolsüz üretimi birçok patolojik durum ile ilişkili olan, elektron transferi veya homolizis, heterolizis süreçlerinde kovalent bağların kırılmasıyla metabolizmada intrinsik olarak oluşturulan serbest radikaller elektronlar ile eşleşmemiş atomlar, iyonlar, moleküller olarak tanımlanır ve diğer moleküller ile reaksiyona girme eğilimindedirler. Serbest radikaller fagositoz süreçlerinde, mitokondride oksidatif fosforilizasyon sırasında, kataliz oksidazların girdiği reaksiyonlarda, endoplazmik retikulumda moleküllerin işlenmesi sırasında, metal varlığında oksitlenmiş indirgenme reaksiyonlarında ve eikonasonidlerin sentezi sırasında üretilirler [99]. İnflamatuar süreçlerde üretimi artmakla birlikte, normal koşullarda soluduğumuz oksijenin yaklaşık %20'si serbest radikal oluşumuna katılır [100].

Serbest radikaller ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak iki grup altında incelenir. Süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil ($\cdot OH$), peroksil radikalleri ($ROO\cdot$), singlet oksijen (1O_2), ozon (O_3) ve alkoksil ($RO\cdot$) yaygın ROS'lar arasındadır. ROS üretimine plazma membranına bağlı NADPH oksidaz (NOX), mikrozomal sitokrom P450 (CYP) ve sitoplazmik ksantin oksidaz dahil birçok enzim katılır [101].

Süperoksit radikali $^3\text{O}_2$ 'nin univalent redüksiyonu ile oluşur. Bu sürece NAD(P)H oksidaz ve ksantin oksidaz gibi enzimler katılırken redoks reaktif bileşikler ile enzimatik olmayan yollarla da üretilirler. Oluşan $\text{O}_2^{\cdot-}$, SOD aracılığı ile H_2O_2 'ye dönüştürülür. H_2O_2 ise ya indirgenmiş metal varlığında yüksek reaktif $^{\cdot}\text{OH}$ radikaline dönüştürülür ya da GPx veya CAT enzimleri aracılığıyla suya dönüştürür [102].

RNS'ler ise nitrik oksit (NO) sentaz aktivasyonu sonucu NO oluşumu ve NO'nun $\text{O}_2^{\cdot-}$ ile reaksiyonu ile oluşur. NO'nun $\text{O}_2^{\cdot-}$ ile reaksiyonu peroksinitrit (ONOO^-) moleküllerini oluşturur ve ONOO^- diğer moleküller ile reaksiyona girerek nitrojen dioksit (NO_2) ve dinitrojen trioksit (N_2O_3) moleküllerini oluşturur [102]. Peroksinin protonlanmış formu olan ONOOH güçlü bir oksidan ajandır. Hidroksil radikaline benzer şekilde etki yapar ve sülfhidril gruplarının tükenmesi sonucu biyomoleküllerin oksidatif hasarına neden olur [101].

2.2.2. Serbest radikal aracılı toksisite

Kontrollü bir şekilde üretilen ROS'lar seçici olarak biyolojik moleküllerle reaksiyona girerken kontrolsüz ROS üretimi sonucu düzensiz reaksiyonlar meydana gelir. ROS'ların lipidler, proteinler ve nükleik asitler ile kontrolsüz reaksiyonları nörodejeneratif hastalıklar, nefropatiyi de içeren diyabet komplikasyonları, alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması, ateroskleroz, kanser gibi birçok patolojik süreç ve hastalık ile ilişkilidir [5, 103].

Oksidatif stres organizmada ROS ve RNS üretiminin antioksidatif kapasitesini aşması ve/veya antioksidatif kapasitenin azalması sonucu oksidanların uzaklaştırılamaması ile açıklanır. ROS'lar patojenlere karşı hücre savunmada önemli bir role sahiptir ve küçük bir miktarı gen ekspresyon süreçleri, hücre proliferasyonu ve apoptozis gibi süreçlerde sinyal molekülleri olarak görev alır [101].

Serbest radikaller lipidleri, proteinleri, DNA'yı ve RNA'yı hedef alır. Farklı maddelerin oksidasyonuna, oksidasyon ürünlerinin protein, lipidler, DNA dahil olmak üzere makromoleküllere kovalent bağlanmasına, hücre içi sinyal yollarının aktivitelerinde değişikliklere ve hücre ölümüne neden olurlar [104].

Protein Oksidasyonu

Redoks duyarlı proteinler oksidanlar ile yüksek reaktivite özelliğine sahip tiyol grupları içerirler. Bazı proteinler ise metiyonin kalıntılarında okside edilirler. Tiyollerin oksidasyonu çoğunlukla intramoleküler veya intermoleküler disülfür bağlarının oluşumuna daha nadir durumlarda ise sülfenilamit, sülfenik asit ve sülfonik asit oluşumuna yol açar [105]. Ayrıca aminoasitlerin modifikasyonu sonucunda karboniller (yani aldehitler ve ketonlar) ve hidroksillerin oluşumu, histidin veya triptofan kalıntılarında kopmalar görülebilir [104].

Oksidatif stres varlığında proteinler şeker ve lipid oksidasyon yan ürünleri (protein karbonilasyonu) olan reaktif karbonil türleriyle genellikle sistein, histidin, lizin ve arjinin kalıntıları olmak üzere nükleofilik amino asitler ile kovalent bağlar oluşturması sonucunda birçok hastalığın patolojik süreçlerinde yer alan ve oksidatif hasar belirteci olan ileri glikasyon son ürünleri (AGEs) ve lipoksidasyon son ürünlerini (ALEs) oluştururlar (ALEs) [106].

Lipid oksidasyonu

Membran fosfolipidleri ve LDL'de bulunan trigliseritler yüksek serbest radikal duyarlılığına sahiptir. Bir hidrojen atomunun metilen grubundan ayrılması sonucu karbon merkezli bir radikal oluşur. Bu reaksiyonlar oksijenin yüksek konsantrasyonlarında peroksil radikalinin oluşmasıyla sonuçlanır. Peroksil radikalleri de fosfolipid veya trigliserit bağlantılı yağ asitleri ile reaksiyona girerek karbon merkezli yeni radikalleri ve siklik endoperoksit, siklik peroksit ve aldehitleri (4-hidroksi-2-nonenal (HNE) ve MDA'yı da içeren) oluşturan lipid hidroperoksitleri oluşturur. ROS'ların lipidler ile bu reaksiyonları lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır [107]. Serbest radikal aracılı oksidasyon kolesterol esterleri, fosfolipidler ve trigliseritlerdeki çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFAs) hedef alır [108].

Lipid peroksidasyon ürünleri proteinler ile etkileşimlerinde sonucunda hücre dağılımlarının ve konformasyonlarının değişmesine, matrikste dejeneratif değişikliklere, ateroskleroze, özellikle aldehitlerin yüksek difüzyon özellikleri

nedeniyle doku hasarlarının geniş alanlara yayılmasına, kansere kadar ilerleyebilen DNA hasarlarına, inflamasyon ve katalitik aktivite artışına neden olur [107-111]

2.2.3. Antioksidan mekanizma

Oksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından nötralize edilir. Glutaredoksinler, heme-oksijenaz 1, tioredoksinler ve peroksiroksinlerin de katıldığı enzimatik antioksidan mekanizmanın ana komponentlerini SOD, CAT, GPx ve GR oluşturur. GSH, ürik asit, vitamin C, E, albümin, β karoten, tripeptit l- γ -glutamil-l-sisteinil-l-glisin, α lipoik asit ve albümin enzimatik olmayan antioksidanlardır. Triptofan, metiyonin, histidin, lizin, sistein, arjinin, tirozin aminoasitleri ve selenyum, manganez ve çinko'da antioksidan özellikler gösterir [13, 100, 112].

Çizelge 2.4. Antioksidanlar ve etkileri [13]

	Hücrede Bulunduğu Yer	Etki
SOD	Sitoplazma, mitokondri, nükleus	Süperoksit radikalının suya çevrilmesi
GR	Sitoplazma, mitokondri, nükleus	Glutasyon disülfidin glutatyona dönüşmesi
GPx	Sitoplazma, mitokondri, nükleus	H ₂ O ₂ ve lipid peroksidasyonun detoksifikasyonu
CAT	Peroksizom	H ₂ O ₂ detoksifikasyonu
GSH	Sitoplazma, mitokondri, nükleus	GPx ve GST kofaktörü Vitamin C ve E aktivasyonu
Vitamin C	Sitozol	Lipid peroksidasyonunun inhibisyonu
Vitamin E	Membran	Singlet oksijen, peroksil ve süperoksit radikallerinin uzaklaştırılması, membran lipid peroksidasyonunun engellenmesi
α -lipoik asit	Sitoplazma ve hücre membranı	Artmış Glutasyon ve vitamin C seviyeleri

2.3. Diyabetik Nefropati

Böbreklerin hemodinamik ve metabolik değişikliklere duyarlı olması nedeniyle diyabetin hedeflediği bir diğer organ böbreklerdir [113]. Tip 1 ve tip 2 diyabetli hastaların %20-40'ı diyabetik nefropatiyi (DN) deneyimler [111].

Erken dönemde diyabetik nefropati tanı ve tedavisinin gerçekleşmemesi mortalite ve morbiditeyi artırır [11]. Diyabetik nefropati tanısı albüminüri ve böbrek fonksiyonlarının ilerleyici kaybının varlığında konulur ve son dönem böbrek hastalığına kadar ilerler. Mogensen ve arkadaşları DN sürecini 5 evreye ayırır (çizelge 2.5) [114].

Çizelge 2.5. Diyabetik nefropati evrelendirmesi

Evre	Glomerüler filtrasyon hızı (GFH) (eGFH) (ml/dk/1.73 m ²)	Üriner Albumin (mg/g Cr) veya Protein (g/g Cr)
1-prenefropati	≥ 30	<30 Normoalbuminüri
2-nefropati başlangıcı	≥ 30	(30-299) mikroalbuminüri
3-ileri düzey nefropati	≥ 30	Makroalbuminüri (≥ 300) veya kalıcı proteinüri (≤ 0.5)
4-böbrek yetmezliği	<30	Herhangi bir albuminüri veya proteinüri
5-diyaliz safhası		Devamlı diyaliz tedavisi

eGFR değerleri: normal 90 mL/dk/1.73 m² ve üzeri [115]

Amerikan Diyabet Derneği albuminüri temelinde diyabetik nefropatinin klinik özelliklerini açıklamıştır (çizelge 2.6) [116].

Çizelge 2.6. Diyabetik nefropatide albuminüri değerleri ve klinik özellikler

	Albuminüri değerleri	Klinik özellikler
Mikroalbuminüri	20-199 µg/dk	Gece kan basıncında anormal düşme ve artmış kan basıncı
	30-299 mg/24 sa.	Trigliserit, LDL, total kolesterol ve doymuş yağ seviyelerinde artış
	0-299 mg/g*	Metabolik sendrom patolojilerinin artmış frekansı, endotelial disfonksiyon, diyabetik retinopati, kardiyovasküler hastalık, artmış kardiyovasküler mortalite, stabil GFR
Makroalbuminüri	≥ 200 µg/dk	Hipertansiyon
	≥ 300 µg/24 sa	Trigliserit, LDL ve total kolesterol seviyelerinde artış
	≥ 300 µg/g*	Asemptomatik miyokardiyal iskemi, GFR'de ilerleyici azalma

* Spot idrar örneği

2.3.1. Patofizyoloji ve oksidatif stres

DN, hiperglisemi nedeniyle gelişen glikasyon son ürünlerinde ve özellikle oksidatif streste artış başta olmak üzere, hemodinamik cevaplarda değişiklikler (renin-anjiyotensin-aldosteron ve ürotensin sistem), inflamatuvar ve profibrötik sitokinlerin artışı ile gelişir [113].

Patofizyolojik olaylar AGEs artışı, polyol, heksozamin, protein kinaz C yollarının aktivasyonunu, serbest radikal ve sitokin oluşumunu içerir. AGEs, reseptörleri aracılığıyla ve ekstrasellüler matriksin bazal membranları üzerindeki etkileri ile vasküler komplikasyonların patolojik süreçlerine dahil olur. Artan AGEs ROS ve RNS üretimini artırır, artan ROS ve RNS'de AGEs'lerin üretimini artırır. AGEs laminin, vitronektin, lipidler, kollajen, elastin gibi ekstrasellüler matriks proteinleri ile etkileşime girerek matriks yapısını ve dağılımını bozarak glomeruloskleroze kadar uzanan olaylarda rol oynar [110]. AGEs ve proteinlerin etkileşimi ekstrasellüler matrikste protein birikiminin yanı sıra matriks-matriks ve matriks-hücre etkileşimlerini de bozarak organ fonksiyon kayıplarına neden olur [111].

AGEs tarafından modifiye edilmiş plazma proteinleri AGE reseptörleri aracılığı ile çeşitli dokular ve vasküler endotelial hücreler, vasküler düz kas hücreleri ve makrofajlar gibi hücrelerde ROS üretimini, NF- κ B ve p21 aktivasyonunu artırarak etki gösterir [117].

AGE reseptörleri böbreklerde endotelial hücreler ve podositler dahil olmak üzere hemen hemen her hücre grubu tarafından eksprese edilir. AGE reseptörlerinin aktivasyonu glutatyon seviyelerini de içeren birçok antioksidan enzim seviyelerinde azalmaya ve NADPH oksidaz, nitrik oksit sentaz (NOS), siklooksijenaz düzeylerinde artışa neden olur [111].

Temel olarak iki enzim sistemine sahip polyol yolağında NADPH kofaktörünün yardımıyla aldoz redüktaz glikozu sorbitole çevirir. Diğer enzimi olan sorbitol dehidrogenaz (SDH), kofaktörü NAD⁺ ile birlikte sorbitolü fruktoza çevirir. Bu enzim sisteminin aktiflenmesi intrasellüler NADPH konsantrasyonunu azaltarak oksidatif stres ve protein kinaz C'yi aktive eder. NADPH okside glutatyonu redükte glutatyon

çeviren glutatyon redüktazın kofaktörü olması nedeniyle antioksidan sistem üzerinde pozitif bir etkiye sahiptir. Sorbitol kendisinde miyoinozitol alımını ve metabolizmasını azaltır ve hücresel ozmotik süreçlerde negatif etkilere sahiptir. Ayrıca bu süreçler sırasında iki glikasyon ajanı fruktoz-3-fosfat ve deoksiglukozon üretiminde görülür. Artan intrasellüler glikoz AGEs üretimini artırır. Tüm bu sonuçlar oksidatif stresi ve DNA hasarını artırarak hücre ölümüne giden süreçleri tetikler [11].

Diyabette protein kinaz C aktivasyonu hücre proliferasyonu, diferensiyasyon, hücre ölümü ve hücre döngüsünde değişikliklere neden olur. Vasküler endotelial growth faktör (VEGF), plazminojen aktivatör inhibitörü 1 (PAI-1), transforming growth beta-1 (TGF β -1), NADPH oksidaz oluşumunu içerir ve NF κ B.aktivasyonu ile DN ve renal hasar oluşumunda rol oynar [118].

Glikozun, fizyolojik seviyelerde, çok küçük bir miktarı heksozamin yolağında metabolize edilir ve son ürün uridin difosfat N-asetilglikozamindir (UDP-GlcNAc). İntrasellüler glikoz seviyelerinde artış bu yolak aktivasyonunu da artırmaktadır. UDP-GlcNAc hedef proteinlerin O-linked N-asetilglikozamin modifikasyonlarına neden olur. Artan diğer bir üründe fruktoz-6-fosfattan dönüştürülen glikozamin-6-fosfattır. Bu iki ürünün artışı bir dizi reaksiyon sonunda PAI-1 (vasküler endotelial hücreler, düz kas hücreleri ve mezengiyal hücrelerde), TGF- β 1 artışına ve endotelial nitrik oksit aktivitesinin azalmasına neden olmaktadır [119].

Hiperglisemi ve AGE'ler, ROS ve böbreğe özgü G protein eşli metabolik reseptör (GPR91) aracılığı ile renin-anjiyotensin-aldesteron sistem (RAAS) aktivasyonunu artırır [120]. RAAS aktivasyonu ile anjiyotensin II'nin artışı renal arteriyollerde konstrüksiyona ve bunun sonucunda renal ve periferel direnç artışına, proteinüri ile sonuçlanan glomerüler kapiller basınçta artışa, NADPH oksidaz yolak aktivasyonu ile endotelial disfonksiyona neden olan ROS artışına, mitojen aktive protein kinaz ve ya protein kinaz C yolakları ile mezengial hücre proliferasyonuna, NF κ B aktivasyonu ile proinflamatuvar yolakların aktivasyonuna ve profibrotik süreçlerin tetiklenmesine neden olur [121].

Tüm bu patolojik değişikliklerden podositler, endotelial hücreler, interstisyel fibroblastlar, tübüler epitelyal hücreler etkilenir. Mikroskopik bulgularda GBM ve

TBM'da kalınlaşma, mezengial genişleme ve Kimmelstein-Wilson nodülleri görülür ve azalmış glomerüler filtrasyon hızı, ilerleyici albuminüri, yüksek arterial kan basıncı ve vücut sıvı artışı ile sonuçlanır [113, 122, 123]. Podositlerde de yapısal değişiklikler ve ROS, AGEs ve anjiyotensin II'nin artması sonucu apoptozis görülür [124].

2.4. Adropin

Adropin iki latin kelimenin birleşmesinden oluşmuş bir isimdir. Ateşe vermek, yakmak anlamlarına gelen "aduro" ve yağları ifade eden "pinquis" kelimelerinden oluşur [17].

Adropin enerji homeostazis ilişkili gen tarafından kodlanan (Enho), pankreas, karaciğer, kalp, böbrek, koroner arter ve beyin de üretilen, insülin duyarlılığında, enerji homeostazisinde, obezitede, endotel fonksiyonlarında görev alan, kapiller yoğunluğu, anjiyogenezisi, kan akımını artıran ve 76 aminoasit içeren bir proteindir. mg/ıslak doku ağırlığı olarak değerlendirildiğinde adropin en çok pankreasta olmak üzere sırasıyla karaciğer, böbrek, kalp, beyin ve serebellar dokuda bulunur. Adropin immünreaktivitesi merkezi sinir sistemi nöronlarında, beyinde vasküler alanlar, nöroglial hücreler, purkinje hücreleri ve pia materde, karaciğer sinüzoidal hücrelerinde, pankreas asinüslerinde ve böbreklerde glomerulus, peritübüler interstisyel hücreler ve peritübüler kapiller endotel hücrelerde gösterilmiştir [16, 17, 125].

Yüksek plazma adropin seviyeleri insülin direncini, glukoz intoleransını azaltır, lipogenesi düzenler ve anti hepatoatozistik etki gösterir [125].

Farelerde yapılan deneylerde adropinin sistemik uygulamasının veya transgenik overekspresyonunun glukoz intoleransını ve insülin direncini azalttığı, intramusküler enjeksiyonun eNOS ve VEGFR2 seviyelerini ve neovaskülerizasyonu artırdığı gösterilmiştir. Adropin human umbilikal ven endotelial hücrelerde proliferasyonu, migrasyonu, kapiller benzeri tüp oluşumunu artırır, TNF- α 'nın neden olduğu apoptozisi engeller, NO salınımını artırır, VEGFR2 aktivasyonuna neden olur, eNOS aktivitesini artırır, endotelial bariyer fonksiyonunu korur [126].

Adropin diyabet, koroner aterosklerozis, alkole bağı olmayan karaciğer yağlanması, myokard infarktüsü, GDM, metabolik sendrom ve polikistik over sendromu gibi birçok hastalık ve patolojizyolojik durum ile ilişkilidir [127, 128].

Adropin sıvı dengesinin, enerji homeostazının ve kardiyovasküler regülasyonun düzenlenmesinde önemli bir otonom merkez olan paraventriküler çekirdek nöronlarında eksitabiliteye neden olur [127].

Adropin knockout farelerde artmış adiposite, insülin direnci, yüksek açlık trigliserit ve NAD⁺ seviyeleri, karaciğer steatozisi gösterilmiştir [129]. Adropin knockout farelerde ve diyetle indüklenen obez farelerde adropin uygulaması glikoz klirensini, hiperinsülinemi ve kas insülini etkisini arttırdığı ve adropin overekspresyonunun NAD⁺ seviyelerini artırdığı gösterilmiştir [130,131].

Obez kişilerin düşük adropin seviyelerine sahip olduğu ve bu durumun insülin direnci ve dislipidemi ile ilişkili olduğu bulundu. Hemodiyaliz hastalarında yüksek metabolik sendrom, yüksek insülin direnci, dislipidemiden de etkilenen düşük adropin seviyeleri ve serum yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol seviyelerinin adropin ile pozitif korelasyonu gösterilmiştir [129].

Baka ve ark. yaptığı intrauterin büyüme geriliği olan çocuklara sahip anneler, ileri yaşlarda hamile olanlar ve uygun yaşlarda hamile olanlar olarak üç gruba ayırdıkları 80 hamile kadın ile yaptıkları çalışmada kız çocukları annelerinin daha yüksek adropin seviyelerine sahip olduğu ve artan doğum ağırlıkları ile adropin seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir [125].

Plazma adropin seviyeleri beslenme, yağ alımı, fruktoz tüketimi ve Roux-en-Y gastrik bypassı takip eden 3. ve 6. aylarda artarken sigara kullanımı, glukoz tüketimi ve açlık ile azalmıştır. Zayıf ve diyetle indüklenen obez fare modellerinde adropin yağ oksidasyonunu azaltıp glukoz oksidasyonunu artırdığı gözlenmiştir [129, 130, 131].

Adropin iskelet kasıda dahil olmak üzere metabolizmada lipid kullanımı aleyhine değişiklik oluşturarak glukoz yakımını artırıp lipid oksidasyonunu azaltır ve kasta

peroksizom proliferator-activated reseptör- γ coativator-1 α (PGC-1 α)'yı inhibe eder. PGC-1 α yağ asidi ve glikoz oksidasyonu ile ilişkili Cpt1b ve Pdk4 genlerini etkiler [17, 131].

Zang ve ark. yaptığı çalışmada Tip 2 DM ve obezitenin adropin seviyesini azalttığını göstermiştir. Literatürde obezite ile karaciğerde azalan adropin transkriptleri veya serum seviyelerinin, belirgin insülin direnci ve hepatik steatoziste dahil olmak üzere metabolik homeostazın bozulmasına neden olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, adropinin transgenik aşırı ekspresyonu veya adropin tedavisi, sadece diyet ile indüklenen obez farelerde değil, aynı zamanda streptozotosin ile indüklenen tip 2 diyabetik sıçanlarda glikoz kullanımını arttırdığı, hiperinsülinemiye ve hepatik steatozisin azalmasına neden olduğu gösterilmiştir [128].

Bizde adropinin çalışmalarda gösterilen antilipidemik, antihiperglisemik etkilerini ve azalmış adropin seviyeleri ile hastalıkların ilişkisini dikkate alarak STZ ile oluşturulan sıçan diyabet modelinde gelişen diyabetik nefropati (DN)'de sistemik adropin uygulamasının böbrek dokusu üzerine biyokimyasal, morfolojik ve immünohistokimyasal etkilerini incelemeyi amaçladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın in vivo deneyleri Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'unun G.Ü.ET 18.064 kod numaralı izni ile Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi' nde (GÜDAM) ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.1. Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler, Solüsyonlar, Deney Hayvanları ve Laboratuvar Koşulları

3.1.1. Deney hayvanları ve laboratuvar koşulları

Çalışmamızda laboratuvar şartlarına uygun olmaları ve nefropati çalışmalarında tercih edilmeleri nedeniyle, GÜDAM'dan temin edilen, 28 adet, erişkin, erkek, 200±30 gram ağırlığında Wistar Albino sıçan kullanıldı.

Sıçanlar her bir kafeste 5 veya 4 denek olacak şekilde 12 saat aydınlık-karanlık döngüsünde, 24 ± 2 °C'lik ortamda, musluk suyu ve standart sıçan yemi ile serbest olarak beslendi.

3.1.2. Kullandığımız cihazlar

- Elektronik hassas tartı (Sartorius Basic, Almanya)
- Vorteks (Nüve NM 110-020488 Türkiye)
- Santrifüj (MPW-350, Polonya)
- Manyetik karıştırıcı
- Mikropipet (Gilson, Amerika, çeşitli hacimlerde)
- Su Banyosu
- BioTek ELx 800 Bioelisa Reader
- Derin dondurucu -80 °C (Sanyo, Japonya)
- pH metre (Eutech instruments, Singapur)
- Homojenizatör (Heidolph SilentCrusher M, Almanya)
- Sonikatör (Sonics, ABD)

- Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)
- Sıvı azot tankı (İnternational cryogenics Inc. IC 10 R)
- LifeChek compact TD-4283 Glukometre
- Leica DM 4000B (Germany)

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve solüsyonlar

- Trikloroasetik asit (TCA, Merck)
- Bütil hidroksi tolueen (BHT, Sigma)
- Tiyobarbütirik asit (TBA, Sigma)
- Disodyum hidrojenfosfat (Na_2HPO_4)
- DTNB (5',5'- Dithiobis 2-Nitrobenzoic acid)
- Streptozotosin (Sigma)
- Adropin (Phoneix pharmaceuticals INC)
- Etil Alkol (Kimetsan, Türkiye)
- Trisodyum sitrat 5,5 hidrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$, Merck)
- %0.9 Serum Fizyolojik
- PBS (Fosfat tamponlu salin)
- Hematoksilen Weigert A
- Hematoksilen Weigert B
- Ponceau Fuchsin Solüsyonu
- Fosfotungustik Asit Solüsyonu
- Ksilol
- Entellan
- Sitrat buffer (pH 6.0, Lab vision, Fremont, USA)
- Hidrojen Peroksit
- Serum Blok Solüsyonu

3.1.4. Kullanılan kitler

- Total Oksidan Seviye (TOS) Deney Kiti (Rel Assay Diagnostics, Türkiye)
- Masson Trichrome Stain Kit (Light Green, Atom Scientific Ltd, Cheshire, UK)

3.2. Solüsyonların Hazırlanması

3.2.1. Sodyum sitrat tamponu

Hassas terazide 2,94 g trisodyum sitrat dihidrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) tartılarak, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve HCl eklenerek pH 4,5 olarak ayarlandı.

3.2.2. Streptozotosin solüsyonu

Hazırladığımız 0,1 M'lık sodyum sitrat tamponunda (pH: 4.5), miktarı 65 mg/1 ml olarak ayarlanan STZ çözdürüldü.

3.2.3. Adropin solüsyonu

Adropin solüsyonu, adropinin %0.9 SF'de çözdürülmesi ile 450nmol/kg'lık dozlarda hazırlanmıştır.

3.3. Deney Protokolü

Sıçanlar raslantısal olarak dört gruba ayrıldı.

Çizelge 3.1. Deney grupları

	Hayvan Sayısı (n)	STZ çözücüsü	STZ	Adropin Çözücüsü	Adropin
Kontrol Grubu	7	✓		✓	
Adropin Grubu	7	✓			✓
Diyabet Grubu	7		✓	✓	
Diyabet+Adropin Grubu	7		✓		✓

Diyabet oluşumu: Diyabet modeli oluşturulacak deneklere ip olarak tek doz 65mg/kg streptozotosin (STZ) enjekte edildi [132]. STZ uygulamasından 72 saat sonra 8 saatlik açlık periyodunu takiben hayvanların açlık kan şekeri (AKŞ) değerleri ölçüldü ve 250mg/dl üzeri olanlar diyabet grubuna alındı. Diyabet oluşumundan sonra,

diyabetin stabilizasyonu için 2 hafta beklendi. Bu süreçte hayvanların AKŞ'leri ölçülerek kontrol edildi.

Diyabetik nefropati oluşumu: Çalışmalarda tek doz intraperitoneal STZ enjeksiyonu ile diyabetin indüklenmesinden 6 hafta sonra DN geliştiği gösterilmiştir [133, 134].

1. Kontrol grubu (K): Bu gruptaki sıçanlara tek doz ve intraperitoneal (ip) olarak 1 ml STZ çözücüsü enjeksiyonu yapıldı. 72 saat sonra, 8 saatlik açlık periyodunu takiben, AKŞ seviyeleri ölçüldü. Enjeksiyondan 8 hafta sonra günde 2 defa %0.9 Serum Fizyolojik (SF) (adropin çözücüsü) 10 gün süre ile ip olarak enjekte edildi.

2. Adropin grubu (A): Bu gruptaki hayvanlara tek doz ve ip olarak 1 ml STZ çözücüsü enjekte edildi. 8 haftalık süreden sonra günde 2 kez, 10 gün boyunca ip, %0.9 SF'de çözünen 450 nmol/ kg dozluk adropin tedavisi uygulandı [135, 136].

3. Diyabet grubu (D): Hayvanlara tek doz ip olarak 0.1 molar (pH: 4.5) sodyum sitrat tamponunda çözünen 65 mg/kg STZ uygulandı ve 72 saatin ardından AKŞ seviyeleri ölçüldü. 2 hafta diyabet stabilizasyonu için beklenildikten sonra 250 mg/dl üzeri AKŞ düzeyine sahip olan hayvanlar diyabet olarak kabul edildi. Diyabet olduğu tespit edilen hayvanlara STZ uygulamasından sonra 8 hafta süresince herhangi bir uygulama yapılmadı. Bu sürenin sonunda ip olarak 10 gün boyunca, günde 2 defa, adropin çözücüsü (%0.9 SF) uygulandı.

4. Diyabet + Adropin grubu (D+A): Bu gruptaki hayvanlara tek doz, ip, 0.1 Molar (pH: 4.5) sodyum sitrat tamponunda çözünen 65 mg/kg STZ uygulandı. 2 haftalık bekleme süresinin sonunda 250 mg/dl üzeri AKŞ seviyelerine sahip hayvanlar diyabet olarak kabul edildi ve STZ enjeksiyonundan sonra herhangi bir uygulama yapılmayan 8 haftalık sürecin sonunda 10 gün boyunca günde 2 defa, ip olarak % 0.9 salinde çözünen 450nmol/ kg dozda adropin uygulaması yapıldı.

Deneyin sonlandırılması: Son enjeksiyon uygulamasından 1 gün sonra denekler, AKŞ seviyeleri ve beden ağırlıkları ölçüldükten sonra ketamin-ksilazin anestezi altında intrakardiyak kan alınarak feda edildi. Feda işleminden hemen sonra

deneklerin sağ böbrekleri ve renal arterleri histopatolojik incelemeler için formaline alındı. Sol böbrek dokusu fizyolojik incelemeler için -80°C 'de muhafaza edildi.

Deney süresince ölçülen parametreler:

- Vücut ağırlıklarının tespiti (çalışmanın başında ve sonunda).
- Kan şekeri düzeyi STZ öncesi (1. ölçüm), STZ uygulamasından 72 saat sonra (2. ölçüm), adropin uygulamasından önce (3.ölçüm) ve denekler feda edilmeden önce (4. ölçüm), glukometre (LifeChek compact TD-4283) kullanılarak, 8 saatlik açlığı takiben, kuyruk veninden kan alınarak ölçüldü.

3.4. Böbrek Dokusunda Yapılan Biyokimyasal Analizler

3.4.1. GSH ölçümü

GSH ölçümü modifiye Ellman yöntemi kullanılarak yapıldı. Tartılan böbrek doku örnekleri sonikatör ile TCA eklenerek homojenize edildikten sonra 4000 rpm'de, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar yeniden 4000 rpm'de 8 dk santrifüj edildi. 4 hacim 0,3 M Na_2HPO_4 ve 100 ml %1 'lik sodyum sitratta çözünen 40 mg DTNB'den 1/2 hacime karşılık, böbrek doku örneklerinden elde edilen süpernatantlardan 1 hacim eklenerek vorteksle karıştırıldı ve oda sıcaklığında 5-10 dk. bekletildikten sonra 412 nm dalga boyunda elisa cihazı ile ölçüldü. GSH $13,600\text{ mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ katsayısı kullanılarak $\mu\text{mol/gr}$ doku olarak ifade edildi [137].

3.4.2. MDA ölçümü

MDA ölçümü tiyobarbitürik asit reaksiyon modeli uygulanarak yapıldı. Süpernatantlar GSH ölçümünde anlatıldığı gibi elde edildi. 750 μl süpernatana sırasıyla 10 μl %1'lik BHT ve 750 μl . TBA eklendikten sonra 15 dakika kaynayan su banyosunda bekletildi. Daha sonra oda ısısına kadar soğuması beklendikten sonra 535 nm'de elisa cihazı ile distile suya karşı okundu. MDA seviyeleri nmol/ gram doku olarak ifade edildi [138].

3.4.3. Total oksidan düzeyi

Tartılan doku örnekleri, ağırlığının ml cinsinden 9 katı miktarında PBS eklenerek 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi. Total oksidan düzeyleri TOS Deney Kiti (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) ile ölçüldü ve sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ cinsinden verildi.

3.5. Böbrek Dokusunun Mikroskopik Değerlendirilmesi

3.5.1. Hematoksilen-Eosin boyama yöntemi

Deney gruplarına ait böbrek dokuları %10'luk nötral formaldehitte tespit edilerek, rutin histolojik takip yöntemlerinden geçirildi. Parafin bloklardan mikrotom ile 4 μm kalınlığında kesitler alınarak deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra lamlar sırasıyla dereceleri azalan alkol serilerinden geçirildi (%100, %96, %90, %80, %70, %50) ve kurutuldu. 10 dakika akar suda yıkandıktan sonra, Harris Hematoksilen boya solüsyonunda 10 dakika boyandı. Kesitler boyanma sonrası 10 dakika akar suda yıkandı. Asit-alkol karışımına batırılıp tekrar 10 dakika akar suda yıkamaya alındı. Kesitler yıkamanın ardından 10 dakika Eosin' de bekletilip, 10 dakika daha akar suda yıkanarak artan dereceli alkol serilerinden (%50, %70, %80, %96, %100) geçirildi. Ksilole alınan kesitler daha sonra entellan ile kapatıldı. Leica DM 4000B (Germany) görüntülü analiz sisteminde incelenerek elde edilen görüntüler, Leica LAS 4.9v programında değerlendirildi.

3.5.2. Masson'un trikrom boyaması

Deney gruplarına ait 4 μm kalınlığındaki böbrek kesitler deparafinizasyon işleminin ardından, 2 kez 3 dakika %100'lük etil alkolden ve sonrasında sırasıyla %90, %80, %70 ve %50 azalan etil alkol serilerinden geçirildi. Boyamaya hazır hale getirilen kesitler için Masson Trichrome Stain Kit (Light Green) Masson 1929 (Kod: RRSK20 100, Atom Scientific Ltd, Cheshire, UK) kiti kullanıldı. Haematoxylin Weigert's A ve Haematoxylin Weigert's B solüsyonları eşit oranda karıştırılarak Weigert Hematoksilen karışımı hazırlandı. Kesitler suda yıkandıktan sonra, Weigert'in Demirli Hematoksilen solüsyonu ile 20 dakika boyandı. Hızlıca yıkanan kesitler

%1'lik asit alkol solüsyonunda farklılaştırılarak Ponceau Fuchsin solüsyonunda 5 dakika boyandı. Sonrasında distile su ile yıkanan kesitler %1' lik fosfotungustik asit solüsyonu ile toplamda 15 dakika olmak üzere 2 kez mordantlaştırıldı. Ardından light green solüsyonu ile 5 dk boyanan kesitler yıkamaya alınarak, artan alkol serilerinden geçirildi ve ksilol sonrasında entellan ile kapatıldı. Gruplar arasında böbrek kollajen lif yoğunluğunu belirlemek için yapılan boyama sonucunda nükleuslar mavi-siyah; sitoplazma kırmızı ve kollajen lifler yeşil olarak izlendi. Deney gruplarına ait böbrek kesitlerindeki, kollajen lif yoğunluğunu gösteren yeşil alanların tüm alan içerisindeki yüzdesi ImageJ programı (Java-based software program, National Institutes of Health) ile değerlendirildi.

3.5.3. Periyodik Asit Schiff (PAS) boyaması

Kesitlerin deparafinizasyon işleminin ardından %100, %96, %80 ve %70' lik alkol serilerinde 3 dakika bekletildi. Ardından distile suda yıkanan kesitler periyodik asit solüsyonunda 20 dakika bekletildi. Akar suda 10 dakika yıkanan kesitler oda sıcaklığında karanlık ortamda, Schiff reaktifi ile 25 dakika muamele edildi. Kesitler daha sonra karanlık ortamda +4 °C' de sodyum metabisüfit ile 2x5 dakika bekletildi. Ardından 15 dakika akar suda yıkandı. Tekrar distile su ile yıkanan kesitlerin Hematoksilen ile çekirdek boyaması gerçekleştirildi ve boyamanın ardından 10 dk akar suda yıkandı. Seri şekilde distile sudan geçirilen kesitler %96' lık alkolden geçirilerek ksilole alındı. Kesitler entellan ile kapatıldı.

3.8. İmmünohistokimyasal Yöntem

Deneklere ait böbrek dokuları, TNF- α (bs-2081R, Bioss) ve VEGF (bs-1957R, Bioss) antikorlarıyla immünohistokimyasal boyama yapılarak immünreaktivite açısından değerlendirildi. Polilizinli lamlara alınan kesitlerin deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemi gerçekleştirildi. Dokulara, sitrat buffer (Ph 6.0) (Lot: 9003LT13610, Lab vision, Fremont, USA) ile retrieval işlemi uygulandı. 20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakılan kesitler daha sonra, PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH:7.4) ile 4 kez 3 dakika boyunca yıkandı. Dokular endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için 15 dakika boyunca 3%'lük hidrojen peroksit ile inkübe

edildi ve işlem sonrasında kesitler PBS ile yıkandı. Serum blok solüsyonu ile 5 dakika muamele edilen dokular yıkanmadan TNF- α ve VEGF primer antikorları (dilüsyon; 1/100) ile, +4 derecede bir gece inkübe edildi. Dört kez 3'er dakika PBS'de yıkanan kesitlerin 10 dakika boyunca biotinli sekonder antikor uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. PBS ile tekrar yıkama sonrasında dokular 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksi ile konjuge edildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitler immünreaktiviteyi ortaya çıkarmak amacıyla diaminobenzidine (DAB) substratı içeren kromojen ile inkübe edildi. Zemin boyası olarak Mayer' in Hematoksileni kullanılarak zıt boyamalar yapıldı. Kesitler azalan alkol serilerinden geçirildikten sonra ksilolde bekletilerek entellan ile kapatıldı. Leica DM 4000B (Germany) görüntülü analiz sisteminde incelenerek elde edilen görüntüler, Leica LAS 4.9v programında değerlendirildi.

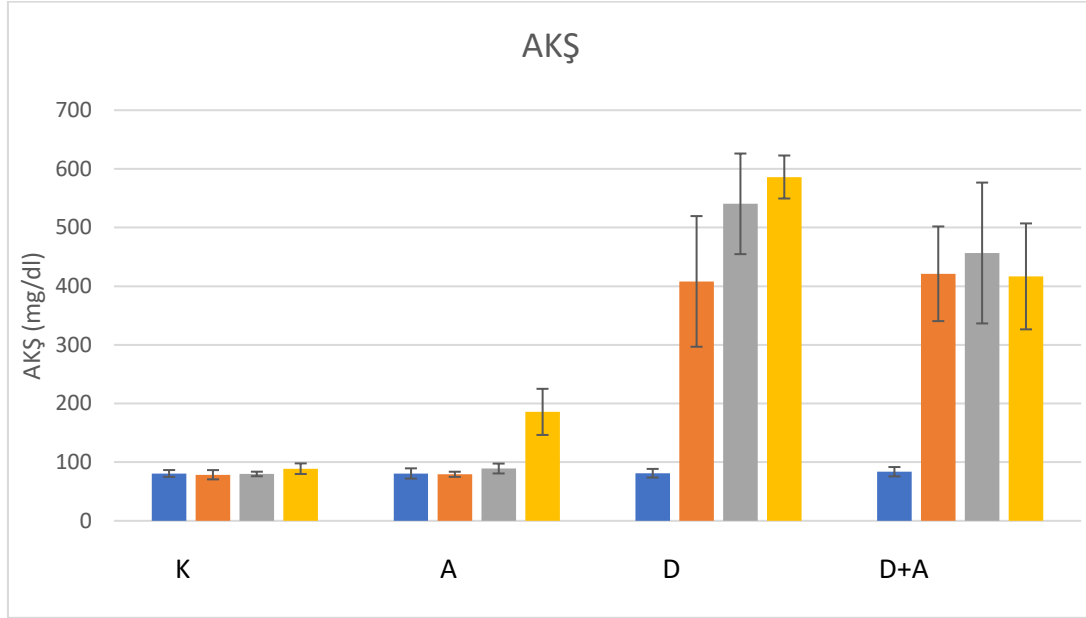
TNF- α ve VEGF antikorlarına ait immunohistokimyasal değerlendirmeler ImageJ programı (Java-based software program, National Institutes of Health) ile TNF- α ve VEGF pozitif alan yüzdesi ölçülerek yapıldı.

3.9. İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilerin değerlendirmesi IBM SPSS 22 istatistik programı kullanılarak non-parametrik Kruskal-Wallis ve Mann Whitney U testleri ile yapıldı. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak verildi. Korelasyon analizleri ise Spearman testi ile yapıldı. $p < 0,05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Açlık Kan Şekeri Düzeyleri



Şekil 4.1. Plazma açlık kan glikoz düzeyleri

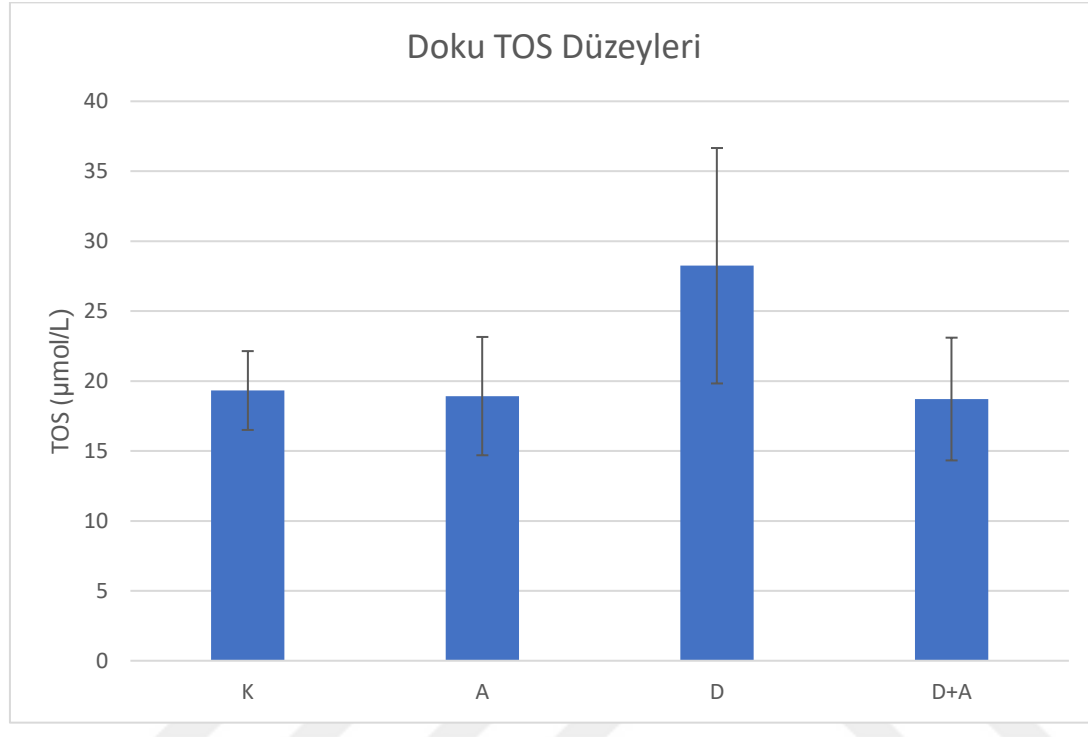
K: Kontrol A: Adropin D: Diyabet D+A: Diyabet+Adropin
Ortalama± Standart sapma

- 1. Ölçüm (STZ öncesi): Gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı.
- 2. Ölçüm (STZ sonrası): $p < 0,05$: K/D, K/D+A, A/D, A/D+A,
- 3. Ölçüm (Adropin öncesi): $p < 0,05$: K/A, K/D, K/D+A, A/D, A/D+A
- 4. Ölçüm (Feda edilmeden önce): $p < 0,05$: K/A, K/D, K/D+A, A/D, A/D+A, D/D+A

K ve A gruplarına göre 2. (STZ uygulamasından 72 saat sonra) ve 3. ölçümlerde (tedaviden önce) D ve D+A gruplarında AKŞ düzeylerinde anlamlı artış tespit edildi. Tedaviden sonra yapılan 4.ölçümlerde D ve D+A gruplarında AKŞ düzeylerinin K ve A gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu ve D+A grubundaki değerlerin D grubuna göre 3. ve 4. ölçümlerde anlamlı olarak düşük olduğu bulundu. A grubunda K grubuna göre 3. ve 4.ölçümlerde anlamlı olarak yüksek AKŞ değerleri tespit edildi.

4.2. Böbrek Dokusunda Oksidan Stres ve Antioksidan Parametre Bulguları

4.2.1. Total oksidan düzeyleri



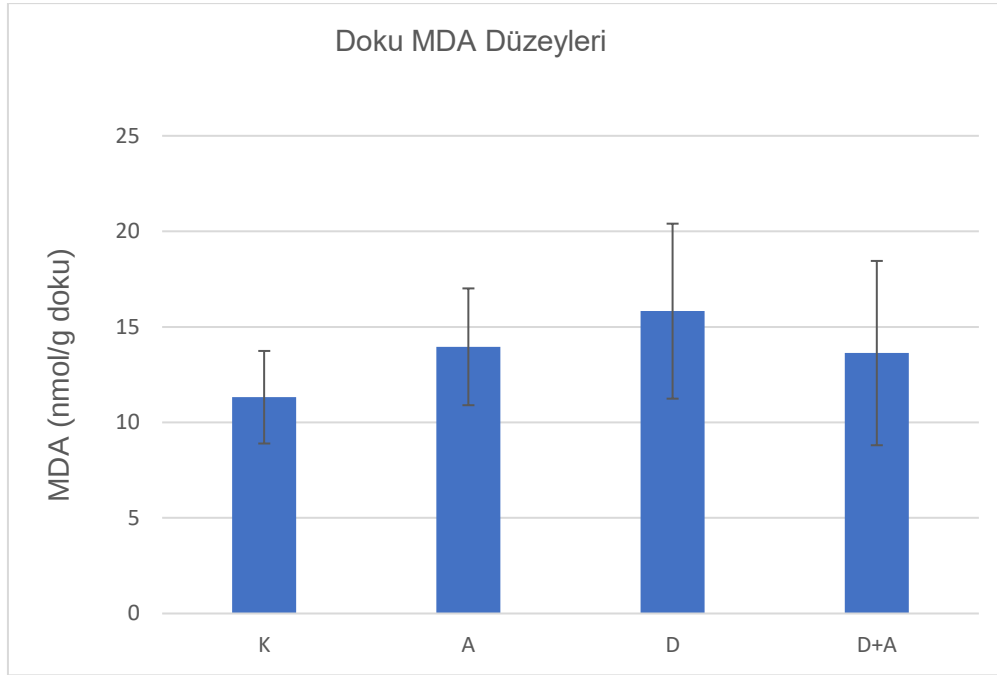
Şekil 4.2. Böbrek dokusu TOS değerleri

K: Kontrol A: Adropin D: Diyabet D+A: Diyabet+Adropin
Ortalama± Standart sapma

$p < 0,05$: K/D, A/D, D/D+A

Diyabet grubunda doku total oksidan düzeyleri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu. Adropin uygulaması ile diyabetiklerde artan total oksidan düzeylerinin anlamlı bir şekilde kontrol grubu düzeyine kadar düştüğü gözlemlendi.

4.2.2. MDA düzeyleri

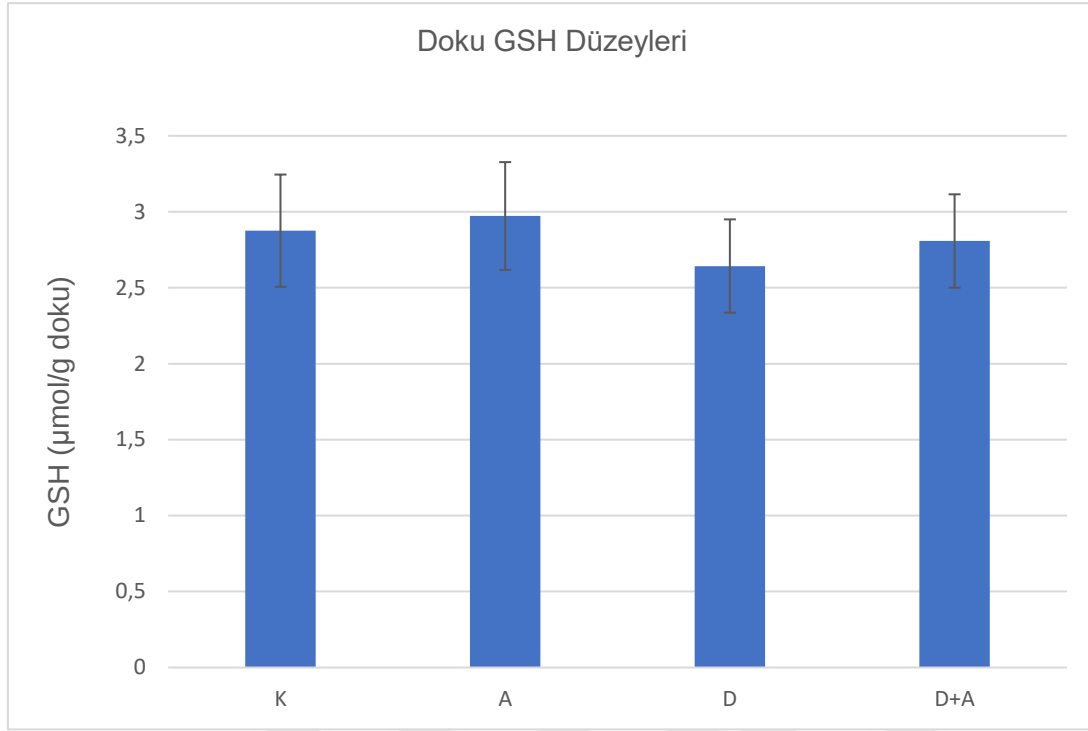


Şekil 4.3. Böbrek dokusu MDA değerleri

K: Kontrol A: Adropin D: Diyabet D+A: Diyabet+Adropin
Ortalama ± Standart Sapma

Diyabetik grupta yüksek MDA düzeyleri bulundu. Adropin uygulanan diyabet grubunda ise MDA seviyeleri diyabet grubuna göre daha düşüktü ancak istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi.

4.2.3. GSH düzeyleri



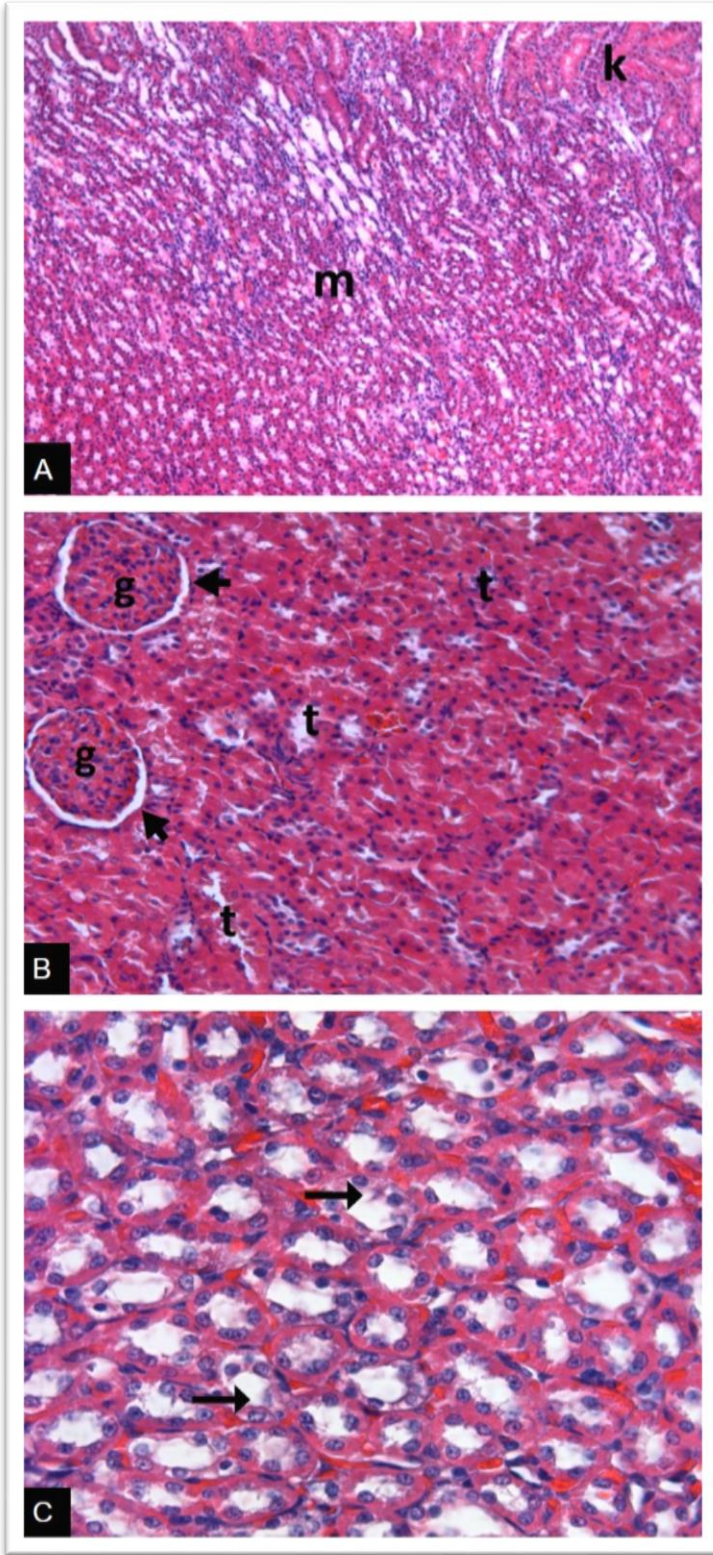
Şekil 4.4. Doku GSH düzeyleri

K: Kontrol A: Adropin D: Diyabet D+A: Diyabet+Adropin
Ortalama $\pm$ Standart Sapma

Diyabet grubunda diğer gruplarla karşılaştırıldığında düşük GSH seviyeleri tespit edildi. D+A grubundaki GSH seviyelerinin D grubuna göre yüksek olduğu görüldü ancak gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi.

4.3. Hematoksilen- Eozin Boyası Işık Mikroskobu Bulguları

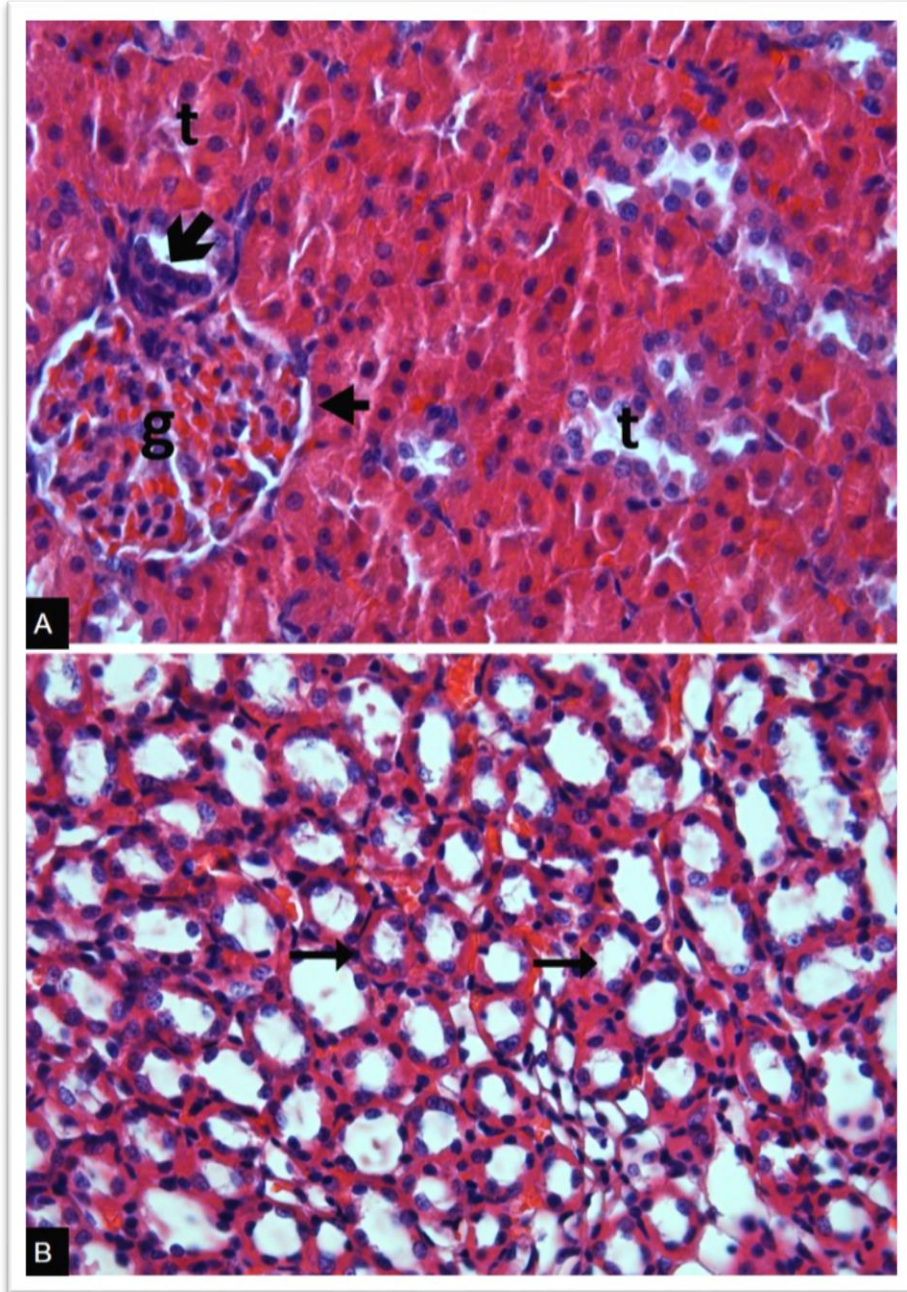
Kontrol grubuna ait böbrek dokusunun Hematoksilen- Eosin (HE) ile boyanmış enine kesitlerinde, korteks ve medulla normal histolojik görünüme sahipti. Kortekste Bowman kapsülü ile çevrili glomerüllerden oluşan böbrek cisimcikleri, inflamatuvar değişiklik göstermeyen proksimal ve distal tübüller ve interstisyel alan normal histolojik yapıda izlendi. Medullada tübül ve toplayıcı kanallarda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Resim 4.1).



Resim 4.1. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda normal histolojik görünüm

A: Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda normal histolojik görünüme sahip korteks (k) ve medulla (m) bölgeleri (HE, x100). B: Bowman kapsülü ile çevrili glomerülden (g) oluşmuş böbrek cisimcikleri (◄) ve tübül yapıları (t) (HE, x200). C: böbrek medulla dokusunda toplayıcı kanallar (→) (HE, x400)

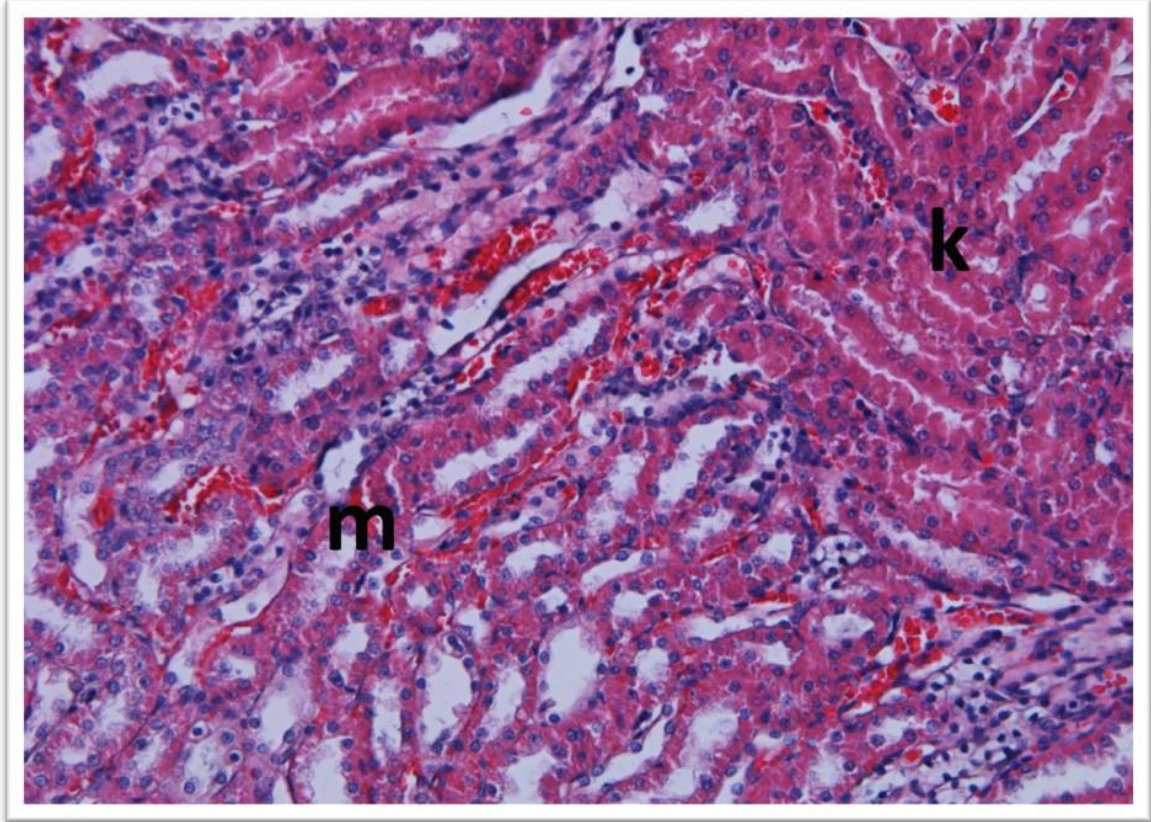
Adropin grubuna ait böbrek dokusunun, HE ile boyanmış enine kesitlerinde kontrol grubuna benzer şekilde, glomerul yapısı, proksimal ve distal tübüller, medullada tübül ve toplayıcı kanallar normal histolojik yapıda izlendi (Resim 4.2).



Resim 4.2. Adropin grubu böbrek dokusunda normal histolojik görünüm

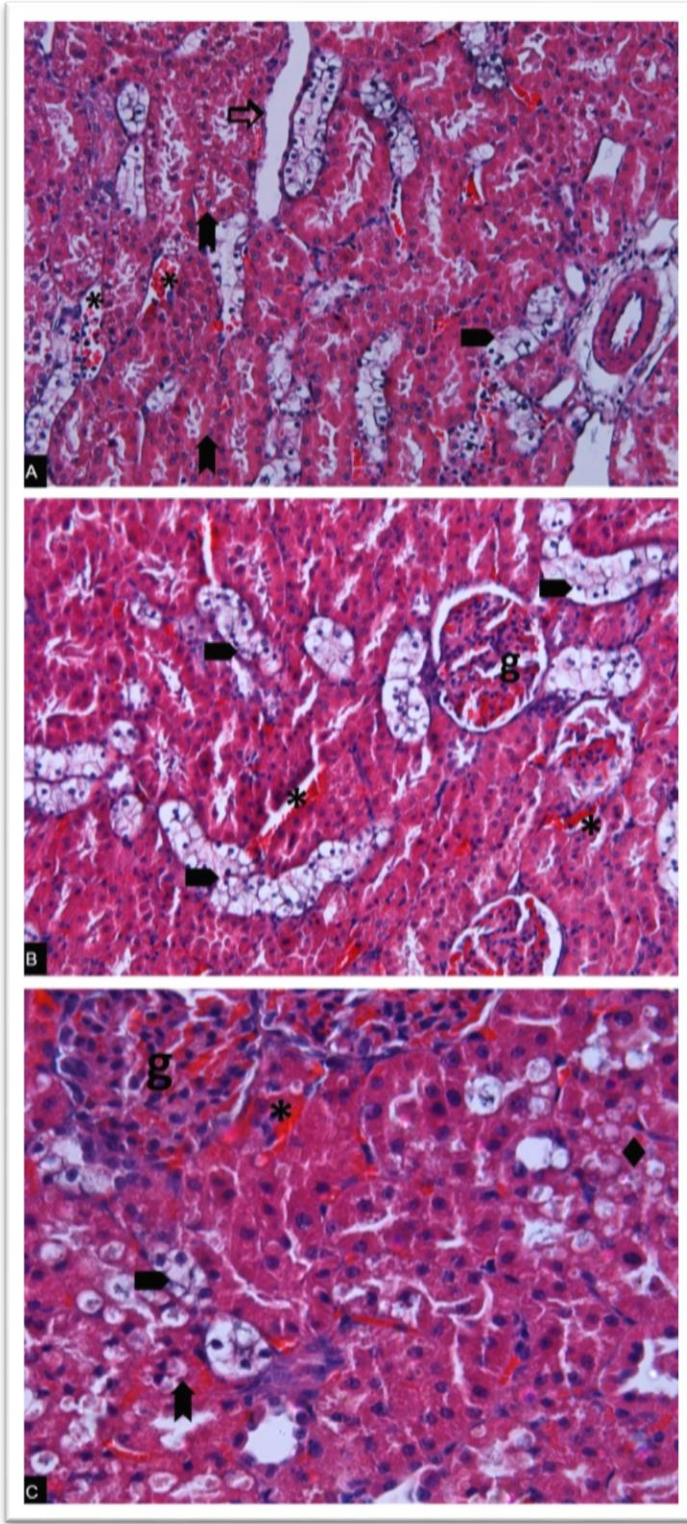
A: Adropin grubuna ait böbrek korteks dokusunda Bowman kapsülü ile çevrili glomerulden (g) oluşmuş böbrek cisimciği (↔), makula densa (→) ve normal histolojik görünüme sahip tübüller dikkati çekmekte (HE, x400). B: Kontrol+adropin grubuna ait böbrek medulla dokusunda normal histolojik görünüme sahip toplayıcı kanallar (→) (HE, x400)

Diyabet grubuna ait böbrek dokusunun HE ile boyanmış enine kesitlerinde korteks ve medullada dejeneratif değişiklikler görüldü (Resim 4.3). Glomerüler dilatasyon ve konjesyon izlenen bulgular arasındaydı. Tübül epitel hücrelerinde hidropik değişikliklerin yanı sıra vakuolizasyon ve lipid birikimi dikkati çekti. Bazı tübüllerde dilatasyon ve nekroz izlendi (Resim 4.4).



Resim 4.3. Diyabet grubu böbrek korteks ve medulla bölgeleri

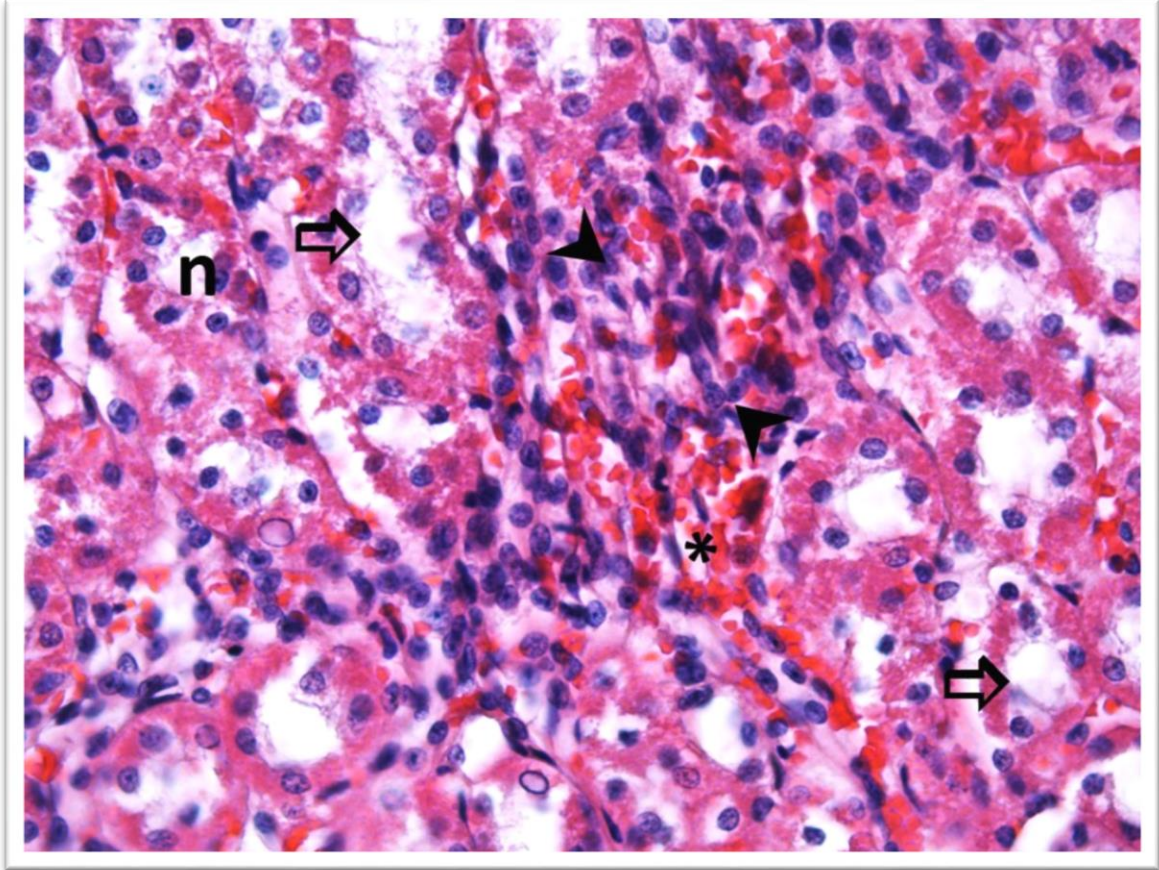
Diyabet grubuna ait böbrek dokusunda dejeneratif değişikliklere sahip korteks (k) ve medulla (m) bölgeleri (HE, x200)



Resim 4.4. Diyabet grubu böbrek korteks bölgesi dejeneratif değişiklikler

A: vakuolizasyon (†), konjesyon (*), tübül epitel hücrelerinde hidropik değişiklikler (▀) ve dilatasyon (⇒) izlenmekte (HE, x200). B: genişlemiş glomerul (g), konjesyon (*) ve tübül epitel hücrelerinde hidropik değişiklikler (▀) dikkati çekti (HE, x200). C: C: genişlemiş glomerul (g), vakuolizasyon (†), lipid birikimi (◆) konjesyon (*), tübül epitel hücrelerinde hidropik değişiklikler (▀) izlenmekte (HE, x400)

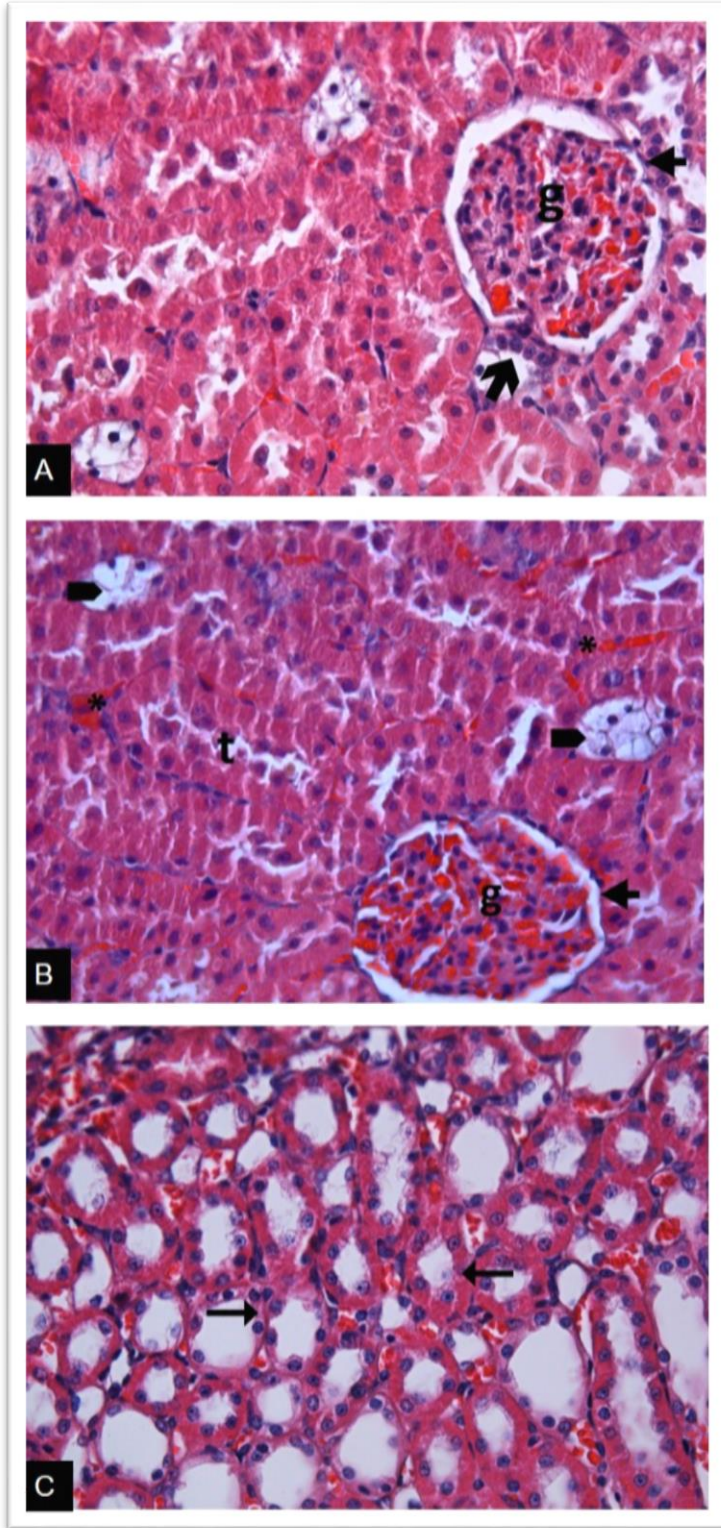
Diyabet grubuna ait böbrek dokularının medullasında, toplayıcı kanallarda dilatasyon, nekroz, intertübüler inflamasyon ve konjesyon dikkati çekti. Vasküler oluşumların duvarında kalınlaşma izlendi (Resim 4.5).



Resim 4.5. Diyabet grubu böbrek medulla bölgesi

Diyabet grubuna ait böbrek medulla dokusunda toplayıcı kanallarda dilatasyon (⇒), nekroz (n), intertübüler inflamasyon (➤) ve konjesyon (*) dikkati çekti (H.E X400)

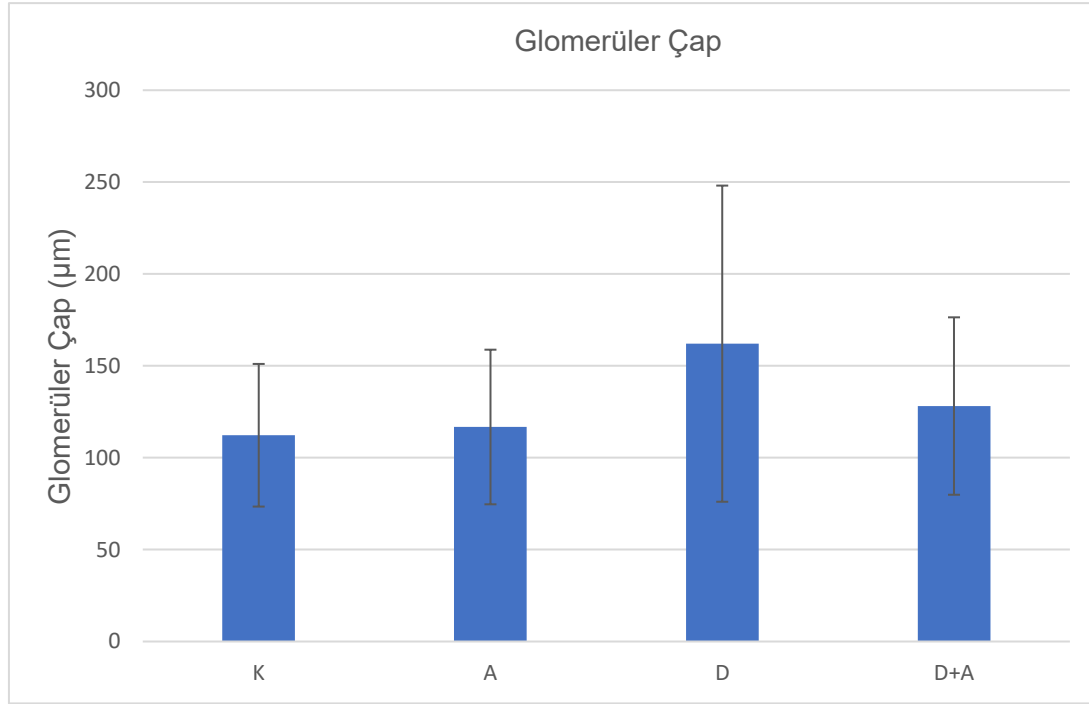
Adropin uygulanan diyabet grubuna ait böbrek dokusunun HE ile boyanmış kesitlerinde kortekste bazı alanlarda dilate ve hidropik değişikliğe sahip tübüller varlığını sürdürürken, bazı alanlarda tübül ve glomerül yapılarının normal histolojik yapıda olduğu görüldü. Medullada yer alan toplayıcı kanallarda kontrole yakın görünüm ve interstisyel alandaki azalmış inflamasyon dikkati çeken bulgular arasındaydı (Resim 4.6).



Resim 4.6. D+A grubuna ait böbrek korteks ve medulla dokusu

A: Korteks, Bowman kapsülü ile çevrili glomerulden (g) oluşmuş böbrek cisimciği (↔) ve makula densa (➡) izlenmekte (HE, x400). B: Korteks, Bowman kapsülü ile çevrili glomerulden (g) oluşmuş böbrek cisimciği (↔) normal (t) ve hidropik değişikliğe sahip tübül yapıları (➡) ve bazı alanlarda konjesyon (*) izlenmekte (HE, x400). C: Medulla, toplayıcı kanallar (➡)

Glomerüler Çap:



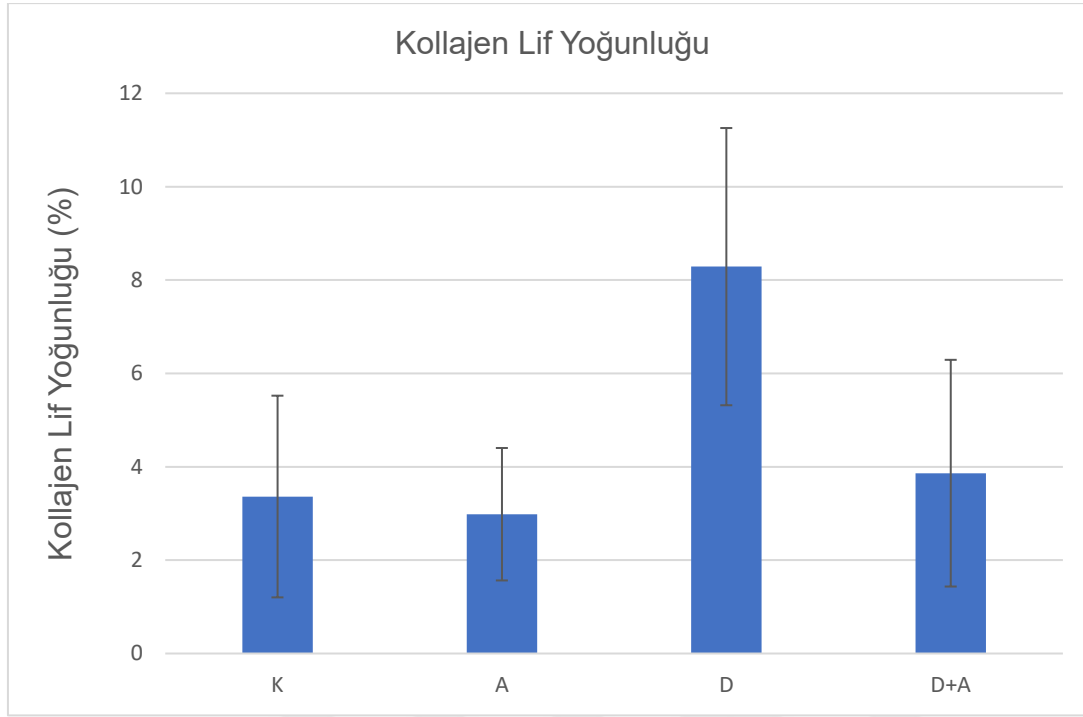
Şekil 4.5. Glomerüler çap

K: Kontrol A: Adropin D: Diyabet D+A: Diyabet+Adropin
Ortalama $\pm$ Standart Sapma

$p < 0,05$: K/D, A/D, D/D+A, K/D+A

Gruplar arası glomerul çapı değerlendirildiğinde; D grubunda ve D+A grubunda artmış glomerüler çap tespit edildi ve bu yüksek değerler K ve A gruplarına göre anlamlı bulundu. D+A grubunda ise D grubuna göre anlamlı olarak düşük değerler tespit edildi. K ve A grupları arasında ise anlamlı bir fark izlenmedi.

4.4. Masson'un Trikrom Boyası Işık Mikroskobu Bulguları



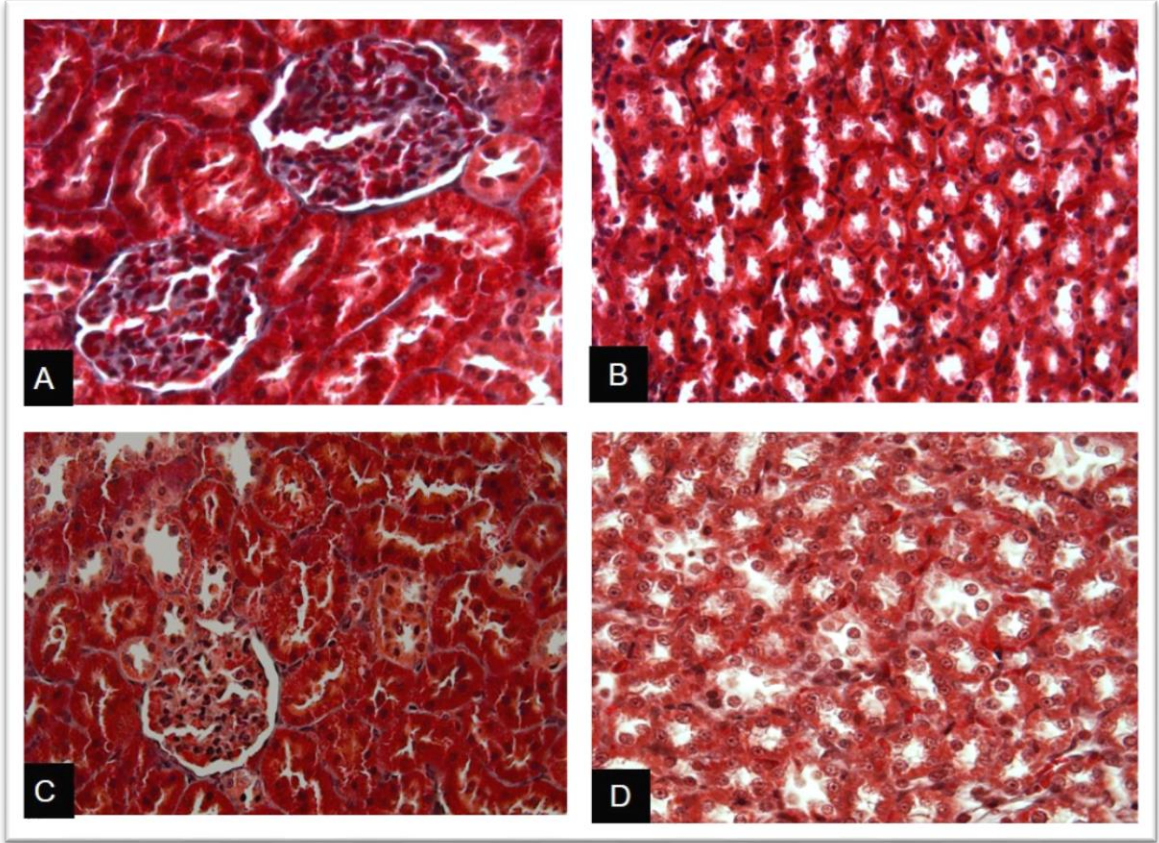
Şekil 4.6. Kollajen lif yoğunluğu

K: Kontrol A: Adropin D: Diyabet D+A: Diyabet+Adropin
Ortalama ± Standart Sapma

$p < 0,05$: K/D, A/D, D/D+A

Elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, diyabet grubundaki kollajen lif yoğunluğu diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$). Adropin uygulanan diyabet grubunda ise kollajen lif yoğunluğunun diyabet grubuna göre anlamlı olarak azaldığı dikkati çekti ($p < 0,05$). Adropin ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık izlenmedi.

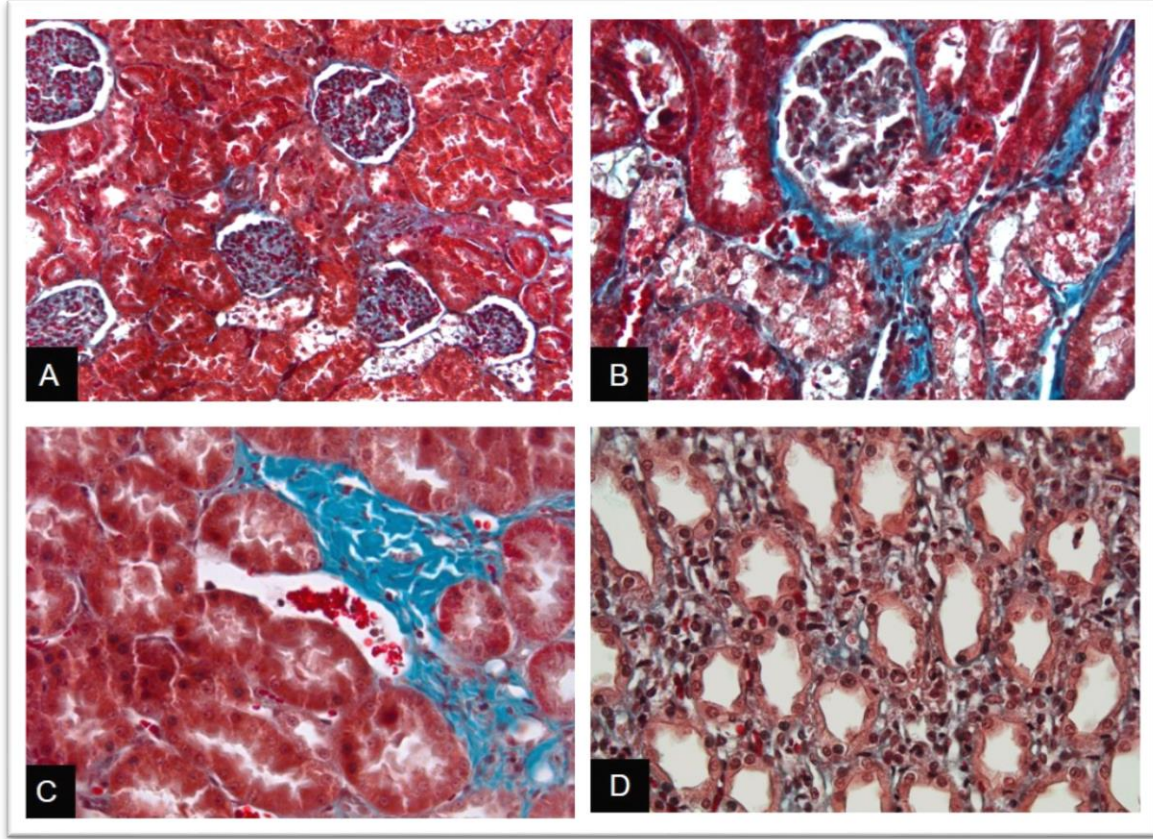
Gruplara ait böbrek dokularında kollajen yoğunluk farklılıklarının değerlendirilmesi için Masson'un Trikrom boyası kullanıldı. Kontrol ve adropin grubuna ait böbrek dokusu kesitlerinde uygulanan boyama sonucunda korteks ve medulla bölgesinde fibrotik değişiklikler gözlenmedi (Resim 4.7).



Resim 4.7. K ve A gruplarına ait böbrek korteksi ve medullası

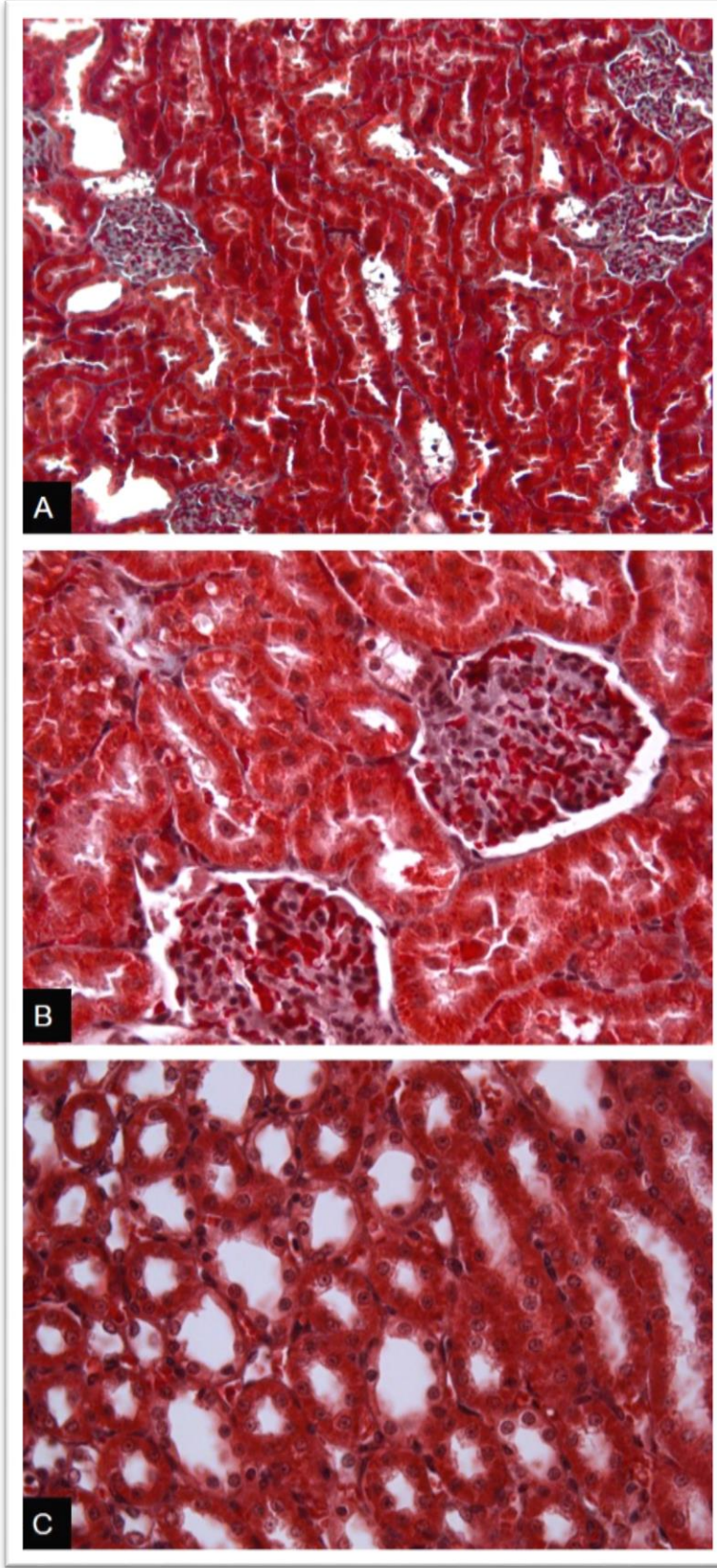
A: Kontrol grubu, korteks. B: Kontrol grubu, medulla. C: Adropin grubu korteks.
D: Adropin grubu, medulla. Normal yoğunlukta kollajen lif dağılımı izlenmekte
(Masson'un Trikrom boyası, x400)

Diyabet grubuna ait Masson'un Trikrom boyası ile boyanan böbrek kesitlerinde glomerüler ve tübüler kollajen lif yoğunluğunun artışı ile karakterize fibrotik değişimler izlendi (Resim 4.8). Adropin uygulanan diyabet grubunda ise diyabet grubuna göre korteks ve medulladaki kollajen lif yoğunluğunun azaldığı dikkati çekti (Resim 4.9).



Resim 4.8. D grubu böbrek dokusu korteksi kollajen lif yoğunluğu ve fibrozis.

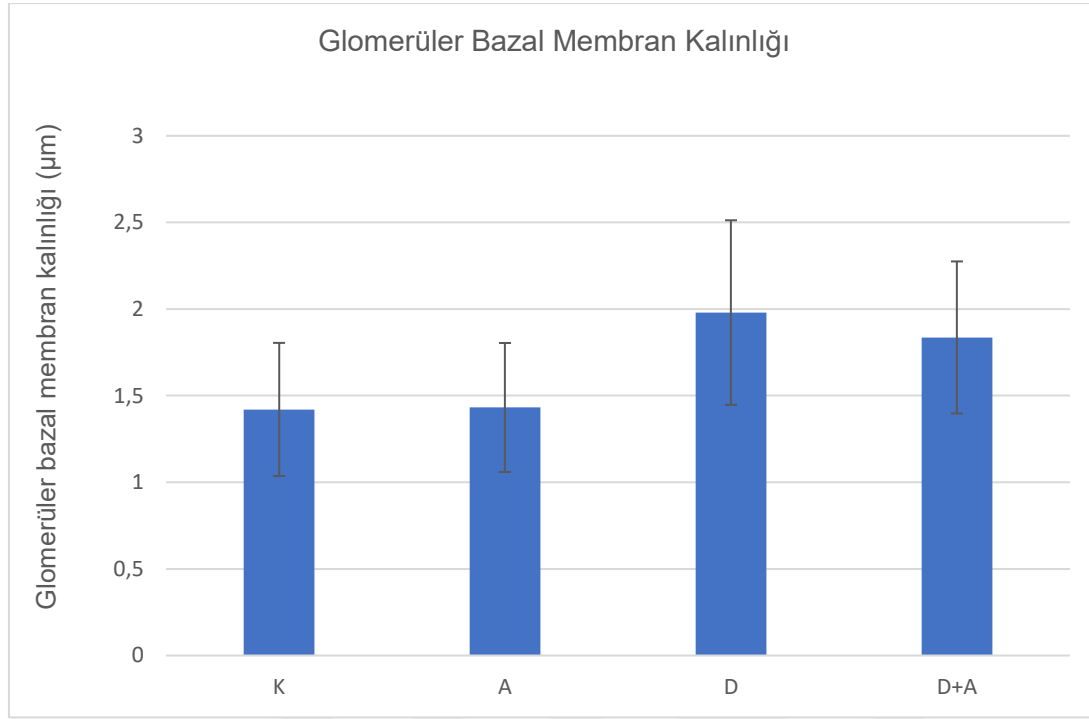
A: Korteks (Masson'un Trikrom boyası, x200). B: Korteks (Masson Trikrom boyası, x200). C: Korteks (Masson Trikrom boyası, x400)
D: Medulla (Masson Trikrom boyası, x400)



Resim 4.9. D+A grubu böbrek dokusu korteks ve medulla kollajen lif dağılımı

A: Korteks (Masson'un Trikrom boyası, x200). B: Korteks (Masson'un Trikrom boyası, x400). C: Medulla (Masson'un Trikrom boyası, x400)

4.5. Periyodik Asit Schiff (PAS) Boyası Işık Mikroskobu Bulguları

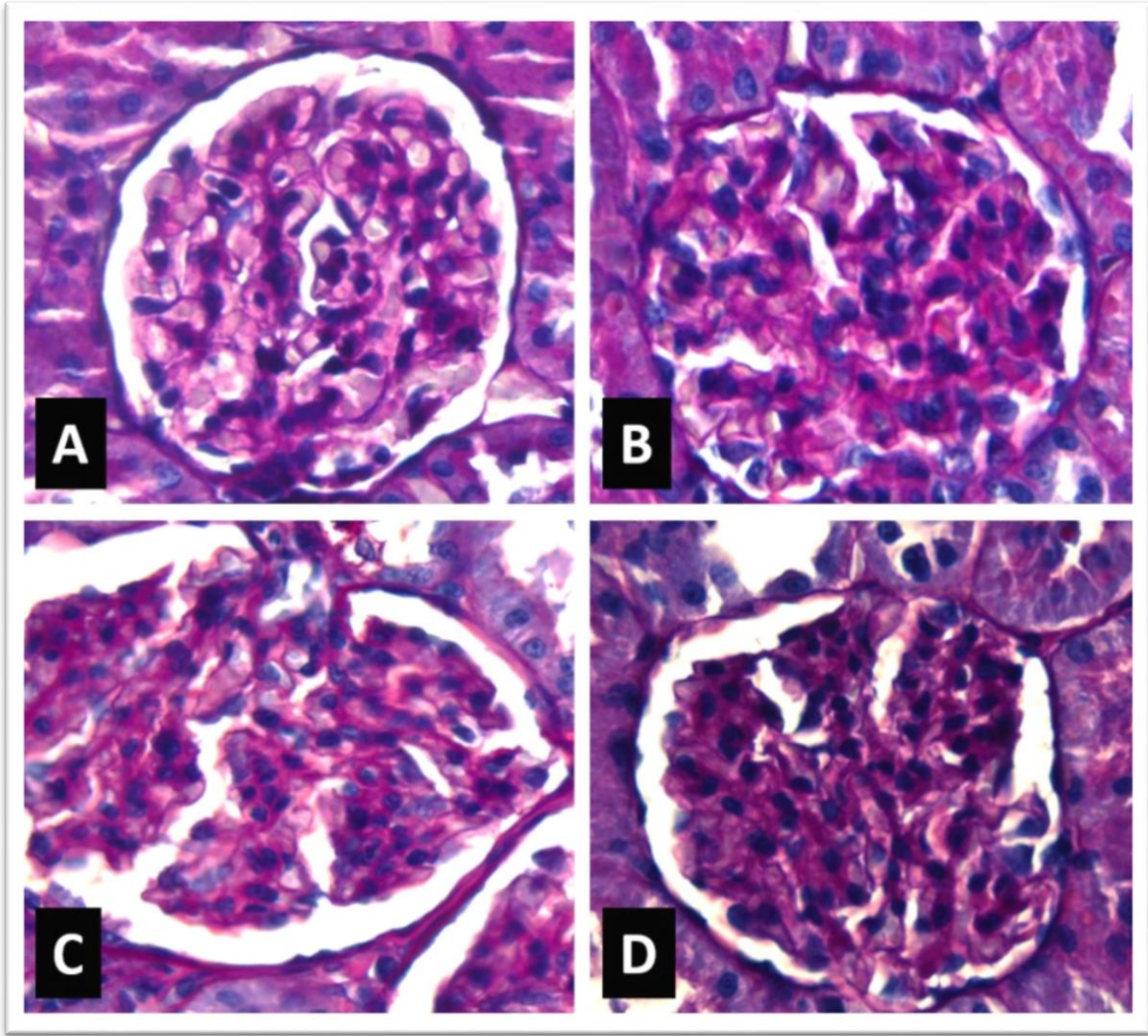


Şekil 4.7. Glomerüler bazal membran kalınlığı

K: Kontrol A: Adropin D: Diyabet D+A: Diyabet+Adropin
Ortalama ± Standart Sapma

$p < 0,05$: K/D, K/D+A, A/D, A/D+A, D/D+A

Deney gruplarına ait glomeruler bazal membran kalınlığını değerlendirmek için yapılan PAS boyama sonrasında, D grubundaki bazal membran kalınlığının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edildi ($p < 0,05$). D+A grubunda D grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olan bazal membran kalınlıkları, K ve A gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu (Resim 4.10).

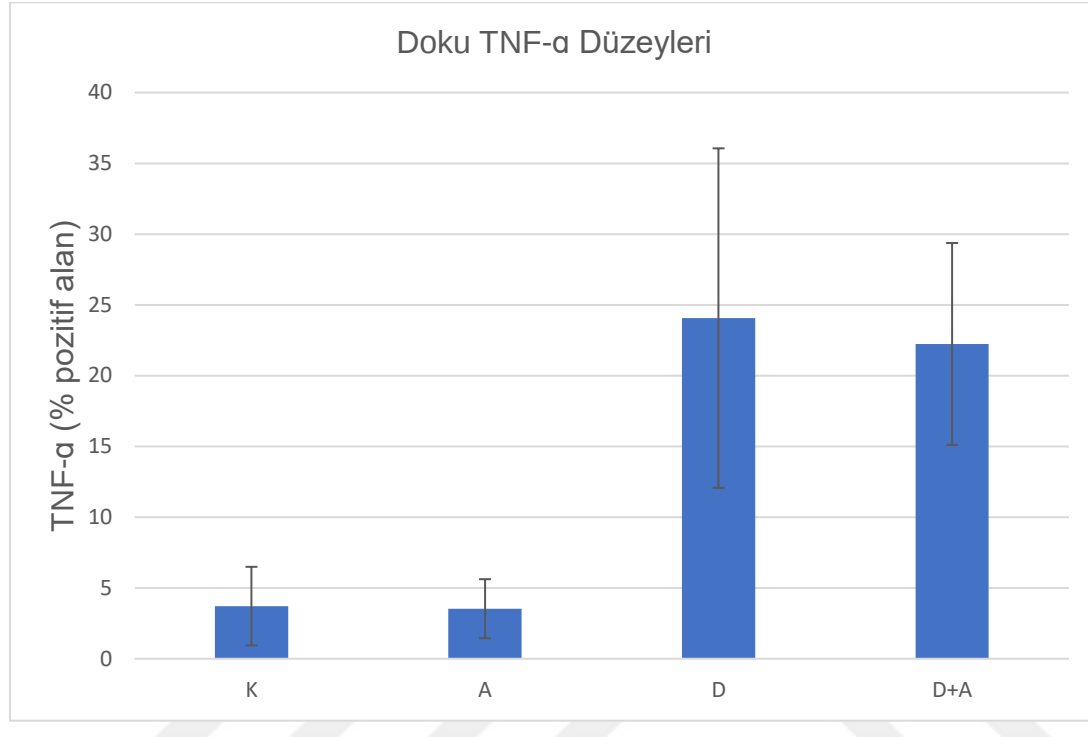


Resim 4.10. Deney grupları glomeruler bazal membran yapıları

A: Kontrol, B: Adropin, C: Diyabet, D: Diyabet+ adropin grubu; PAS, x400

4.6. Böbrek Dokusunda İmmünohistokimyasal Bulgular

4.6.1. TNF- α düzeyleri

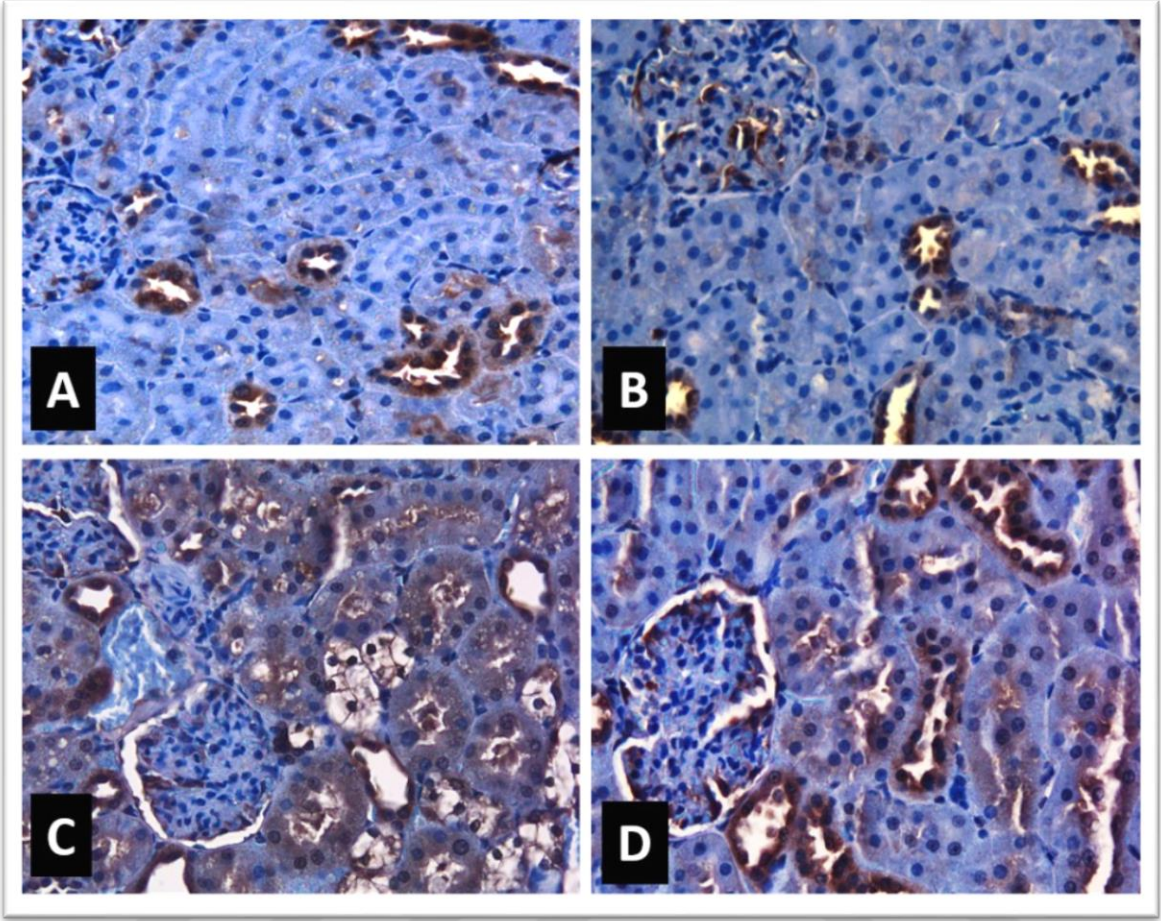


Şekil 4.8. Doku TNF- α düzeyleri

K. Kontrol; A. Adropin; D. Diyabet; D+A: Diyabet+Adropin
Ortalama $\pm$ Standart Sapma

$p < 0,05$: K/D, K/D+A, A/D, A/D+A

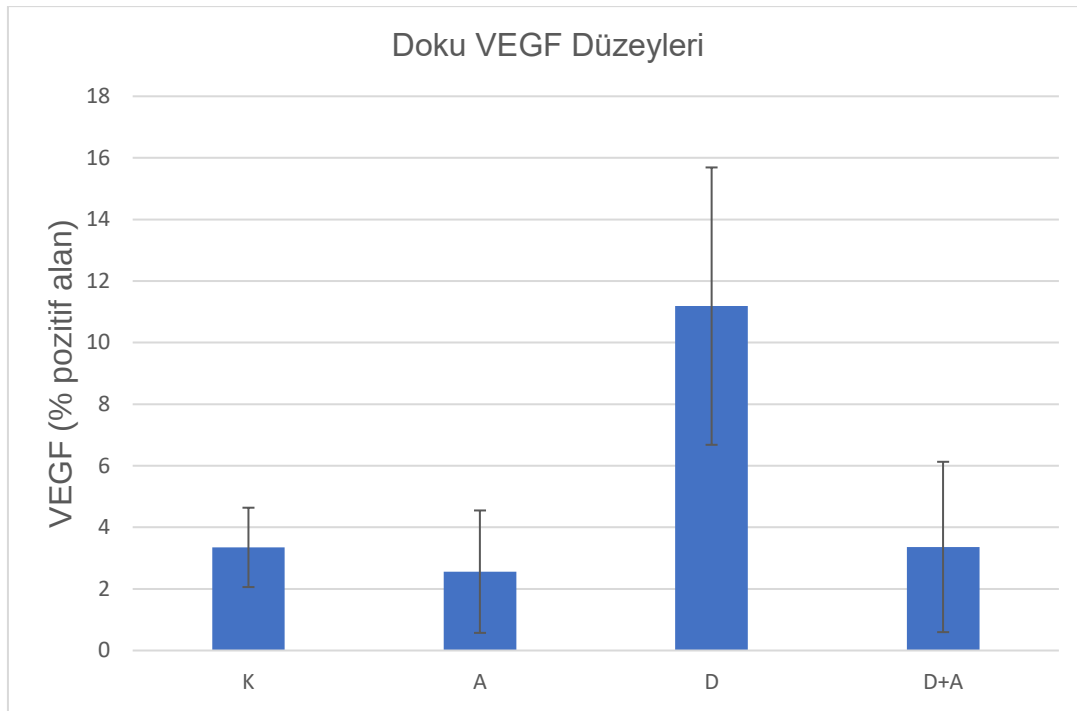
Diyabet ve adropin tedavisi uygulanan diyabet gruplarında TNF- α pozitif alan yüzdesi kontrol ve adropin gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$). D+A grubunda D grubuna göre TNF- α immünreaktivite yüzdesinin azaldığı ancak bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Resim 4.11).



Resim 4.11. TNF- α immunreaktivite görüntüleri

Kontrol grubu (A), Adropin grubu (B), Diyabet grubu (c);
Diyabet+adropin (D) grubu. Diyabet ve Diyabet+Adropin gruplarındaki
artmış TNF- α immünreaktivitesi görülmekte (DAB & Hematoksilen A-D
X400).

4.6.2. VEGF düzeyleri

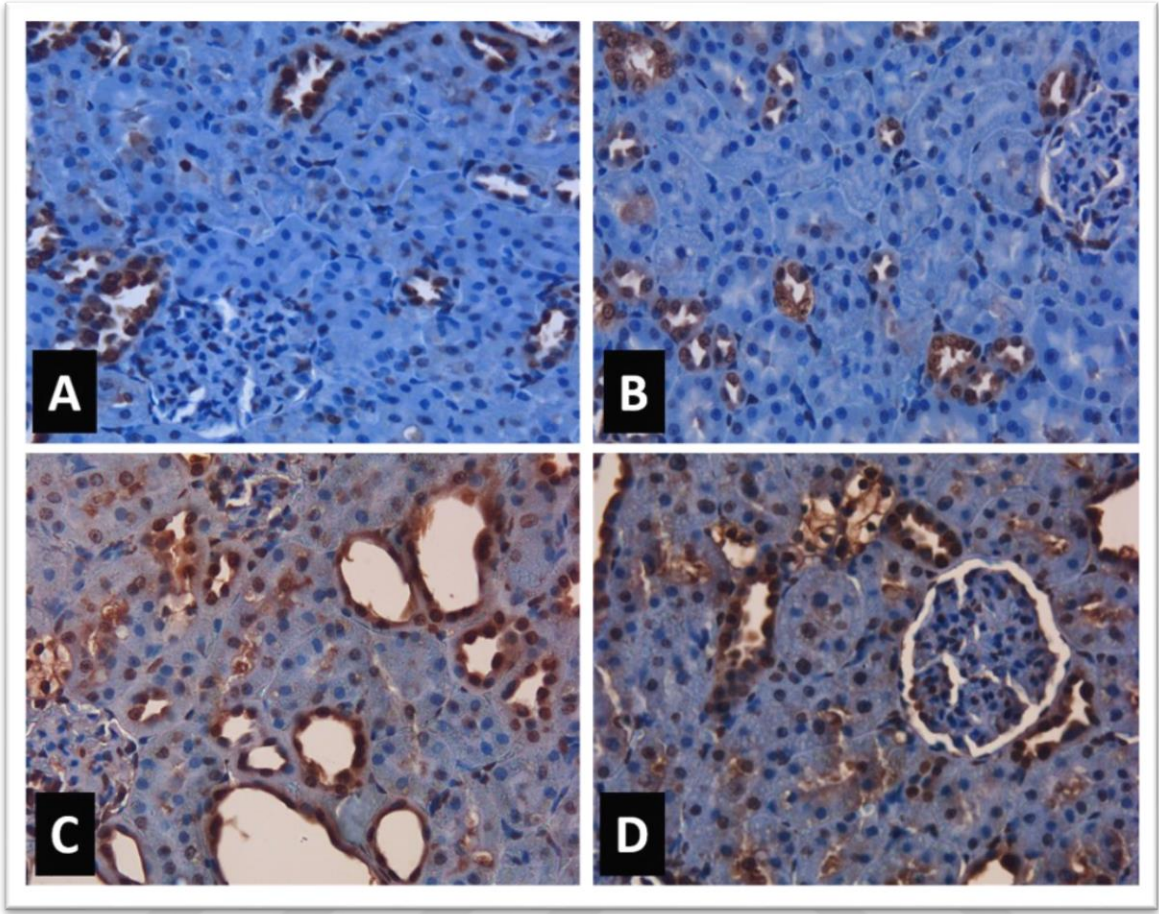


Şekil 4.9. Doku VEGF düzeyleri

K: Kontrol A: Adropin D: Diyabet D+A: Diyabet+Adropin
Ortalama $\pm$ Standart Sapma

$p < 0,05$: K/D, A/D, D/D+A

D grubunda VEGF pozitif alan yüzdesi diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu. D+A grubunda, D grubuna göre VEGF pozitif alan yüzdesinde anlamlı bir azalma tespit edildi ve K, A, D+A grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Resim 4.12).



Resim 4.12. VEGF immünreaktivite görüntüleri

Kontrol grubu (A), Adropin grubu (B), Diyabet grubu (C), Diyabet+adropin grubu (D). Diyabet ve Diyabet+Adropin gruplarında artmış VEGF immünreaktivitesi izlenmekte (DAB & Hematoksilen A-D X400)

4.7. Korelasyon Analizleri

Tüm gruplarda yaptığımız VEGF, TNF- , MDA, GSH, ve TOS seviyeleri arasındaki analizlerde korelasyon görülmedi.



5. TARTIŞMA

DM mortalite ve morbidite oranlarını artırır ve tüm dünyada büyük ekonomik kayıplara neden olur. Ciddi komplikasyonlar ile seyreden DM'nin etkilediği primer organlardan biri böbreklerdir [139]. 2015 yılında 415 milyon kişiyi etkileyen DM'ta nefropati gelişim oranı yaklaşık %20-40'dır [140]. Glomerüler hipertansiyon, proteinüri, hiperlipidemi ve genetik yatkınlık DN gelişim riskini artırır [141].

Son dönem böbrek hastalığına kadar ilerleyebilen DN, progresif üriner albümin atılımı, kan basıncında artış ve glomerüler filtrasyon hızında azalma ile karakterizedir [139]. Fonksiyonel değişiklikler, podositlerde ve tübüler hücrelerde yapısal değişiklikler ve apoptozis, glomerüler bazal membranda kalınlaşma, mezengial genişleme, tübülointerstisyel fibrosis ve glomerülosklerozis gibi ultrastrüktürel değişiklikler ile birliktedir [142, 143].

Patolojik değişikliklere giden süreçlerde ana faktör olarak hipergliseminin de etkisiyle renin-anjiyotensin sistem aktivasyonunda, oksidatif strese, proinflamatuvar sitokin üretiminde artış ve büyüme faktörlerinin seviyelerindeki değişiklikler rol oynar [141, 144].

Birçok çalışma artmış oksidatif stres ve inflamasyonun diyabet ve diyabetik nefropati gelişiminde ana rol oynadığını göstermektedir. Oksidan stres hücre proliferasyonunu azaltır, DNA hasarına yol açar ve diyabette renal dokudaki morfolojik değişiklikler ile ilişkilidir [99, 113]. Oluşturulan hayvan deney modellerinde ve insanlarda diyabet varlığının, oksidan enzimleri ve ROS üretimini artırdığı ve antioksidan enzimleri azalttığı gösterilmiştir [145, 146].

Diyabet ve komplikasyonları ile ilgili birçok bilgi hayvanlar üzerinde yapılan deneyler ile elde edilmektedir ve diyabet modeli oluşturmak için sık kullanılan ajanlardan biri STZ'dir. STZ GLUT2'ler aracılığı ile pankreatik β hücrelerinde toplanma eğiliminde olan, geniş spektrumlu antibiyotik ve anti-neoplastik özelliklere sahip, metil-nitrozüre bölümünün DNA'yı alkilemesi sonucu toksik etki gösteren bir nitrozüre türevi'dir. STZ'nin metil-nitrozüre parçasının DNA'yı alkilemesi sonucu DNA'da parçalanma meydana gelmektedir. İmmün yolakları aktifleyerek insülitis ve β hücre hasarına

yol açmaktadır. STZ ayrıca glikoz taşınmasını ve glukokinaz fonksiyonunu engellemektedir. Çalışmalarda 140-300 g ağırlığındaki sıçanlara 0.1 M sitrat tamponunda (pH: 4.5) çözünen STZ tek doz (45-70 mg/kg) ip olarak enjekte edilmiştir [22, 23]. Çalışmamızda STZ'yi ip tek enjeksiyon olarak 65 mg/kg dozda uyguladık.

Literatürde, DN'de oksidatif stres parametrelerinden biri olan total oksidan seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir [147]. Çalışmamızda total oksidan seviyelerinin literatürle uyumlu olarak diyabetik grupta anlamlı olarak arttığını tespit ettik. Yine literatürde oksidatif stres, lipid peroksidasyonun biyobelirteçlerinden biri olan MDA seviyelerinin STZ ile diyabet modeli oluşturulan sıçanların böbrek dokusunda diyabetik olmayan kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu ve buna karşılık antioksidan GSH seviyelerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir [145, 148]. Bulgularımız MDA seviyelerinin diyabet grubunda anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermektedir. Ancak GSH seviyeleride kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte, istatistiksel olarak bir anlamlılık tespit edemedik.

Glukoz regülasyonunda ki bozulmalar sonucu ortaya çıkan değişikliklerden bir diğeri inflamasyondur. İmmün sistem fonksiyonlarının gerçekleşmesinde önemli araçlar olan sitokinlerin salınımındaki değişiklikler hastalığın gelişimini ve şiddetini etkiler. Bu maddelerden biri de proinflamatuvar sitokin TNF- α 'dır. İnflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu ve salınımını artıran ve apoptozis, proliferasyon, immunoregülasyon gibi patolojik süreçlerde yer alan TNF- α DN gelişim süreçlerine de katılır [149, 150].

İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada plazma TNF- α konsantrasyonlarının DN'li hastalarda, kontrol ve nefropatiye sahip olmayan diyabet gruplarına göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir [151].

Yapılan hayvan çalışmalarında da böbrek dokusunda ve serumda TNF- α düzeylerinin DN'li deneklerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [152, 153]. Tütün ve ark.'da 2019 yılında yaptıkları çalışmada, diyabetik böbrek dokusunda intertübüler hücrelerde şişme, deskuamasyon, konjesyon, mikrovillus kaybı olduğunu belirtmişlerdir [154].

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak diyabet grubunda bozulmuş venöz dönüşü işaret eden konjesyon, intertübüler inflamasyon ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek TNF- α seviyeleri tespit ettik. Bulgularımız diyabetik deneklerimizde, DN geliştiğinin bir göstergesi olarak düşünülebilir.

DN gelişim süreçlerinde yer alan faktörlerden bir diğeri de VEGF'tir. Böbreklerde VEGF'in ana kaynağı podositlerdir ve glomerüler bazal membranın oluşumunda ve bütünlüğünde önemli role sahiptir. DN'li hastalarda hastalığın ilerleyen dönemlerinde podosit kaybı ile birlikte VEGF üretimi azalır fibrozise neden olurken daha erken evrelerinde artma eğilimindedir [10]. Azalan VEGF-A seviyeleri glomerüloskleroza, endotel hücrelerinde apoptoza ve glomerüllerde bütünlük kaybına neden olurken artan VEGF-A endotel hücre hasarına, glomerüler geçirgenlik artışına neden olur ve inflamasyonu tetikler [155].

Çalışmamızda, diyabet grubunda VEGF düzeyleri diğer üç gruba göre daha yüksek olarak bulundu. Bulgularımız Huang ve arkadaşlarının diyabetik sıçanların böbrek dokusunda VEGF seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu ifade ettikleri çalışma ile uyumlu görülmektedir [156].

Bu moleküler değişiklikler ile birlikte renal fonksiyonlarda azalmaya neden olan bazı morfolojik değişiklikler de görülmeye başlar. Bu değişimler glomerüler ve tübülointerstisyel fibrozis, glomerüler hacim ve çapta artış, arteriyal hyalinozis, glomerüler kapiller çapta artış (efferent ve afferent arteriyoller), glomerüler bazal membranda kalınlaşma, Kimmelstiel-Wilson nodül oluşumu ve mezengiyal matrikste genişleme ile karakterizedir [157, 158, 159]. Çalışmamızda DN ile uyumlu olarak diyabetik sıçanların glomerüllerinde, medullasında ve toplayıcı kanallarında dilatasyon ve nekroz, vasküler oluşumların duvarında kalınlaşma, glomerüler çapta, glomerüler bazal membran kalınlığında artış, tübül epitel hücrelerinde hidropik değişiklikler, vakuolizasyon, lipid birikimi ve fibrozis oluşumu gösterildi. Bazı tübüllerde de dilatasyon ve nekroz izlendi.

Adipon insan, fare ve sıçanlarda aynı yapıda bulunan, lipid ve glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol alan karaciğer, beyin, insan umbilikal ven ve

koroner arter endotel hücreleri, pankreas ve böbreklerde üretilen metabolik hormondur [160].

İnsanlarda metabolik sendromlu kişilerde obez ve normal kilolu kişilere göre adropin seviyelerinin düşük olduğu ve adropin seviyelerinin kilo, bel çevresi, vücut-kitle indeksi, sistolik kan basıncı, açlık kan glukoz düzeyleri ve yağ kitlesi ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir [161].

Adropin seviyesinin koroner arter hastalığı, diyabet, metabolik sendrom ve obezite varlığında azaldığı ve koroner arter hastalığının şiddeti, vücut-kitle indeksi, yaş, insülin ve homosistein seviyeleri, diyabetiklerde endotelial disfonksiyon, metabolik sendrom ve obezite ile negatif korele olduğu gösterilmiştir [160, 162].

Diyetle obezite oluşturulan fareler üzerinde yapılan bir çalışmada adropin tedavisinin yağ asidi oksidasyonunu azaltıp glukoz oksidasyonunu ve glukoz toleransını artırdığı, iskelet kaslarında insülinin hücre içi sinyal yolak aktivasyonunu, insülin ile indüklenen GLUT4 reseptör ekspresyonunu artırdığı ve insülin direncini azalttığı gösterilmiştir [163].

Akçılar ve ark. adropin tedavisinin diyabetik sıçanlarda serum total kolesterol, trigliserit, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C), alanin transaminaz, aspartat transaminaz, serum glikoz ve HbA1c değerlerini düşürdüğünü; yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol seviyelerini arttırdığını belirtmişlerdir. Yine aynı çalışmada adropin tedavisinin pankreas dokusunda artan TNF- α ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz seviyelerini azalttığını bulmuşlardır [136].

Literatürdeki bazı yayınlarda insanlarda glukoz tüketiminin, plazma adropin seviyelerini azalttığı ve yağlı beslenmenin adropin seviyesini arttırdığı ifade edilmektedir [130, 164].

Yapılan başka bir çalışmada Tip 2 DM'li ve sağlıklı kişiler arasında yüksek adropin düzeyine sahip olanlarda açlık glikoz, vücut kitle indeksi (vki) ve HbA1c seviyeleri daha düşük bulunmuştur [128].

İn vitro iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçan kardiyomyoblast hücreleri ile yapılan çalışmada 25ng/ml (orta düzey) ve 50 ng/ml (yüksek düzey) doz adropin uygulamasının kreatin kinaz, TNF- α ve MDA seviyelerini azaltırken IL-10 seviyesini ve SOD aktivasyonunu artırarak antiinflamatuvar ve antioksidan etki gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca orta düzey adropin dozunun kaspaz 3 aktivasyonunu azaltarak erken apoptozisi azalttığı gösterilmiştir [165].

Yang ve ark. sıçan beyin dokusunda yaptıkları çalışmada yaş ile azalan adropin seviyelerinin artmış lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres ile azalmış fosforilize eNOS seviyeleri ve total eNOS seviyeleri ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir [166].

Chen ve ark. alkole bağlı olmayan hepatosteatozisli farelerde yaptığı çalışmada adropin tedavisinin (500 nmol/kg/ip) karaciğer dokusunda IL-1, IL-6, TNF mRNA seviyelerini, inflamasyonu, fibrozisi, MDA, hepatik trigliserit ve ROS seviyelerini azalttığını ve GSH seviyelerini artırdığını göstermiştir [167].

Çalışmamızda 10 gün boyunca 450 nmol/kg doz sistemik adropin uygulamasının diyabetle artan TOS düzeylerinde anlamlı bir azalma meydana getirdiğini gördük. Lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeylerinde diyabetin neden olduğunu düşündüğümüz ancak kontrole göre anlamlı olmayan yükselmede, adropin uygulaması ile yine anlamlı olmayan bir azalma tespit ettik. Literatürde adropin ile yapılan çalışmalar oldukça sınırlı olup, çalışmalar çoğunlukla adropin düzeylerinin tespitine yoğunlaşmaktadır. Biz ise çalışmamızda dışarıdan verdiğimiz adropinin etkilerini inceledik. Bu bakımdan elde ettiğimiz verilerin ileriki çalışmalar için önemli olduğunu ve yol göstereceğini düşünmekteyiz. İnsan umbilikalven endotel hücrelerinde yapılan in vitro bir çalışmada da adropinin vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü 2 (VEGFR2) ekspresyonunu ve endotel geçirgenliğini azaltarak endotelin bariyer fonksiyonunu, eNOS aktivasyonunu, NO salınımını artırdığı ve TNF- α ile indüklenen apoptozisi ortadan kaldırdığı gösterilmiştir [126]. Çalışmamızda adropinin diyabetle yükselen VEGF düzeylerini düşürdüğünü gözlemledik. TNF- α düzeylerinde ise diyabetik gruba göre bir azalma olmakla birlikte anlamlı bir fark tespit edemedik. Plazma AKŞ düzeylerinde adropin tedavisi ile azalma olduğunu ve diyabet grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük AKŞ seviyeleri tespit ettik.

Bu moleküler seviyelerdeki farklılıkların yanısıra Adropin uygulanan diyabetik hayvanlarda (D+A grubu) glomerüler lif yoğunluğunda, glomerüler bazal membran kalınlığında ve glomerül çapında Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük değerler tespit ettik. D+A grubuna ait böbrek korteksinin bazı alanlarında dilate ve hidropik değişikliğe sahip tübüller varlığını sürdürürken, interstisyel alandaki inflamasyonda azalma olduğunu hatta bazı alanlardaki tübül ve glomerüllerin normal histolojik yapıda olduğunu gözlemledik. Medullada yer alan toplayıcı kanallarda Kontrol grubuna yakın görünüm ve interstisyel alanda azalmış inflamasyon dikkati çekti. Bulgularımız adropin uygulamasının böbrek dokusunda diyabetin sebep olduğu hasar üzerinde iyileştirici yönde etkilerinin olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diyabetik sıçanlara günde 2 defa 10 gün süreyle ip yoldan 450 nmol/kg dozla uyguladığımız adropin kan şekeri düzeyinde belirgin ölçüde azalmaya neden oldu.

Sistemik adropin uygulamasının, diyabetle artan VEGF ve TOS seviyelerini anlamlı düzeyde düşürmesi, yine lipid peroksidasyonunda (MDA) ve TNF- α değerlerinde de bir miktar azalma meydana getirmesi, diyabetin neden olduğu oksidatif hasar ve inflamasyona karşı olumlu yönde etkilerinin olduğunu göstermektedir.

DN'de görülen nekroz, inflamasyon, fibrozis, glomerüler bazal membran kalınlaşması, glomerüler çapta artış gibi inflamatuvar ve morfolojik değişikliklere karşı adropin tedavici etki gösterdi.

Çalışmamızdaki bulguları değerlendirdiğimizde adropinin, DM'nin böbrek dokusunda neden olduğu artmış oksidatif stres ve patolojik yapısal değişiklikler üzerine olumlu etkilerinin olduğunu söyleyebiliriz.

Ciddi komplikasyonlar ile seyreden, morbidite ve mortalitenin en sık nedenlerinden biri olan ve sağlık harcamalarında üst sıralarda yer alan DM'de komplikasyonların önlenmesi, hastaların yaşam kalitelerinin ve sürelerinin arttırılması ve tedavi masraflarının azaltılmasında son derece önemlidir.

DM'de en sık etkilenen organlardan biri olan böbrek dokusu üzerine adropinin, çalışmamızda gösterdiğimiz olumlu etkilerinin literatürdeki diğer bilgiler ve yapılacak çalışmalar ile gelecekte diyabet komplikasyonlarının önlenmesinde bir tedavi seçeneği olabileceğini düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

1. Petersmann, A., Nauck, M., Muller-Wieland, D., Kerner, W., Muller, U. A., Landgraf, R., Freckmann, G., and Heinemann, L. (2018). Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 126(7): 406-410.
2. Zimmet, P. Z., Magliano, D. J., Herman, William H. and Shaw, J. E. (2014). Diabetes: a 21st century challenge. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2(1): 56-64.
3. Evcimen, N. D., and King, G. L. (2007). The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. *Pharmacological research*, 55(6): 498-510.
4. Han, Q., Zhu, H., Chen, X., and Liu, Z. (2017). Non-genetic mechanisms of diabetic nephropathy. *Frontiers in Medicine*, 11(3): 319-332.
5. Miranda-Diaz, A. G., Pazarin-Villasenor, L., Yanowsky-Escatell, F. G., and Andrade-Sierra, J. (2016). Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease. *Journal of Diabetes Research*, 2016: 7047238.
6. Navarro-Gonzalez, J. F., and Mora-Fernandez, C. (2008). The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 19(3): 433-42.
7. Lim, A. K., and Tesch, G. H. (2012). Inflammation in diabetic nephropathy. *Mediators of Inflammation*, 2012: 146154.
8. Donate-Correa, J., Martin-Nunez, E., Muros-de-Fuentes, M., Mora-Fernandez, C., and Navarro-Gonzalez, J. F. (2015). Inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Journal of Diabetes Research*, 2015: 948417.
9. Elmarakby, A. A., and Sullivan, J. C. (2012). Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Cardiovascular Therapeutics*, 30(1): 49-59.
10. Majumder, S., and Advani, A. (2017). VEGF and the diabetic kidney: More than too much of a good thing. *Journal of Diabetes and its Complications*, 31(1): 273-279.
11. Bhattacharjee, N., Barma, S., Konwar, N., Dewanjee, S., and Manna, P. (2016). Mechanistic insight of diabetic nephropathy and its pharmacotherapeutic targets: an update. *European journal of pharmacology*, 791: 8-24. 72
12. Asmat, U., Abad, K., and Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5): 547-553.

13. Ayepola, O. R., Brooks, N. L., and Oguntibeju, O. O. (2014). Oxidative stress and diabetic complications: the role of antioxidant vitamins and flavonoids, in *Antioxidant-Antidiabetic Agents and Human Health*. Croatia, IntechOpen, 25-58.
14. Liu, Y. W., Zhu, X., Cheng, Y. Q., Lu, Q., Zhang, F., Guo, H., and Yin, X. X. (2016). Ibuprofen attenuates nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecular Medicine Reports*, 13(6): 5326-34.
15. Dabrowski, F. A., Jarmuzek, P., Gondek, A., Cudnoch-Jedrzejewska, A., Bomba-Opon, D., and Wielgos, M. (2016). First and third trimester serum concentrations of adropin and copeptin in gestational diabetes mellitus and normal pregnancy. *Ginekologia Polska*, 87(9): 629-634.
16. Wu, L., Fang, J., Chen, L., Zhao, Z., Luo, Y., Lin, C., and Fan, L. (2014). Low serum adropin is associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetic and non-diabetic patients. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 52(5): 751-8.
17. Li, L., Xie, W., Zheng, X-L., Yin, W-D., and Tang, C-K. (2016). A novel peptide adropin in cardiovascular diseases. *Clinica Chimica Acta*, 453: 107-113.
18. Bhatti, A. B. and Usman, M. (2015). Drug targets for oxidative podocyte injury in diabetic nephropathy. *Cureus*, 7(12): e393.
19. Marquez, E., Riera, M., Pascual, J., and Soler, M. J. (2015). Renin-angiotensin system within the diabetic podocyte. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 308(1): 1-10.
20. Kumar P. A., Chitra, P. S., and Reddy, G. B. (2016). Advanced glycation end products mediated cellular and molecular events in the pathology of diabetic nephropathy. *Biomolecular Concepts*, 7(5-6): 293-309.
21. Kashihara, N., Haruna, Y., Kondeti, V. K., and Kanwar, Y. S. (2010). Oxidative stress in diabetic nephropathy. *Current Medicinal chemistry*, 17(34): 4256-4269.
22. Al-Awar, A., Kupai, K., Veszelka, M., Szucs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., Torok, S., Posa, A., and Varga, C. (2016). Experimental diabetes mellitus in different animal models. *Journal of Diabetes Research*, 2016: 9051426. 73
23. Rees, D. A., and Alcolado, J. C. (2005). Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, 22(4): 359-370.
24. American Diabetes Association. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37(1): S81-90.
25. Pippitt, K., Li, M., and Gurgle, H. E. (2016). Diabetes mellitus: screening and diagnosis. *American Family Physician*, 93(2), 103-109.

26. Cho, N.H., Shaw, J.E., Karuranga, S., Huang, Y., da Rocha Fernandes, J. D., Ohlrogge, A.W., and Malanda, B. (2018). IDF diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 138: 271-281.
27. Brzozowska, M. M., Havula, E., Allen, R. B., and Cox, M. P., (2019). Genetics, adaptation to environmental changes and archaic admixture in the pathogenesis of diabetes mellitus in Indigenous Australians. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 20(3): 321-332.
28. Tao, Z., Shi, A., and Zhao, J. (2015). Epidemiological perspectives of diabetes. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 73(1): 181-5.
29. Popescu, M., Bogdan, C., Pinte, A., Rugina, D., and Ionescu, C. (2018). Antiangiogenic cytokines as potential new therapeutic targets for resveratrol in diabetic retinopathy. *Drug Design, Development and Therapy*, 12: 1985-1996.
30. American Diabetes Association. (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 33 (1): S62-9.
31. Lima, L. (2017). Subclinical diabetes. *anais da academia brasileira ciencias*, 89(1): 591-614.
32. Nitin, S. (2010). HbA1c and factors other than diabetes mellitus affecting it. *Singapore Medical Journal*, 51(8): 616-622.
33. Higgins, T. (2013). HbA1c for screening and diagnosis of diabetes mellitus. *Endocrine*, 43(2): 266-73.
34. Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. (2019). Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu-2019. Ankara: Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği.
35. American Diabetes Association. (2015). Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*, 38 (1): 8-16.
36. Skyler, J. S. (2004). Diabetes mellitus: pathogenesis and treatment strategies. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(17): 4113-7. 74
37. Roden, M. (2016). Diabetes mellitus: definition, classification and diagnosis. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 128 Suppl 2: S37-40.
38. Op de Beeck, A. and Eizirik, D. L. (2016). Viral infections in type 1 diabetes mellitus--why the beta cells? *Nature Reviews Endocrinology*, 12(5): 263-273.
39. Pugliese, A. (2016). Insulinitis in the pathogenesis of type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes*, 17 Suppl 22: 31-6.
40. Katsarou, A., Gudbjornsdottir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., Jacobsen, L. M., Schatz, D. A., and Lernmark, A. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 3: 17016.

41. Morran, M. P., Omenn, G. S., and Pietropaolo, M. (2008). Immunology and genetics of type 1 diabetes. *Mount Sinai Journal of Medicine*, 75(4): 314-27.
42. Arneth, B. (2017). Activation of CD4+ and CD8+ T-lymphocytes by insulin and GAD in patients with type 1 or 2 diabetes mellitus. *Endocrine Connections*, 6(8): 758-765.
43. Lampasona, V., and Liberati, D. (2016). Islet autoantibodies. *Current Diabetes Reports*, 16(6): 53.
44. Yu, L., Zhao, Z., and Steck, A. K. (2017). T1D autoantibodies: room for improvement? *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 24(4): 285-291.
45. Yi, B., Huang, G., and Zhou, Z-G. (2015). Current and future clinical applications of zinc transporter-8 in type 1 diabetes mellitus. *Chinese Medical Journal*, 128(17): 2387.
46. Arvan, P., Pietropaolo, M., Ostrov, D., and Rhodes, C. J. (2012). Islet autoantigens: structure, function, localization, and regulation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(8).
47. Eizirik, D. L., Colli, M. L., and Ortis, F. (2009). The role of inflammation in insulinitis and beta-cell loss in type 1 diabetes. *Nature Reviews Endocrinology*, 5(4): 219-26.
48. Agita, A., and Alsagaff, M. T. (2017). Inflammation, immunity, and hypertension. *Acta Medica Indonesiana*, 49(2): 158-165.
49. Krogvold, L., Wiberg, A., Edwin, B., Buanes, T., Jahnsen, F. L., Hanssen, K. F., Larsson, E., Korsgren, O., Skog, O., and Dahl-Jorgensen, K. (2016). Insulinitis and characterisation of infiltrating T cells in surgical pancreatic tail resections from patients at onset of type 1 diabetes. *Diabetologia*, 59(3): 492-501. 75
50. Feduska, J. M., and Tse, H. M. (2018). The proinflammatory effects of macrophage-derived NADPH oxidase function in autoimmune diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*, 125: 81-89.
51. Rodriguez-Calvo, T., Richardson, S. J., and Pugliese, A. (2018). Pancreas pathology during the natural history of type 1 diabetes. *Current Diabetes Reports*, 18(11): 124.
52. Buzzetti, R., Zampetti, S., and Maddaloni, E. (2017). Adult-onset autoimmune diabetes: current knowledge and implications for management. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(11): 674-686.
53. Guthrie, R. A., and Guthrie, D. W. (2004). Pathophysiology of diabetes mellitus. *Critical Care Nursing Quarterly*, 27(2): 113-125.

54. Abiru, N., Kawasaki, E., and Eguchi, K. (2002). Current knowledge of Japanese type 1 diabetic syndrome. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 18(5): 357-66.
55. Kahn, S. E., Cooper, M. E., and Del Prato, S. (2014). Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *The Lancet*, 383(9922): 1068-1083.
56. Chatterjee, S., Khunti, K., and Davies, M. J. (2017). Type 2 diabetes. *The Lancet*, 389(10085): 2239-2251.
57. Stumvoll, M., Goldstein, B. J., and van Haefen, T. W. (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet*, 365(9467): 1333-1346.
58. Gutierrez-Rodelo, C., Roura-Guiberna, A., and Olivares-Reyes, J. A. (2017). Molecular mechanisms of insulin resistance: an update. *Gaceta Medica de Mexico*, 153(2): 214-228.
59. Brereton, M. F., Rohm, M., and Ashcroft, F. M. (2016). Beta-cell dysfunction in diabetes: a crisis of identity? *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 18 Suppl 1: 102-9.
60. White, M. G., Shaw, J. A., and Taylor, R. (2016). Type 2 diabetes: the pathologic basis of reversible beta-cell dysfunction. *Diabetes Care*, 39(11): 2080-2088.
61. Spijker, H. S., Song, H., Ellenbroek, J. H., Roefs, M. M., Engelse, M. A., Bos, E., Koster, A. J., Rabelink, T. J., Hansen, B. C., Clark, A., Carlotti, F., and de Koning, E. J. (2015). Loss of beta-cell identity occurs in Type 2 diabetes and is associated with islet amyloid deposits. *Diabetes*, 64(8): 2928-38. 76
62. Guillausseau, P-J., Meas, T., Virally, M., Laloi-Michelin, M., Médeau, V., and Kevorkian, J-P. (2008). Abnormalities in insulin secretion in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolism*, 34: S43-S48.
63. Bensellam, M., Jonas, J. C., and Laybutt, D. R. (2018). Mechanisms of beta-cell dedifferentiation in diabetes: recent findings and future research directions. *Journal of Endocrinology*, 236(2): 109-143.
64. Marchetti, P. (2016). Islet inflammation in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 59(4): 668-72.
65. Maiorino, M. I., Bellastella, G., Giugliano, D., and Esposito, K. (2017). Cooling down inflammation in type 2 diabetes: how strong is the evidence for cardiometabolic benefit? *Endocrine*, 55(2): 360-365.
66. Mukherjee, A., Morales-Scheihing, D., Butler, P. C. and Claudio, S. (2016). Type 2 diabetes as a protein misfolding disease. *Trends in Molecular Medicine*, 21(7): 439-449.

67. Kahn, S. E. (2003). The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia*, 46(1): 3-19.
68. Zaccardi, F., Webb, D. R., Yates, T., and Davies, M. J. (2016). Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective. *Postgraduate Medical Journal*, 92(1084): 63-9.
69. Czech, M. P. (2017). Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature Medicine*, 23(7): 804-814.
70. Morigny, P., Houssier, M., Mouisel, E., and Langin, D. (2016). Adipocyte lipolysis and insulin resistance. *Biochimie*, 125: 259-66.
71. Yadav, A., Kataria, M. A., Saini, V., and Yadav, A. (2013). Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. *Clinica Chimica Acta*, 417: 80-4.
72. D'Souza A, M., Neumann, U. H., Glavas, M. M., and Kieffer, T. J. (2017). The glucoregulatory actions of leptin. *Molecular Metabolism*, 6(9): 1052-1065.
73. Tchernof, A., and Despres, J. P. (2013). Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiological Reviews*, 93(1): 359-404.
74. Mack, L. R. and Tomich, P. G. (2017). Gestational diabetes: diagnosis, classification, and clinical care. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 44(2): 207-217. 77
75. Chiefari, E., Arcidiacono, B., Foti, D., and Brunetti, A. (2017). Gestational diabetes mellitus: an updated overview. *Journal of Endocrinological Investigation*, 40(9): 899-909.
76. Plows, J. F., Stanley, J. L., Baker, P. N., Reynolds, C. M., and Vickers, M. H. (2018). The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11).
77. Coustan, D. R. (2013). Gestational diabetes mellitus. *Clinical Chemistry*, 59(9): 1310-21.
78. Ashwal, E., and Hod, M. (2015). Gestational diabetes mellitus: where are we now? *Clinica Chimica Acta*, 451: 14-20.
79. Bishay, R. H., and Greenfield, J. R. (2016). A review of maturity onset diabetes of the young (MODY) and challenges in the management of glucokinase-MODY. *Medical Journal of Australia*, 205(10): 480-485.
80. Althari, S. and Gloyn, A. L. (2015). When is it MODY? Challenges in the interpretation of sequence variants in MODY Genes. *Review of Diabetic Studies*, 12(3-4): 330-48.
81. Kleinberger, J. W. and Pollin, T. I. (2015). Undiagnosed MODY: time for action. *Current Diabetes Reports*, 15(12): 110.

82. Leslie, R. D., Palmer, J., Schloot, N. C., and Lernmark, A. (2016). Diabetes at the crossroads: relevance of disease classification to pathophysiology and treatment. *Diabetologia*, 59(1): 13-20.
83. Forbes, J. M. and Cooper, M. E. (2013). Mechanisms of diabetic complications. *Physiological Reviews*, 93(1): 137-88.
84. Westerberg, Dyanne P. (2013). Diabetic ketoacidosis: evaluation and treatment. *American Family Physician*, 87(5): 337-346.
85. Jefferies, C. A., Nakhla, M., Derraik, J. G., Gunn, A. J., Daneman, D., and Cutfield, W. S. (2015). Preventing diabetic ketoacidosis. *Pediatric Clinics of North America*, 62(4): 857-71.
86. Freeland, B. (2017). Hypoglycemia in diabetes mellitus. *Home Healthcare Now*, 35(8): 414-419.
87. Russell, James W. (2014). Diabetic neuropathies. *Continuum*, 20(5): 1226–1240.
88. Bahnasy, W. S., El-Heneedy, Y. A. E., El-Seidy, E. A. S., Labib, N. A. A., and Ibrahim, I. S. E. (2018). Sleep disturbances in diabetic peripheral neuropathy patients: a clinical and polysomnographic study. *Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*, 54(1): 23.
89. Datta, S., Arora, R., Chitra, S., Chakraborty, P., Baidya, A., Biswas, D., and Ghosh, S. (2013). Diabetic neuropathic cachexia in a young female. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 17(1): 333-4.
90. Deli, G., Bosnyak, E., Pusch, G., Komoly, S., and Feher, G. (2013). Diabetic neuropathies: diagnosis and management. *Neuroendocrinology*, 98(4): 267-80.
91. Rajabally, Y. A., Stettner, M., Kieseier, B. C., Hartung, H. P., and Malik, R. A. (2017). CIDP and other inflammatory neuropathies in diabetes-diagnosis and management. *Nature Reviews Neurology*, 13(10): 599-611.
92. Heng, L. Z., Comyn, O., Peto, T., Tadros, C., Ng, E., Sivaprasad, S., and Hykin, P. G. (2013). Diabetic retinopathy: pathogenesis, clinical grading, management and future developments. *Diabetic Medicine*, 30(6): 640-50.
93. Cheung, N., Mitchell, P., and Wong, T. Y. (2010). Diabetic retinopathy. *The Lancet*, 376(9735): 124-136.
94. American Diabetes Association (2003). Peripheral arterial disease in people with Diabetes. *Diabetes Care*, 26(12).
95. Yang, S. L., Zhu, L. Y., Han, R., Sun, L. L., Li, J. X., and Dou, J. T. (2017). Pathophysiology of peripheral arterial disease in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes*, 9(2): 133-140.

96. Bugger, H., and Abel, E. D. (2014). Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy. *Diabetologia*, 57(4): 660-71.
97. Mukherjee, D. (2009). Peripheral and cerebrovascular atherosclerotic disease in diabetes mellitus. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 23(3): 335-345.
98. Hill, M. D. (2014). Stroke and diabetes. *Handbook of Clinical Neurology*, 126: 167-74.
99. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., and Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, 13: 757-772.
100. Bullone, M., and Lavoie, J. P. (2017). The contribution of oxidative stress and inflamm-aging in human and equine asthma. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12). 79
101. Pisoschi, A. M., and Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97: 55-74.
102. Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82: 47–95.
103. Niki, E. (2018). Oxidant-specific biomarkers of oxidative stress. Association with atherosclerosis and implication for antioxidant effects. *Free Radical Biology and Medicine*, 120: 425-440.
104. Kehrer, J. P., and Klotz, L. O. (2015). Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health. *Critical Reviews in Toxicology*, 45(9): 765-98.
105. Reichmann, D., Voth, W., and Jakob, U. (2018). Maintaining a healthy proteome during oxidative stress. *Molecular Cell*, 69(2): 203–213.
106. Vistoli, G., Mantovani, C., Gervasoni, S., Pedretti, A., and Aldini, G. (2017). Key factors regulating protein carbonylation by alpha, beta unsaturated carbonyls: A structural study based on a retrospective meta-analysis. *Biophysical Chemistry*, 230: 20-26.
107. Griffiths, H. R., Møller, L., Bartosz, G., Bast, A., Bertoni-Freddari, C., Collins, A., Cooke, M. Coolen, S., Haenen, G., Hoberg, A. M., Loft, S., Lunec, J., Olinski, R., Parry, J., Pompella, A., Poulsen, H., Verhagen, H., and Astley, S. B. (2002). Biomarkers. *Molecular Aspects of Medicine*, 23: 101-208.
108. Uchida, K. (2013). Redox-derived damage-associated molecular patterns: Ligand function of lipid peroxidation adducts. *Redox Biology*, 1: 94-6.
109. Zhong, H., and Yin, H. (2015). Role of lipid peroxidation derived 4-hydroxynonenal (4-HNE) in cancer: focusing on mitochondria. *Redox Biology*, 4: 193-9.

110. Aghadavod, E., Khodadadi, S., Baradaran, A., Nasri, P., Bahmani, M., and Rafieian-Kopaei, M. (2016). Role of oxidative stress and inflammatory factors in diabetic kidney disease. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 10(6): 337-43.
111. Sanajou, D., Ghorbani H. A., Argani, H., and Aslani, S. (2018). AGE-RAGE axis blockade in diabetic nephropathy: current status and future directions. *European Journal of Pharmacology*, 833: 158-164. 80
112. Xu, N., Chen, G., and Liu, H. (2017). Antioxidative categorization of twenty amino acids based on experimental evaluation. *Molecules*, 22(12).
113. Magee, C., Grieve, D. J., Watson, C. J., and Brazil, D. P. (2017). Diabetic nephropathy: a tangled web to unweave. *Cardiovascular Drugs Therapy*, 31(5-6): 579-592.
114. Ioannou, K. (2017). Diabetic nephropathy: is it always there? assumptions, weaknesses and pitfalls in the diagnosis. *Hormones*, 16(4): 351-361.
115. Eisen, A., Haim, M., Hoshen, M., Balicer, R. D., Reges, O., Leibowitz, M., Iakobishvili, Z., and Hasdai, D. (2017). Estimated glomerular filtration rate within the normal or mildly impaired range and incident non-valvular atrial fibrillation: Results from a population-based cohort study. *European Journal of Preventive Cardiology*, 24(2): 213-222.
116. Gross, J. L., de Azevedo, M. J., Silveiro, S. P., Canani, L. H., Caramori, M. L., and Zelmanovitz, T. (2005). Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care*, 28: 176–188.
117. Giacco, F., and Brownlee, M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation Research*, 107(9): 1058-70.
118. Srivastava, S. P., Shi, S., Koya, D., and Kanasaki, K. (2014). Lipid mediators in diabetic nephropathy. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 7: 12.
119. Kitada, M., Zhang, Z., Mima, A., and King, G. L. (2010). Molecular mechanisms of diabetic vascular complications. *Journal of Diabetes Investigation*, 1(3): 77-89.
120. Lin, Y. C., Chang, Y. H., Yang, S. Y., Wu, K. D., and Chu, T. S. (2018). Update of pathophysiology and management of diabetic kidney disease. *Journal of the Formosan Medical Association*, 117(8): 662-675.
121. Roscioni, S. S., Heerspink, H. J., and de Zeeuw, D. (2014). The effect of RAAS blockade on the progression of diabetic nephropathy. *Nature Reviews Nephrology*, 10(2): 77-87.
122. Arora, M. K. and Singh, U. K. (2013). Molecular mechanism in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Vascular Pharmacology*, 58: 259-271.
123. Kanwar, Y. S., Sun, L., Xie, P., Liu, F. Y., and Chen, S. (2011). A glimpse of various pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *Annual Review of Pathology*, 6: 395-423. 81

124. Amann, K. and Benz, K., (2013). Structural renal changes in obesity and diabetes. *Seminars in Nephrology*, 33(1): 23-33.
125. Baka, S., Malamitsi-Puchner, A., Briana, D. D., Boutsikou, M., Marmarinos, A., Gourgiotis, D., and Boutsikou, T. (2016). Adropin concentrations in term pregnancies with normal, restricted and increased fetal growth. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Med*, 29(15): 2403-7.
126. Lovren, F., Pan, Y., Quan, A., Singh, K. K., Shukla, P. C., Gupta, M., Al-Omran, M., Teoh, H., and Verma, S. (2010). Adropin is a novel regulator of endothelial function. *Circulation*, 122(11 Suppl): S185-92.
127. Loewen, S. P. and Ferguson, A. V. (2017). Adropin acts in the rat paraventricular nucleus to influence neuronal excitability. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 312(4): R511-R519.
128. Zang, H., Jiang, F., Cheng, X., Xu, H., and Hu, X. (2018). Serum adropin levels are decreased in Chinese type 2 diabetic patients and negatively correlated with body mass index. *Endocrine Journal*, 65 (7): 685-691.
129. Grzegorzewska, A. E., Niepolski, L., Mostowska, A., Warchol, W., and Jagodzinski, P. P. (2016). Involvement of adropin and adropin-associated genes in metabolic abnormalities of hemodialysis patients. *Life Sciences*, 160: 41-46.
130. Butler, A. A., St-Onge, M. P., Siebert, E. A., Medici, V., Stanhope, K. L., and Havel, P. J. (2015). Differential responses of plasma adropin concentrations to dietary glucose or fructose consumption in humans. *Scientific Reports*, 5: 14691.
131. Gao, S., McMillan, R. P., Jacas, J., Zhu, Q., Li, X., Kumar, G. K., Casals, N., Hegardt, F. G., Robbins, P. D., Lopaschuk, G. D., Hulver, M. W., and Butler, A. A. (2014). Regulation of substrate oxidation preferences in muscle by the peptide hormone adropin. *Diabetes*, 63(10): 3242-52.
132. Ko J. R., Seo, D. Y., Park, S. H., Kwak, H. B., Kim, M., Ko, K.S., Rhee, B.D., and Han, J. (2018). Aerobic exercise training decreases cereblon and increases AMPK signaling in skeletal muscle of STZ-induced diabetic rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 501: 448-453.
133. Rashed, L. A., Elattar, S., Eltablawy, N., Ashour, H., Mahmoud, L. M., and El-Esawy, Y. (2018). Mesenchymal stem cells pretreated with melatonin ameliorate kidney functions in a rat model of diabetic nephropathy. *Biochemistry and Cell Biology*, 96(5): 564-571. 82
134. Saleh, M. A., Boesen, E. I., Pollock, J. S., Savin, V. J., and Pollock, D. M. (2011). Endothelin receptor A-specific stimulation of glomerular inflammation and injury in a streptozotocin-induced rat model of diabetes. *Diabetologia*, 54(4): 979-88.

135. Altamimi, T. R., Gao, S., Karwi, Q. G., Fukushima, A., Rawat, S., Wagg, C. S., Zhang, L., and Lopaschuk, G. D. (2019). Adropin regulates cardiac energy metabolism and improves cardiac function and efficiency. *Metabolism*, 98: 37-48.
136. Akcilar, R., Kocak, F. E., Simsek, H., Akcilar, A., Bayat, Z., Ece, E., and Kokdasgil, H. (2016). Antidiabetic and hypolipidemic effects of adropin in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Bratislavske Lekarske Listy*, 117(2): 100-5.
137. Dinçer, S. and Gülen, Ş. (2010). Wound tissue malondialdehyde and glutathione levels in leptin treated healthy and diabetic rats. *Erciyes Medical Journal*, 32(3): 161-166.
138. Casini, A. F., Ferrali, M., Pompella, A., Maellaro, E., and Comporti, M. (1986). Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-Intoxicated mice. *American Journal of Psychiatry*, 123 (3): 520-531.
139. Flyvbjerg, A. (2017). The role of the complement system in diabetic nephropathy. *Nature Reviews Nephrology*, 13(5): 311-318.
140. Li, X. Q., Zheng, X., Chen, M., and Zhao, M. H. (2017). Characteristics of diabetic nephropathy patients without diabetic retinopathy: A retrospective observational study. *Medicine (Baltimore)*, 96(18): e6805.
141. Papadopoulou-Marketou, N., Kanaka-Gantenbein, C., Marketos, N., Chrousos, G. P., and Papassotiriou, I. (2017). Biomarkers of diabetic nephropathy: A 2017 update. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 54(5): 326-342.
142. Fan, Y., Lee, K., Wang, N., and He, J. C. (2017). The role of endoplasmic reticulum stress in diabetic nephropathy. *Current Diabetes Reports*, 17(3): 17.
143. Dai, H., Liu, Q., and Liu, B. (2017). Research progress on mechanism of podocyte depletion in diabetic nephropathy. *Journal of Diabetes Research*, 2017: 2615286.
144. Hanefeld, M., Appelt, D., Engelmann, K., Sandner, D., Bornstein, S. R., Ganz, X., Henkel, E., Haase, R., and Birkenfeld, A. L. (2016). Serum and plasma levels of vascular endothelial growth factors in relation to quality of glucose control, biomarkers of inflammation, and diabetic nephropathy. *Hormone and Metabolic Research*, 48(8): 529-34. 83
145. Barman, S., Pradeep, S. R., and Srinivasan, K. (2018). Zinc supplementation alleviates the progression of diabetic nephropathy by inhibiting the overexpression of oxidative-stress-mediated molecular markers in streptozotocin-induced experimental rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 54: 113-129.

146. Rodriguez-Carrizalez, A. D., Castellanos-Gonzalez, J. A., Martinez-Romero, E. C., Miller-Arrevillaga, G., Villa-Hernandez, D., Hernandez-Godinez, P. P., Ortiz, G. G., Pacheco-Moises, F. P., Cardona-Munoz, E. G., and Miranda-Diaz, A. G. (2014). Oxidants, antioxidants and mitochondrial function in non-proliferative diabetic retinopathy. *Journal of Diabetes*, 6(2): 167-75.
147. Hazman, O., and Bozkurt, M. F. (2015). Anti-inflammatory and antioxidative activities of safranal in the reduction of renal dysfunction and damage that occur in diabetic nephropathy. *Inflammation*, 38(4): 1537-45.
148. Karatug, A., Kaptan, E., Bolkent, S., Mutlu, O., and Yanardag, R. (2013). Alterations in kidney tissue following zinc supplementation to STZ-induced diabetic rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 27(1): 52-7.
149. Umapathy, D., Krishnamoorthy, E., Mariappanadar, V., Viswanathan, V., and Ramkumar, K. M. (2018). Increased levels of circulating (TNF- α) is associated with (-308G/A) promoter polymorphism of TNF- α gene in diabetic nephropathy. *International Journals of Biological Macromolecules.*, 107: 20113-20121.
150. Chen, Y. L., Qiao, Y. C., Xu, Y., Ling, W., Pan, Y. H., Huang, Y. C., Geng, L. J., Zhao, H. L., and Zhang, X. X. (2017). Serum TNF-alpha concentrations in type 2 diabetes mellitus patients and diabetic nephropathy patients: A systematic review and meta-analysis. *Immunology Letters*, 186: 52-58.
151. Gupta, S., Mehndiratta, M., Kalra, S., Kalra, O. P., Shukla, R., and Gambhir, J. K. (2015). Association of tumor necrosis factor (TNF) promoter polymorphisms with plasma TNF- α levels and susceptibility to diabetic nephropathy in North Indian population. *Journal of Diabetes and its Complications*, 29: 338-342.
152. Yang, J., Kan, M., and Wu, G. Y. (2016). Bergenin ameliorates diabetic nephropathy in rats via suppressing renal inflammation and TGF-beta1-Smads pathway. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 38(2): 145-52.
153. Malik, S., Suchal, K., Khan, S. I., Bhatia, J., Kishore, K., Dinda, A. K., and Arya, D. S. (2017). Apigenin ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via MAPK-NF-kappaB-TNF-alpha and TGF-beta1-MAPK-fibronectin pathways. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 313(2): F414-F422. 84
154. Tutun, B., Elbe, H., Vardi, N., Parlakpinar, H., Polat, A., Gunaltili, M., Guclu, M. M., and Yasar, E. N. (2019). Dexpantenol reduces diabetic nephropathy and renal oxidative stress in rats. *Biotechnic and Histochemistry*, 94(2): 84-91.
155. Haller, H., Ji, L., Stahl, K., Bertram, A., and Menne, J. (2017). Molecular mechanisms and treatment strategies in diabetic nephropathy: New Avenues for Calcium Dobesilate-Free Radical Scavenger and Growth Factor Inhibition. *BioMed Research International*, 2017: 1909258.

156. Huang, H., Hu, L., Lin, J. Zhu, X., Cui, W., and Xu, W. (2015). Effect of fosinopril on chemerin and VEGF expression in diabetic nephropathy rats. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(9): 11470-11474.
157. Kitada, M., Ogura, Y., and Koya, D., (2016). Rodent models of diabetic nephropathy: their utility and limitations. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 9: 279-290.
158. Wen, D., Huang, X., Zhang, M., Zhang, L., Chen, J., Gu, Y., and Hao, C. M. (2013). Resveratrol attenuates diabetic nephropathy via modulating angiogenesis. *PLoS One*, 8(12): e82336.
159. Li, B., Yao, J., Kawamura, K., Oyanagi-Tanaka, Y., Hoshiyama, M., Morioka, T., Gejyo, F., Uchiyama, M., and Oite, T. (2004). Real-time observation of glomerular hemodynamic changes in diabetic rats: effects of insulin and ARB. *Kidney International*, 66(5): 1939-48.
160. Sato, K., Yamashita, T., Shirai, R., Shibata, K., Okano, T., Yamaguchi, M., Mori, Y., Hirano, T., and Watanabe, T. (2018). Adropin contributes to anti-atherosclerosis by suppressing monocyte-endothelial cell adhesion and smooth muscle cell proliferation. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5): 1293
161. Yosae, S., Khodadost, M., Esteghamati, A., Speakman, J. R., Shidfar, F., Nazari, M. N., Bitarafan, V., and Djafarian, K. (2017). Metabolic syndrome patients have lower levels of adropin when compared with healthy overweight/obese and lean subjects. *American Journal of Men's Health*, 11(2): 426-434.
162. Aydın, S., Kuloglu, T., and Aydın, S. (2013). Copeptin, adropin and irisin concentrations in breast milk and plasma of healthy women and those with gestational diabetes mellitus. *Peptides*, 47: 66-70.
163. Gao, S., McMillan, R. P., Zhu, Q., Lopaschuk, G. D., Hulver, M. W., and Butler, A. A. (2015). Therapeutic effects of adropin on glucose tolerance and substrate utilization in diet-induced obese mice with insulin resistance. *Molecular Metabolism*, 4(4): 310-24. 85
164. Marie-Pierre, S-O., Shechter, A., Shlisky, J., Tam, C. Gao, S., Ravussin, E., and Butler, A. A. (2014). Fasting plasma adropin concentrations correlate with fat consumption in human females. *Obesity*, 22(4): 1056-1063.
165. Wu, L., Fang, J., Yuan, X., Xiong, C., and Chen, L. (2019). Adropin reduces hypoxia/reoxygenation-induced myocardial injury via the reperfusion injury salvage kinase pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 18(5): 3307-3314.

166. Yang, C., DeMars, K. M., and Candelario-Jalil, E. (2018). Age-Dependent Decrease in Adropin is associated with reduced levels of endothelial nitric oxide synthase and increased oxidative stress in the rat brain. *Aging and Disease*, 9(2): 322-330.
167. Chen, X., Xue, H., Fang, W., Chen, K., Chen, S., Yang, W., Shen, T., Chen, X., Zhang, P., and Ling, W. (2019). Adropin protects against liver injury in nonalcoholic steatohepatitis via the Nrf2 mediated antioxidant capacity. *Redox Biology*, 21: 101068.





EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 12/11/2018-E.150283



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Çiğdem ÖZER
Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Çiğdem ÖZER, Fathia HUSSEN MOHAMED MOHAMED, Saadet Özen AKARCA DİZAKAR, Suna ÖMEROĞLU, Çağrı Alp DÜZ, Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN, Ahmet Hulusi YEŞİL ve Duygu TOZCU'dan oluşan, G.Ü.ET-18.064 kod numaralı ve "*Diyabetik Sıçanlarda Sistemik Adropin Uygulamasının Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-18.064 and entitled "*The Effects of Systemic Adropin Treatment on Cardiovascular System in Diabetic Rats*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Sıçan Wistar Albino
Hayvan Sayısı : 58

Ek:1 Liste



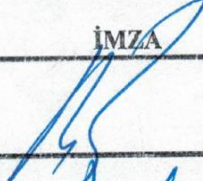
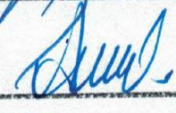
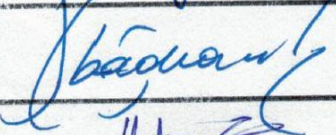
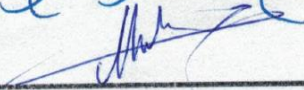
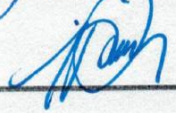
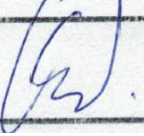
Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/

Bilgi için :Burak Çitrak
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:0312 229 78 00

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-1. (devam) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ :27/072018		TOPLANTI SAYISI : 07	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU		KATILMADI	
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Doç.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Doç.Dr.Süleyman YEŞİL		KATILMADI	
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Doç.Dr.İpek SÜNTAR			
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR		KATILMADI	
Vet.Hek.Burcu AVCI		KATILMADI	
Osman İÇ			

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : DÜZ, Çağrı Alp
 Uyuğu : T.C.
 Doğum Tarihi ve Yeri : 02/08/1991, Çankaya/Ankara
 Medeni Hali : Bekâr
 Telefon : 0 553 209 54 30
 e-posta : cagrialpd@hotmail.com



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/Fizyoloji AD	Devam Ediyor
Lisans	Pamukkale Üniversitesi/ Fizyoterapi ve Rehabilitasyon	2015
Lise	Bahçelievler Anadolu Lisesi	2009

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

1. Çiğdem ÖZER, Çağrı Alp DÜZ, Duygu TOZCU, Burcu SIRMATEL (2018) Resveratrol'un Diyabetik Sıçanların Testis Dokusunda Oksidatif Stres Üzerine Etkisi (Poster Bildirisi). 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Antalya.

Katıldığı Kurs ve Kongreler

1. Mulligan Konsept (14-17 Temmuz 2016)
2. Gazi Üniversitesi, 22. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu (15-23 Mayıs 2018)
3. 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi (1-4 Kasım 2018)



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...