

**STREPTOZOTOSİN İLE TİP 1 DİYABET
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA LİKEN
EKSTRAKTLARININ BÖBREK
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Tülay ÖZHAN BAKIR

**Doktora Tezi
Prof.Dr. Fatime GEYİKOĞLU
Biyoloji Anabilim Dalı
2012
Her hakkı saklıdır.**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**STREPTOZOTOSİN İLE TİP 1 DİYABET OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA LİKEN EKSTRAKTLARININ
BÖBREK ÜZERİNE ETKİLERİ**

Tülay ÖZHAN BAKIR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZURUM

2012

Her Hakkı Saklıdır.



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**STREPTOZOTOSİN İLE TİP 1 DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA LİKEN
EKSTRAKTLARININ BÖBREK ÜZERİNE ETKİLERİ**

Prof. Dr. **Fatime GEYİKOĞLU** danışmanlığında, **Tülay ÖZHAN BAKIR** tarafından hazırlanan bu çalışma 18/04/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

İmza :

Üye : Prof. Dr. Salih DOĞAN

İmza :

Üye : Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Ali ASLAN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Turgay ŞİŞMAN

İmza :

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: 2010/273

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

STREPTOZOTOSİN İLE TİP 1 DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA LİKEN EKSTRAKTLARININ BÖBREK ÜZERİNE ETKİLERİ

Tülay ÖZHAN BAKIR

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda böbrek dokusu üzerine ilk defa *Cetraria islandica* ve *Pseudevernia furfuracea* liken türlerinin etkileri araştırıldı. Bu amaçla, Sprague-Dawley cinsi 10 grup sıçan kullanıldı (n=7). Kontrol grupları ve tek başına liken diyeti verilen gruplar hariç diğer beş grupta 50 mg/kg tek doz intraperitoneal (IP) STZ enjeksiyonu ile diyabet modeli geliştirildi. Diyabet oluşumunu takiben sulu liken ekstraktları 5-500 mg/kg doz aralığında 14 gün boyunca hayvanlara IP yoluyla verildi. Deneme süresince hayvanların vücut ağırlıkları, yem ile su tüketimleri ve kanlarındaki şeker seviyesi tespit edildi. Daha sonra hayvanlar sakrifiye edilerek böbrekleri çıkarıldı. Böbrek dokusundaki histolojik değişiklikler Hematoksilen-Eozin (H&E), Periyodik Asit Schiff (PAS), Masson Trikrom ve Amiloid boyama yöntemleri kullanılarak değerlendirildi. Diğer taraftan, biyokimyasal metotlar kullanılarak hücresel antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler tespit edildi. Oksidatif stres düzeyinin belirlenebilmesi için de malondialdehit (MDA) seviyesi ölçüldü. Diyabetli grupta vücut ağırlıklarının belirgin bir şekilde azaldığı, tüketilen yem ve su miktarları ile kan şeker seviyesinin kontrol grubuna kıyasla belirgin bir şekilde arttığı gözlemlendi. Bu grupta, antioksidan enzimlerin aktivitesinin azaldığı ancak MDA düzeyinin artmasıyla yoğun bir oksidatif stresin olduğu ve böbrek dokusunda belirgin histopatolojik anormalliklerin ortaya çıktığı görüldü. Farklı dozlarda tek başlarına uygulanan liken ekstraktlarının çalışılan parametreler üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye sahip olmadığı tespit edildi. *Pseudevernia furfuracea* sulu ekstraktı (PFSE) ile kıyaslandığında *Cetraria islandica* sulu ekstraktı (CISE)'nin diyabetik hayvanlarda antioksidan savunmayı kısmen destekleyerek, MDA düzeyini önemsiz bir şekilde azalttığı bununla birlikte böbrek patolojisi üzerinde tedavi edici bir etkisinin bulunmadığı anlaşıldı. Sonuç olarak, CISE'nin diyabetli hayvanlar ve böbrekleri üzerinde yeterince tedavi edici özelliğinin olmadığı kanaatine varıldı.

2012, 180 sayfa

Anahtar Kelimeler: Tip 1 diyabet, böbrek, liken, oksidatif stres, antioksidan kapasite, streptozotosin

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

THE EFFECTS OF LICHEN EXTRACTS ON KIDNEY IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED TYPE 1 DIABETIC RATS

Tülay ÖZHAN BAKIR

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

In this study, the effects of two lichen species, *Cetraria islandica* and *Pseudevernia furfuracea* were firstly investigated on STZ-induced diabetic rat kidney tissue. Ten groups Sprague-Dawley rats were used (n=7) for this purpose. The diabetes model was developed by the injection of 50 mg/kg single intraperitoneal dose of streptozotocin (STZ) on the five groups except for control and lichen diet alone. Following the formation of diabetes, water extracts of lichen from 5 to 500 mg/kg dose range were given to rats by intraperitoneal injection for fourteen days. Duration trial, body weight of animals, feed and water consumption and blood sugar levels were determined. At the end of these processes, the animals were sacrificed and kidney tissue were excised by dissection. Histological changes of kidney tissue were evaluated by using Haematoxylen-Eosin (H&E), Periodic Acid Schiff (PAS), Masson Trichrom and Amyloid staining methods. On the other hand, the changes in the cellular antioxidant defense system were evaluated by using biochemical methods. Malondialdehyde (MDA) levels were measured to determine the level of oxidative stress. It was observed that body weight significantly decreased in diabetic group and water and feed consumption levels and blood sugar levels were increased significantly in comparison to that the control group. In this group, it was shown that the activity of antioxidant enzymes decreased but an intense oxidative stress occurred by increasing levels of MDA and histopathological abnormalities were seen to occur in kidney tissue. Different doses of the lichen extracts alone did not demonstrate negative effect on the studied parameters. It was found that CISE insignificantly decreased MDA levels by partially supporting an antioxidant defense compared to PFSE in diabetic rats and have no therapeutic effects on kidney pathology. As a result, it was concluded that CISE has no enough therapeutic feature on diabetic animals and their kidney tissue.

2012, 180 pages

Keywords: Type 1 diabetes, kidney, lichen, oxidative stress, antioxidant capacity, streptozotocin

TEŞEKKÜR

Gerek doktora eğitimim süresince gerekse sosyal hayatımda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım çok kıymetli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU'na

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ'e; çalışma materyali olarak kullandığım likenlerin teminini sağlayan Sayın Doç. Dr. Ali ASLAN'a; biyokimya çalışmalarımda yardımlarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Serkan ERDAL'a; laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen laboratuvar arkadaşlarıma,

Yaşamıma girdiği andan itibaren hep yanımda olan, hayatı paylaşmaktan mutluluk duyduğum ve bu zorlu süreçte varlığıyla güç bulduğum çok değerli eşim Murat BAKIR'a,

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, daima yanımda olan sevgili babam Hüseyin ÖZHAN'a, annem Belkıs ÖZHAN'a ve kardeşlerim H. Mehmet ÖZHAN, Mustafa ÖZHAN ve Mehmet ÖZHAN'a ayrıca eşimin ailesine gösterdikleri özveriden dolayı, sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Tülay ÖZHAN BAKIR

Nisan 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Diabetes Mellitus.....	1
1.1.1. Tanım.....	1
1.1.2. Tarihçe.....	2
1.1.3. Diabetes mellitus'un tanısı	3
1.1.4. Diabetes mellitus' un komplikasyonları.....	3
1.1.5. Diabetes mellitus'un sınıflandırılması.....	4
1.1.5.a. Tip 1 diyabet (İnsüline bağımlı Diabetes Mellitus = IDDM).....	7
1.1.5.b. Tip 2 diyabet (İnsüline bağımlı olmayan Diabetes Mellitus = NIDDM)	10
1.1.5.c. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM).....	12
1.1.5.d. Deneyssel diyabet	13
1.1.6. Kimyasal diyabet oluşturma yöntemleri.....	14
1.1.7. Diyabet sıklığını etkileyen faktörler.....	16
1.2. Pankreas Anatomisi ve Histolojisi	17
1.2.1. İnsülinin yapısı	19
1.2.2. İnsülinin etki mekanizması.....	20
1.3. Serbest Radikaller (SR)	21
1.3.1. Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri	23
1.3.1.a. Membran lipitleri üzerine etkileri (Lipit peroksidasyonu)	24
1.3.1.b. Proteinler üzerine etkileri	25
1.3.1.c. Karbohidratlar üzerine etkileri.....	26
1.3.1.d. Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri.....	26
1.4. Diabetes mellitus ve oksidatif stres	26

1.5. Antioksidan Savunma Sistemi.....	31
1.5.1. Diyabette antioksidan mekanizmalar	33
1.5.2. Antioksidan enzimler	34
1.5.2.a. Enzimatik antioksidanlar	35
1.5.2.b. Enzimatik olmayan antioksidanlar	37
1.6. Böbrek	40
1.6.1. Anatomisi	40
1.6.2. Histolojisi	42
1.6.3. Fizyolojisi.....	47
1.6.4. Böbreğin endokrin fonksiyonları.....	49
1.7. Diyabetik Nefropati (DN)	50
1.7.1. Diyabetik nefropati bulguları	56
1.8. Likenlerin Genel Yapısı	57
1.8.1. Liken bileşenleri	59
1.8.2. Likenlerin sınıflandırılması	59
1.8.3. Likenler ve antioksidan özellikleri	63
1.8.4. Likenlerin kullanım alanları	63
1.8.5. <i>Cetraria islandica</i> (L.) Ach.....	65
1.8.6. <i>Pseudevernia furfuracea</i> (L.) Zopf var. <i>furfuracea</i>	67
2. KAYNAK ÖZETLERİ	70
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	78
3.1. Materyal.....	78
3.1.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer	78
3.1.2. Deneklerin Seçimi	78
3.1.3. Deney bitkilerinin temini ve teşhisi.....	78
3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler	79
3.1.5. Kullanılan aletler ve cihazlar.....	79
3.1.6. Kullanılan boya ve çözeltilerin hazırlanması	80
3.2. Yöntem	82
3.2.1. Deney ve kontrol gruplarını belirlenmesi.....	82
3.2.2. Bitki ekstraktlarının hazırlanması	85
3.2.3. Sıçanlarda deneysel diyabet modelinin oluşturulması	86

3.2.4. Vücut ağırlığı ölçümü.....	87
3.2.5. Su ve yem miktarlarının ölçülmesi.....	87
3.2.6. Kan glukoz düzeyleri ölçümü.....	87
3.2.7. Antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeyinin belirlenmesi.....	87
3.2.7.a. Doku homojenatlarının hazırlanması.....	87
3.2.7.b. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin belirlenmesi	88
3.2.7.c. Total glutatyon (GSH) miktarı ölçümü:	89
3.2.7.d. Lipid peroksidasyonunun (LPO) belirlenmesi	89
3.2.8. Böbrek diseksiyonu	90
3.2.9. Histolojik işlemler	91
3.3. Verilerin değerlendirilmesi.....	95
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	96
4.1. Vücut Ağırlığı, Yem Tüketimi ve Su Tüketimi Profilleri	96
4.2. Kan Glukoz Seviyeleri	99
4.3. Biyokimyasal Bulgular	102
4.4. Histopatolojik Bulgular	108
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	148
KAYNAKLAR	160
EKLER.....	180
EK 1.....	180
ÖZGEÇMİŞ	181

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat Derece
cc	Santimetreküp (= mililitre)
cm	Santimetre
dk	Dakika
dL	Desilitre
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mmol	Milimol
nmol	Nanomol
μ	Mikron
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
%	Yüzde değer

Kısaltmalar

ADA	American Diabetes Association
ADH	Antidiüretik Hormon
AGE	İleri Glukozilasyon Son Ürünleri
AKŞ	Açlık Kan Şekeri
AÜHAYDEK	Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi Etik Kurulu
ATP	Adenozin Trifosfat

CAT	Katalaz
CISE	<i>Cetraria islandica</i> Sulu Ekstraktı
DM	Diabetes Mellitus
DN	Diyabetik Nefropati
DNA	Deoksiribonükleik Asit
GDM	Gestasyonel Diabetes Mellitus
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GST	Glutasyon s Transferaz
IDDM	Insulin Dependent Diabetes Mellitus (İnsülin Bağımlı Diyabet)
IP	İntraperitoneal
IRS1	Tirozin Kinaz Reseptör Substrat 1
IV	İntravenoz
LPO	Lipid Peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
MPx	Miyeloperoksidaz
NIDDM	Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus (İnsülin Bağımlı Olmayan Diyabet)
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
PFSE	<i>Pseudevernia furfuracea</i> Sulu Ekstraktı
PKC	Protein Kinaz C
RNA	Ribonükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
SC	Subkutanoz
SR	Serbest Radikal
STZ	Streptozotosin
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Pankreas anatomisi	18
Şekil 1.2. Pankreastan insülin salgılanmasının mekanizması	20
Şekil 1.3. Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri.....	24
Şekil 1.4. Artmış oksidatif stresin sonuçları	28
Şekil 1.5. DM’de artmış oksidatif stresin mekanizması.	29
Şekil 1.6. Poliol yolu.....	31
Şekil 1.7. SR’lere karşı hücrel savunma.....	33
Şekil 1.8. Antioksidan sistemler	34
Şekil 1.9. Böbrek histolojisi.....	41
Şekil 1.10. Nefronun yapısı	44
Şekil 1.11. Nefronun yapısı ve idrar oluşumu	49
Şekil 1.12. DN’nin etki mekanizması.....	50
Şekil 1.13. Proksimal tübül hücrelerinin normal fonksiyonu ve erken diyabetik nefropati aşamasında hücreler etrafındaki yapısal değişiklikler	52
Şekil 1.14. Diyabetik nefropatinin gelişim aşamaları.....	53
Şekil 1.15. <i>Cetraria islandica</i> (L.) Ach likeninin doğal ortamındaki görünümü	66
Şekil 1.16. <i>Pseudevernia furfuracea</i> (L.) Zopf var. <i>furfuracea</i> likeninin doğal ortamındaki görünümü	67
Şekil 3.1. Soxhlet ekstraksiyon düzeneği	86
Şekil 4.1. Çalışma kapsamındaki sıçanların vücut ağırlıklarının zamana bağlı değişimi	97
Şekil 4.2. Çalışma kapsamındaki sıçanların su tüketim miktarlarının zamana bağlı değişimi	98
Şekil 4.3. Çalışma kapsamındaki sıçanların yem tüketim miktarlarının zamana bağlı değişimi	98
Şekil 4.4. CISE uygulanan gruplara ait kan glukoz değerlerinin zamana bağlı değişimi	101
Şekil 4.5. PFSE uygulanan gruplara ait kan glukoz değerlerinin zamana bağlı değişimi	102
Şekil 4.6. CISE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının SOD değerleri.....	105
Şekil 4.7. CISE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının GSH değerleri.....	105
Şekil 4.8. CISE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının MDA değerleri.....	106
Şekil 4.9. PFSE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının SOD değerleri.....	107
Şekil 4.10. PFSE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının GSH değerleri.....	107
Şekil 4.11. PFSE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının MDA değerleri.....	108
Şekil 4.12. Kontrol grubu normal böbrek histolojisi.	109
Şekil 4.13. Kontrol grubu böbrek medulla bölgesi normal yapıda proksimal tübül ve distal tübül görülmektedir	109

Şekil 4.14. STZ grubunda mezenşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, diffüz glomerüloskleröz, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu görülmektedir.	110
Şekil 4.15. STZ grubunda diffüz glomerüloskleröz, mezenşial matriks artışı ve ayırt edilemeyen Bowman mesafesi görülmektedir. Ayrıca tübüler dilatasyonlarda devam etmektedir.....	110
Şekil 4.16. STZ grubu böbrek dokusunda interstisyel fibrözis ve tübüler atrofi görülmektedir.	111
Şekil 4.17. STZ grubunda kontrollerle karşılaştırıldığında interstisyel fibrözis, lenfosit infiltrasyonu, tübüler dilatasyon ve tübüler atrofi belirgin bir şekilde görülmektedir.	111
Şekil 4.18. STZ grubunda arterioskleröz ve tübüllerde hipertrofi görülmektedir.	112
Şekil 4.19. STZ grubunda interstisyel bağdoku artışı ve interstisyel fibrözis'in yanı sıra çok belirgin olarak tübüler atrofi görülmektedir.	112
Şekil 4.20. STZ grubuna ait böbrek dokusunun medulla bölgesinde belirgin bir konjesyon görülmektedir.	113
Şekil 4.21. STZ grubu böbrek medulla bölgesinde kontrolle karşılaştırıldığında tübül lümeninde protein birikimi görülmektedir.	113
Şekil 4.22. STZ grubu böbrek dokusunda glomerülusta mezenşimal matriks artışı ve Bowman mesafesinde daralma devam etmektedir. Ayrıca glomerülusta nodüler glomerüloskleröz (Kimmelstiel-Wilson nodülü) ve çapı artmış arteriolde skleröz görülmektedir.	114
Şekil 4.23. STZ+250 mg/kg CISE grubunda diyabet grubunda olduğu gibi glomerülusta mezenşimal matriks artışı ve Bowman mesafesinde daralma görülmektedir. Diyabet grubuna kıyasla azalan konjesyon dikkat çekmektedir.	115
Şekil 4.24. STZ+250 mg/kg CISE grubunda diyabet grubuna kıyasla azalan glukojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübüller ve konjesyon dikkat çekmektedir.	115
Şekil 4.25. STZ+250 mg/kg CISE grubuna ait böbrek dokusunda glomerülusta mezenşimal matriks artışı ve ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, arterioskleröz ve dilatasyonlar görülmektedir. Ancak diyabet grubuna kıyasla konjesyonun azaldığı gözlenmektedir.....	116
Şekil 4.26. STZ+250 mg/kg CISE grubuna ait böbrek medulla bölgesinde diyabet grubuna kıyasla azalan lenfosit infiltrasyonu görülmektedir.	116
Şekil 4.27. STZ+250 mg/kg PFSE grubuna ait böbrek dokusunda kontrol grubuna kıyasla mezenşimal matriks artışı ve ayırt edilemeyen Bowman mesafesi görülmektedir.	117
Şekil 4.28. STZ+250 mg/kg PFSE grubunun medulla bölgesinde diyabet grubuna kıyasla azalan konjesyon görülmektedir.	118
Şekil 4.29. STZ+250 mg/kg PFSE grubunda kontrolle karşılaştırıldığında glomerülusta mezenşimal matriks artışı ve ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, glomerülusta nodüler glomerüloskleröz (Kimmelstiel-Wilson nodülü) görülmektedir. Ayrıca diyabet grubuna kıyasla azalan konjesyon ve tübüler dilatasyon da gözlenmektedir	118

Şekil 4.30.	STZ+250 mg/kg PFSE grubunda kontrolle karşılaştırıldığında interstisyel fibrözis, glikojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübül (Armani-Ebstein lezyonları) ve tübüler dejenerasyon görülmektedir.	119
Şekil 4.31.	Kontrol grubu normal böbrek histolojisi.	120
Şekil 4.32.	Kontrol grubunda böbrek medulla bölgesi normal yapıda proksimal ve distal tübüller, arteriol, tübül epiteli fırçamsı kenarları ve tübül bazal membranı görülmektedir.	120
Şekil 4.33.	STZ grubunda kontrolle kıyaslandığında interstisyel bağdoku artışı ve interstisyel fibrözis, tübül epiteline ödem ve Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması görülmektedir.	121
Şekil 4.34.	STZ grubunda glomerülusta mezenşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi ve interstisyel fibrözis belirgin bir şekilde görülmektedir.	121
Şekil 4.35.	STZ grubunda interstisyel fibrözis'in belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir.	122
Şekil 4.36.	STZ grubunda glomerülusta mezenşimal matriks artışı, çapı artmış damarda skleröz, Bowman kapsülünün parietal yaprağında kalınlaşma, tübüllerde dilatasyon görülmektedir. Ayrıca tübüllerde ve Bowman kapsülünde dejenerasyonun arttığı gözlenmektedir.	122
Şekil 4.37.	STZ grubu böbrek medulla kısmında çok belirgin bir konjesyon ve ayrıca glikojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübül (Armani-Ebstein lezyonları) görülmektedir.	123
Şekil 4.38.	STZ grubu böbrek medulla kısmında tübül lümeninde protein birikimi ve tübül bazal membran kalınlaşması görülmektedir.	123
Şekil 4.39.	STZ grubunda glomerüluslarda mezenşimal matriks artışı, Bowman kapsülü parietal yaprağında kalınlaşmanın arttığı ve tübüler atrofi görülmektedir.	124
Şekil 4.40.	STZ grubunun böbrek medulla bölgesinde kontrole kıyasla tübül lümeninde belirgin bir hiyalinleşmiş atık birikimi görülmektedir ve ayrıca tübüler dilatasyonlar dikkat çekmektedir.	124
Şekil 4.41.	STZ grubuna ait böbrek medulla bölgesinde tübül lümeninde protein birikimi, lenfosit infiltrasyonu ve tübüllerde hipertrofi görülmektedir.	125
Şekil 4.42.	STZ grubunda çapı artmış damarda skleröz, lenfosit infiltrasyonu, Bowman kapsülünün parietal yaprağında kalınlaşma ve tübüler dilatasyon ve atrofi görülmektedir. Ayrıca tübüllerde ve Bowman kapsülünde dejenerasyonun arttığı gözlenmektedir.	125
Şekil 4.43.	STZ grubuna ait böbrek dokusunda glomerülusta mezenşimal matriks artışı ve ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, Bowman kapsülü parietal yaprağında kalınlaşma, tübül bazal membranında kalınlaşma, konjesyon ve arterioskleröz görülmektedir.	126
Şekil 4.44.	STZ+250 mg/kg CISE grubunda, diyabet grubuna kıyasla glomerulus mezenşimal matrikste, interstisyel fibröziste, tübüllerdeki glikojen birikiminde (Armani-Ebstein lezyonları) azalmalar görülmektedir. Fakat Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması devam etmektedir.	127
Şekil 4.45.	STZ+250 mg/kg CISE grubuna ait böbrek dokusunda diyabet grubuna kıyasla azalan interstisyel fibrözis, lenfosit infiltrasyonu ve glikojenik	

vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübüller (Armani-Ebstein lezyonları) görülmektedir.	127
Şekil 4.46. STZ+250 mg/kg CISE grubuna ait böbrek medulla bölgesinde diyabete kıyasla bazı tübüllerde azalan glukojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübüller (Armani-Ebstein lezyonları) ve tübüler dilatasyon görülmektedir.	128
Şekil 4.47. STZ+250 mg/kg CISE grubunda Bowman kapsülünün parietal yaprağı kalınlaşması ve bazı tübüllerde atrofi, dilatasyon görülmektedir.	128
Şekil 4.48. STZ+250 mg/kg CISE grubunda diyabet grubuyla karşılaştırıldığında tübüler dilatasyon ve atrofide azalmalar görülmektedir. Fakat glomerulus Bowman kapsülünde dejenerasyon ve bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması devam etmektedir.	129
Şekil 4.49. STZ+250 mg/kg PFSE grubuna ait böbrek dokusunda kontrole karşılaştırıldığında glomerül mezenşimal matriks artışı, damar çapında artış ve skleröz, Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması, lenfosit infiltrasyonu görülmektedir.	130
Şekil 4.50. STZ+250 mg/kg PFSE grubunda tübül lümeninde hiyalinleşmiş atık birikimi, tübül bazal membranında kalınlaşma, bazı tübüllerde hipertrofi ve tübül lümenlerinde daralma görülmektedir.	130
Şekil 4.51. STZ+250 mg/kg PFSE grubunun böbrek medulla bölgesinde tübül lümeninde hiyalinleşmiş atık birikimi görülmektedir.	131
Şekil 4.52. STZ+250 mg/kg PFSE grubunda kontrole kıyasla damar çapında artma ve skleröz, Bowman kapsülü parietal yaprağında kalınlaşma, lenfosit infiltrasyonu ve bazı tübül epitellerinin fırçamsı kenarlarında ayrılma ve bozulmalar görülmektedir.	131
Şekil 4.53. Kontrol grubu normal böbrek histolojisi.	132
Şekil 4.54. Kontrol grubu böbrek medulla bölgesi normal histolojisi.	133
Şekil 4.55. STZ grubu böbrek dokusunda kontrole kıyasla glomerulus içinde ve damar etrafında kollogen lif miktarında artış görülmektedir.	133
Şekil 4.56. STZ grubu böbrek medulla bölgesinde kollagen lif.	134
Şekil 4.57. STZ grubunun böbrek dokusunda kontrole kıyasla kollagen lif miktarında artış ve eritrositler görülmektedir.	134
Şekil 4.58. STZ grubu böbrek dokusunda kontrollere kıyasla glomerulus içinde ve damar etrafında kollagen lif miktarında artış görülmektedir.	135
Şekil 4.59. STZ grubunun böbrek dokusunda kontrole kıyasla kollagen lif miktarında artış görülmektedir.	135
Şekil 4.60. STZ grubunun böbrek dokusunda kontrole kıyasla kollagen lif miktarında artış görülmektedir.	136
Şekil 4.61. STZ+250 mg/kg CISE grubunun böbrek dokusunda diyabetle karşılaştırıldığında glomerulus içinde ve damar etrafında kollagen lif miktarında azalma görülmektedir.	137
Şekil 4.62. STZ+250 mg/kg CISE grubunun böbrek dokusunda diyabetle karşılaştırıldığında kollagen lif miktarında azalma görülmektedir.	137
Şekil 4.63. STZ+250 mg/kg CISE grubu böbrek dokusunda diyabet grubuyla karşılaştırıldığında glomerulus ve damar etrafında kollagen lif miktarında azalma görülmektedir.	138

Şekil 4.64. STZ+250 mg/kg CISE grubu böbrek dokusunda diyabet grubuyla karşılaştırıldığında interstisiyel dokuda kollagen lif miktarında azalma görülmektedir.	138
Şekil 4.65. STZ+250 mg/kg PFSE grubunun böbrek dokusunda kontrollerle karşılaştırıldığında glomerulus içinde ve damar etrafında kollagen lif görülmektedir.	139
Şekil 4.66. STZ+250 mg/kg PFSE grubu böbrek dokusunda kollagen lif ve glomerulus mezenşimal matriksinde artış görülmektedir.	140
Şekil 4.67. Kontrol grubu normal böbrek histolojisi.	141
Şekil 4.68. Kontrol grubu böbrek medulla bölgesi normal histolojisi.	141
Şekil 4.69. STZ grubunun böbrek dokusunda amiloid birikimi, glomerulusta mezenşimal matriks artışı ve arterioskleröz görülmektedir.	142
Şekil 4.70. STZ grubuna ait böbrek medulla dokusunda amiloid proteini birikimi görülmektedir.	142
Şekil 4.71. STZ grubunda kontrole kıyasla amiloid birikimi görülmektedir.	143
Şekil 4.72. STZ grubunun böbrek dokusunda glomerulus içinde ve interstisiyel dokuda amiloid birikimi ayrıca mezenşim artışı ve Bowman mesafesinde daralma görülmektedir.	143
Şekil 4.73. STZ grubunun böbrek dokusunda glomerulus içinde ve interstisiyel dokuda amiloid birikimi ayrıca mezenşim artışı ve Bowman mesafesinde daralma görülmektedir.	144
Şekil 4.74. STZ+250 mg/kg CISE grubunda glomeruluslarda kontrole kıyasla belirgin bir şekilde amiloid birikimi ayrıca arterioskleröz, konjesyon ve mezenşimal matriks artışı görülmektedir.	145
Şekil 4.75. STZ+250 mg/kg CISE grubunun böbrek medulla dokusunda amiloid birikimi görülmektedir.	145
Şekil 4.76. STZ+250 mg/kg PFSE grubunda böbrek dokusunda kontrole kıyasla glomerulusta mezenşimal matriks artışı, amiloid birikimi ve arterioskleröz görülmektedir.	146
Şekil 4.77. STZ+250 mg/kg PFSE grubunun böbrek medulla bölgesinde kontrole kıyasla amiloid birikimi görülmektedir.	147
Şekil 4.78. STZ+250 mg/kg PFSE grubuna ait böbrek medulla dokusunda amiloid birikimi görülmektedir.	147

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Diabetes mellitus Tanı Kriterleri	3
Çizelge 1.2. IDDM'nin etyolojik sınıflaması	9
Çizelge 1.3. İnsülin salgılanmasında bozukluğa yol açan faktörler.....	11
Çizelge 1.4. Deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan yöntemler	14
Çizelge 1.5. Reaktif oksijen türleri	22
Çizelge 1.6. Antioksidan enzimler	35
Çizelge 1.7. Diyabetik hastalarda nefropati prevalansı	51
Çizelge 1.8. Diyabetik nefropatinin evreleri	55
Çizelge 3.1. Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar	79
Çizelge 4.1. Çalışma kapsamındaki sıçanların vücut ağırlıklarının zamana bağlı değişimleri	97
Çizelge 4.2. Tüm gruplara ait ortalama kan glukoz değerlerinin (mg/dL) zamana bağlı değişimleri	100
Çizelge 4.3. Diyabetik sıçanlarda kontroller ile karşılaştırmalı MDA, GSH ve SOD seviyeleri	104

1.GİRİŞ

1.1. Diabetes Mellitus

1.1.1. Tanım

Diabetes Mellitus (DM), metabolik anormalliklerin görüldüğü, gelişen ve sanayileşen ülkelerde morbidite ve mortaliteye neden olan (Hawa *et al.* 2006), pankreasın insülin sekresyonunun yetersizliği ve/veya dokuların insüline cevabının bozulmasıyla oluşan, protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen (Öntürk ve Özbek 2007), kronik hiperglisemi, kapiller membran değişikliği ve hızlanmış arteriosklerozis ile seyreden metabolik bir hastalıktır (Garber 1994).

Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA) tarafından 2003’de belirlenen tanı kriterlerine göre; poliüri, polidipsi, glukozüri, ketonüri ve açıklanamayan ağırlık kaybı gibi semptomlar ile birlikte herhangi bir zamanda ölçülen plazma glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL bulunması veya 10-12 saat açlık sonu sabah kan glukozunun ≥ 126 mg/dL bulunması DM olarak tanımlanmaktadır (Orhan 2001). Çünkü diyabeti olmayan bir birey kan şekeri düzeyi açlık halinde 120 mg/dL, tokluk halinde (yemeğe başladıktan iki saat sonra) 140 mg/dL’nin üstüne çıkmamaktadır. Açlıkta veya toklukta ölçülen kan şekeri düzeyinin bu değerlerin üstünde olması diyabetin varlığını göstermektedir. Bir kişinin diyabetli olup olmadığı Açlık Kan Şekeri (AKŞ) ölçümü veya Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT) yapılarak saptanmaktadır. AKŞ ölçümü 100-125 mg/dL olması gizli şeker (pre-diyabet) sinyali olup AKŞ ölçüm sonucunun 126 mg/dL veya daha fazla olması diyabetin varlığını göstermektedir.

Diyabet hastalarının %10-15’ini Tip 1 DM oluşturmaktadır. Otoimmün (Tip 1a) ve idiyopatik (Tip 1b) olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır. Tip 1a’da pankreas beta hücrelerinin çeşitli bileşenlerine karşı otoantikorlar bulunurken, Tip 1b’de otoimmünite bulguları yoktur ve kanda insülin düzeyleri düşük bulunmuştur.

Tüm diyabetli hastaların %90'ını oluşturan Tip 2 DM'de ise insülin direnci gelişimi ve/veya insülin salgılanmasında bozukluk gözlenmiştir. Bu hasta grubunun çoğunluğunu orta yaş, şişman ve kadın hastalar oluştururken bazen genç yaşta da başlayabileceği kaydedilmiştir (Eisenborth 2003).

1.1.2. Tarihçe

Mısır uygarlığında, milattan 1500 yıl öncesine ait Eber Papiruslarında fazla idrar yapılan, idrar yoluyla şeker kaybedilen bir hastalıktan bahsedilmiştir (Bağrıaçık 1997a; Ayalp 2008). Ayrıca MÖ 400 yılında Hint hekimler, 'Madhumeh' adı verilen, aşırı susama ve ağız kokusu ile birlikte 'ballı idrarla' seyreden bir hastalıktan bahsetmişlerdir. 'Diabetes' terimi ise ilk defa Kapadokyalı Areteus tarafından kullanılmıştır (Hatemi 1996; Yılmaz 1997; Bağrıaçık 1997a). MS 9. yy'da Razi ve 10-11. yy İbn-i Sina, bu hastaların idrarının tatlı olduğundan ve susuzluk hissinden söz etmişlerdir. 1674 yılında Thomas Willis adlı bir anatomist ilk kez diyabetik hastaların idrarının tatlı olduğunu göstermiştir. 18. yy'da ise William Cullen 'Diabetes' kelimesinin yanına, tatlı veya ballı, anlamına gelen 'Mellitus' kelimesini eklemiştir. 1776 yılında İngiliz araştırmacı olan Dobson, DM hastalarının kanında ve idrarında aşırı şeker olduğunu ortaya koymuştur. 1815'de Chevreul idrardaki bu şekerin 'glikoz' olduğunu açıklamıştır. 19. yy'da Claude Bernard glikozun karaciğerde glikojen olarak depolandığını tespit etmiştir. 1869'da Paul Langerhans pankreastaki adacık hücrelerini tanımlamıştır (Hatemi 1996; Watkins 1996). 1889'da V. Mering ve Oskar Minkowski pankreotektomiyi diyabet oluşumunu ortaya koyarak DM'de sorumlu organın pankreas olduğunu kanıtlamışlardır (Hatemi 1996; Watkins 1996; Bağrıaçık 1997a). 1921 yılında insülini keşfi ile diyabet tedavisinde yeni bir dönem başlamıştır. Diyabetli hastaların gerçek anlamda bir tedavi şansına sahip olmalarının yanısıra, insülinin keşfi Banting ve Macleod'a Nobel ödülünü getirmiştir (Kim 2002). 1936'da Kimmelstiel ve Wilson'un 'interkapiller glomerüloskleröz'ü tarif etmeleriyle albüminüri, hipertansiyon ve retinopatiji bir araya getiren 'diyabetik nefropati' tablosu ortaya çıkmıştır (Ayalp 2008). 1940'lı yıllarda farklı insülinler keşfedilmiştir. İnsülinin moleküler yapısı 1955'de Sanger tarafından gösterilmiş ve bu buluşu kendisine Nobel ödülünü

kazandırmıştır. 1964 yılında insülin molekülü sentez edilmeye başlanmıştır.1970’li yıllarda oral antidiyabetik ilaçlar hızla geliştirilmeye ve daha sonra üretilen ilaçlar diyabetin ve komplikasyonlarının önlenmesinde, yaşam kalitesinin yükseltilmesinde kullanılmaya başlanmıştır (Hatemi1998). 1980’li yıllardan sonra başlayan pankreas adacık transplantasyonu ve yapay pankreasın bulunması hastalığın tedavisinde yeni bir umut kapısı açmıştır.

1.1.3. Diabetes Mellitus’un tanısı

ADA tarafından belirlenen diyabet tanı kriterlerine göre DM’nin en basit tanısı açlık glisemisinin venöz plazmada en az iki ardışık ölçümde 126 mg/dL veya daha yüksek olması ile konulmaktadır. Yine günün herhangi bir saatinde açlık ve tokluk durumuna bakılmaksızın randomize venöz plazma glisemisinin 200 mg/dL’nin üzerinde olması ve poliüri, polidipsi, polifaji, zayıflama gibi diyabetik semptomların oluşu ile de tanı konulabilmektedir (Çizelge 1.1) (American Diabetes Association 2006).

Çizelge1.1. Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri (ADA 2006)

- | |
|---|
| <p>1. Diyabet semptomları ve kan glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL olması, günün herhangi birsaatinde öğüne bakılmaksızın ölçülebilen plazma hiperglisemi değeri, poliüri, polidipsi, polifaji açıklanamayan ağırlık kaybı</p> <p>2. Açlık plazma glukoz düzeyi ≥ 126 mg/dL: En az 8 saatlik tam açlık sonrası.</p> <p>3. Oral glukoz tolerans testi sırasında 2. saat plazma glukoz düzeyi ≥ 200mg/dL</p> |
|---|

1.1.4. Diabetes Mellitus’un komplikasyonları

DM’nin akut komplikasyonları:

1- Diyabetik ketoasidoz

- 2- Hiperozmolar nonketotik koma
- 3- Hipoglisemi
- 4- Laktik asidoz

DM'nin kronik komplikasyonları:

- 1- Diyabetik mikroanjiyopati ve makroanjiyopati,
- 2- DM'nin gastrointestinal, ürolojik, reproduktif, kardiyak komplikasyonları
- 3- Diyabetik retinopati
- 4- Diyabetik nöropati
- 5- Diyabetik nefropati
- 6- Diyabetik ayak (Yenigün ve Altuntaş 200).

1.1.5. Diabetes Mellitus'un sınıflandırılması

1998 yılında ADA tarafından önerilen ve etiyolojik olan buyeni sınıflandırmaya göre;

I.Tip 1 Diyabet

- a. İmmün aracılıklı (Tip 1a)
- b. İdiopatik (Tip 1b)

II.Tip 2 Diyabet

İnsülin direnci veya insülin salgı bozukluğu ağırlıklı nedendir.

III.Diyabetin Diğer Spesifik Tipleri

A.Beta hücrelerinde aşağıdaki mutasyonlar ile karakterli genetik defektler

1. Hepatosit nükleer transkripsiyon faktörü (HNF) 4 α
2. Glükokinaz
3. Hepatosit nükleer transkripsiyon faktörü I α
4. İnsülin promotor faktör

B.İnsülin etkisinde genetik defektler

- 1- Tip A insülin rezistansı
- 2- Leprechaunizm
- 3- Rabson-Mendenhall sendromu
- 4- Lipoatrofik diyabet vd.

C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları

- 1- Pankreatit
- 2-Travma/Pankrektomi
- 3-Neoplazm
- 4-Kistik fibrozis
- 5-Hemakromatozis
- 6-Fibrokalkülöz pankreas vd.

D.Endokrinopatiler

- 1-Akromegali
- 2-Cushing sendromu
- 3-Glukagonoma
- 4-Feokromasitoma
- 5-Hipertiroidizm
- 6-Somatostatinoma
- 7-Aldesteronoma vd.

E. İlaç veya kimyasal ajanlar

- 1-Vacor
- 2-Pentadimin
- 3-Nikotinic asit
- 4-Glukokortikoidler
- 5-Tiroid hormonu
- 6-Diyazoksit
- 7-Beta-adrenerjik agonistler
- 8-Tiazidler
- 9-Dilantin
- 10-Alfa-interferon vd.

F. Enfeksiyonlar

- 1- Konjenital Rubella
- 2- Sitomegalovirüs vd.

G. İmmun aracılıklı nadir diyabet formları

- 1- Stiff-mann sendromu
- 2- Anti-insülin antikoru vd.

H. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar (Monogenik diyabet formları)

- 1- Down Sendromu
- 2- Klinefelter Sendromu
- 3- Turner Sendromu
- 4- Wolfram Sendromu
- 5- Friedreich Ataksisi

- 6- Huntington Koresi
- 7- Laurence-Moon-Biedl Sendromu
- 8- Miyotonik Distrofi
- 9- Porfiria
- 10- Prader-Willi Sendromu vd.

IV. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) (Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet)

1.1.5.a. Tip 1 diyabet (İnsüline bağımlı Diabetes Mellitus = IDDM)

IDDM lenfositlerin aracılık ettiği insülin üretiminde görev alan pankreasın β hücrelerinin süregelen otoimmün veya otoimmün dışı nedenlerle harabiyeti sonucu gelişen insülopeni ve hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Alemzadeh and Wyatt 2004; Fiallo-Scharer and Eisenbarth 2004). IDDM her yaşta görülebildiği gibi, sıklıkla çocukluk ve gençlik yaşlarında başlamaktadır. Bu tip diyabette Langerhans adacıklarındaki β hücreleri yıkıma uğradığından sayıları azalmakta bu nedenle de insülin salınımı düşmekte ya da durmaktadır. Kandaki insülin seviyesinin düşmesiyle bu tip hastalar insüline bağımlı hale gelmektedirler. Adacık hücre harabiyetinden birbirine bağımlı üç mekanizmanın sorumlu olduğu bildirilmiştir; genetik eğilim, otoimmünite ve çevresel faktörler (Kumar *et al.* 2000). Diyabet popülasyonunun yaklaşık %10 kadarını bu tip diyabet oluşturmaktadır (Pandit 1993; WHO 1994).

IDDM iki ana kategoriye ayrılabilir: immünolojik ve idiyopatik DM. İmmünolojik tip DM'ye pankreatik beta hücrelerinin otoimmün hücresel yıkımı sebep olmaktadır. Hastaların %90'ından fazlasında tanı esnasında adacık hücresi otoantikorları, insülin otoantikorları ve glutamik asit dekarboksilaza karşı oluşmuş otoantikorlar saptanmakta ve bunlar beta hücreleri tamamen yok olduğunda kaybolmaktadırlar. Polidipsi, poliüri, kilo kaybı yakınmaları veya ketoasidoz koması ilk bulguları oluşturmaktadır. IDDM'nin gelişmesinde dokuz kromozomun üstündeki en az

12 ayrı genetik lokus saptanmıştır. Çevresel faktörlerin de IDDM'nin gelişmesinde önemli bir yeri olduğu anlaşılmış fakat kesin rolü henüz tanımlanamamıştır. En sık başlangıç dönemi çocukluk ve gençlik çağları olarak ve özellikle 30 yaşın altı olarak tespit edilmiştir. İdiyopatik tip DM ise insülin eksikliği varlığı ile birlikte olan ve otoimmün β hücresi yıkımının kanıtları olmadan saptanan tiptir. İnsülin duyarlılığı ölçüldüğünde normal saptanmaktadır (Başkurt Aladağ 2008).

İmmün kökenli Tip 1a, diyabetli olguların %90'nını oluştururken yine çocukluk yaş grubunda görülen otoimmün belirleyicileri negatif olan Tip 1b ise %10'luk kısmını oluşturmaktadır (Çizelge 1.2) (Saka vd 2003; Fiallo-Scharer and Eisenbarth 2004).

Çizelge 1.2. IDDM'nin etyolojik sınıflaması

1)Pankreas β hücrelerinin idiopatik otoimmün yıkımı
2)Poliglanduler otoimmün sendrom tip 2 (Schmidt sendromu)
3)Viral infeksiyonların neden olduğu β hücresi yıkımı
-Konjenital rubella virüsü
-Koksaki B (Tip B4 ve B3)
-Sitomegalovirüs
4) Akut pankreatit, kronik tekrarlayıcı pankreatit, pankreas kanseri, konjenital pankreas hipoplazisi ve pankreatektomiye bağlı pankreas doku kaybı.
5) Pankreas β hücresinde yıkıma neden olan kimyasal ajanlar.
6)Genetik sendromlar: -DİDMOAD sendromu (Diabetes insipitus, DM, optik atrofi vesağırılık)
- Fredreich ataksisi
7)Diğer; kesin olarak tanımlanamayan nedenlerle gelişen insülin salgısı azalması.

IDDM'nin nedenleri

Normal bireylerde vücudu dışarıdan gelen yabancı etkenlere karşı korumakla görevli bir bağışıklık sistemi bulunmaktadır. Bu sistemin herhangi bir nedenle (virüs, ilaç, aşılama, fizik veya psik stres vs.) normalden sapması halinde sistem kendi hücrelerini yabancı olarak algılamakta, onlara saldırarak tahrip etmektedir. Bu şekilde gelişim gösteren hastalıklara 'otoimmün hastalıklar' denilmektedir. IDDM bu otoimmün hastalıklar grubuna dahil olup bilinmeyen bir sebeple harekete geçen bağışıklık sistemi, insülin yapımını üstlenen pankreas β hücrelerini tahrip etmektedir. Bu tahribat %80'in üzerine ulaştığında hastalık belirtileri ortaya çıkmaktadır (Anonim 2011e).

IDDM'nin belirtileri

Keton cisimciklerin üretilmesi sonucunda,

- Bulantı, kusma

- Yorgunluk
- Karın ağrısı
- Derin solunum, aseton kokusu
- Baygınlık hissi, dalgınlık
- Kilo kaybı

Şekerin yüksek olması sonucunda,

- Sıvı kaybı
- Susama, ağız kuruması
- Çok idrar yapmak (Poliüri): Vücutta insülin yapılamadığı zaman, insülinin normalde sorumlu olduğu işlevler yapılamamakta, yani glukoz hücreler tarafından enerji olarak kullanılamayıp kanda birikmekte, belli bir düzeyden sonra da böbrekten atılmaya başlamaktadır. Şeker beraberinde suyu da sürükleyeceğinden kişi çok idrara çıkmaya başlamaktadır.
- Çok su içmek (Polidipsi): İdrarla aşırı su kaybedince aşırı su içilmektedir.
- Zayıflamak: Alınan gıdalardan yararlanamayan vücut hücreleri enerji kaynağı olarak depolardaki yağları yakıt olarak kullanmaya başlamakta ve kişi zayıflamaktadır.
- Aşırı yeme (Polifaji) (Durna 2002; Güven *et al.* 2002; Anonim 2011e).

1.1.5.b. Tip 2 diyabet (İnsüline bağımlı olmayan Diabetes Mellitus = NIDDM)

NIDDM tüm dünyada en sık rastlanan diyabet formudur (Mitrakou 1992). Tip 2 diyabet periferik insülin direnci ve karaciğerde glukoz üretimindeki artış sonucunda ortaya çıkan hiperglisemi ile bilinmektedir (Kohl *et al.* 2002). Bu diyabet türü, pankreasta insülin salgılanmasındaki yetersizlik veya hücrelerde insüline karşı oluşan duyarsızlıkla tanımlanmaktadır. Bunun sonucunda hücre içine şeker girememekte ve böylece kandaki şeker oranı yükselmektedir. Yükselmiş kan şekeri hücrelere toksik etki göstermekte, beta hücre kitlesinde ve fonksiyonlarında azalmaya yol açmaktadır. NIDDM'ye genellikle 35 yaş ve üzeri kişilerde rastlandığından dolayı (tüm diyabetlilerin %75'idir) yetişkin tip diyabet olarakta bilinmektedir.

NIDDM’de beta hücrelerinin kan şeker düzeyine yanıtı anormaldir. Ancak yapılan deneyler hasta beta hücrelerinin nörojenik uyarılara, oral antidiyabetiklere ve sekretine karşı insülin yanıtının bozulmamış olduğunu göstermiştir. NIDDM’de özellikle glukozu karşı erken insülin yanıtında bir bozukluk mevcut olup beta hücresi glukozu tanımakta güçlük çekmektedir (Ayalp 2008).

NIDDM’nin patogenezeine bakıldığında ilk bozukluğun beta hücre fonksiyon bozukluğu olduğu görülmektedir. İnsülin direnci ile birlikte olsun veya olmasın, eğer mutlak bir insülin eksikliği varsa NIDDM kaçınılmaz olmaktadır (Çizelge 1.3) (Başkurt Aladağ 2008).

Çizelge 1.3. İnsülin salgılanmasında bozukluğa yol açan faktörler

- | |
|---|
| 1- İnsülin salgısında kantitatif bozukluklar
a- İnsülin salgısında kalitatif bozukluklar
b- Birinci faz insülin salgısının bozulması
2- Pulsatil insülin salgılanmasının bozulması
3- Proinsülin salgılanmasında anomaliler
4- Düşük doğum ağırlığı (Thrifty fenotip hipotezi)
5- Glikoz toksisitesi
6- Amilin (Adacık amiloid polipeptid)
7- Calcitonin-Gene-Related-Peptid (CGRP)
8- İncretinler (Glucagon like peptid-1, GİP, Galanin)
9- Lipotoksiste
10- İnsülin salgılanma bozukluğunda genetik nedenler |
|---|

NIDDM’nin nedenleri:

NIDDM’nin oluşumundaki temel neden insülin yetersizliği veya insülinin etkili olamamasıdır. NIDDM’nin ortaya çıkmasını kolaylaştıran diğer etmenler ise:

- Kalıtım
- Şişmanlık
- Gebelik ve sık doğum
- Uzun süre ilaç kullanımı (diüretik, kortikosteroid, doğum kontrol hapları vs.)
- Enfeksiyonlar
- Psikolojik ya da fiziksel travmalar
- Bazı pankreas hastalıkları (pankreatit, pankreas tümörü) (Anonim 2011f).

NIDDM'nin belirtileri

NIDDM'si olan ve kan şekeri yüksek olan kişilerde;

- Sık idrara çıkma (poliüri)
- Ağız kuruluğu
- Çok su içme (polidipsi)
- Açlık hissi,
- Cilt yaralarının geç iyileşmesi,
- Kuru ve kaşıntılı bir cilt,
- Sık sık enfeksiyon gelişmesi,
- Çok yemek yeme (Polifaji)
- Kilo kaybı
- Bulanık görme
- Yorgunluk
- Vücuttaki yaraların geç iyileşmesi
- Ellerde ve ayaklarda uyuşma, karıncalanma görülmektedir. Ancak bu belirtiler zaman içinde yavaş yavaş ortaya çıkmaktadır (Anonim 2011f).

1.1.5.c. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)

GDM terimi ilk kez gebelik sırasında oluşan veya saptanan bozulmuş glukoz toleransını tanımlamaktadır. Gebelikten önce bilinen diyabeti olan kadınlar GDM olarak

tanımlanmamaktadır. Doğumdan sonra her zaman olmamakla beraber, genellikle glukoz toleransı normale dönmekte buna rağmen bu hastaların %30 ile %40'ında NIDDM 5 ila 10 yıl arasında gelişebilmektedir. Nadiren hamilelik IDDM'yi başlatabilmekte, GDM gebe kadınların hemen hemen %2'sinde gelişmektedir (Başkurt Aladağ 2008).

1.1.5.d. Deneysel diyabet

Deneysel diyabet modelleri insanlardaki DM'nin oluşum mekanizmalarını anlayabilmek, bu mekanizmaları yavaşlatmak ya da durdurmak amacıyla alternatif yollar veya ajanlar bulmak için deney hayvanlarına çeşitli kimyasal, ilaç veya cerrahi operasyonların uygulanmasıyla oluşturulmaktadır (Çizelge 1.4) (Aughsteen 2000; Altan vd 2006). Deneysel diyabet oluşturmak için dört yöntem kullanılmıştır:

1. Cerrahi diyabet: Bilinen en eski deneysel diyabet oluşturma yöntemi olan cerrahi diyabet hayvanlarda total veya subtotal pankreatektomi ile sağlanmıştır (Jouad *et al.* 2002).

2. Kimyasal diyabet: Kimyasal diyabet oluşturmak amacıyla sıklıkla alloxan ve streptozotosin (STZ) kullanılmıştır.

3. Spontan diyabet: Genetik düzenlemeler sonucunda diyabet olduğu gözlenen hayvan türlerinin başlıcaları Çin kemirgeni, Wistar sıçanı, Zucker sıçanları olarak belirtilmiştir (Maghrani *et al.* 2004).

4. Viral diyabet: Viral enfeksiyonların ve hayvanlarda diyabetin nedenlerinden biri olarak gösterilmiştir. Diyabete yol açan virüsler arasında; Ensefalomiyokarditis virüsünün Mvaryantı, Coxaki Virüsleri, Rubella Virüsü, Reovirüs bildirilmiştir (Maiti *et al.* 2004).

Çizelge 1.4. Deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan yöntemler (Bone and Gwillam 1998)

Ajan veya Metod	Hayvan Türleri	β Hücre Harabiyet mekanizması
Kimyasal Toksinler		
Alloksan	Sıçan	Sitotoksik
Streptozotosin		
- Yüksek doz	Sıçan, Fare, Köpek	Sitotoksik
- Tekrarlayan düşük doz	Fare	Otoimmün
Çinko şelatörleri	Sıçan	Sitotoksik
Virüsler		
RNA Virüsleri		
-Encephalomyocarditis	Fare	Sitotoksik
-Coxsackie B4	Fare (bazı türleri)	Sitotoksik
-Mengovirüs	Fare	Sitotoksik
-Retrovirüs	Fare	Otoimmün
DNA Virüsleri		
-Kilham's sıçan virüsü	Sıçan	Otoimmün
Transgenik Hayvanlar		
β hücre ekspresyonu		
-I-A antijeni	Fare	Otoimmün
-İnterferon γ	Fare	Otoimmün

1.1.6. Kimyasal diyabet oluşturma yöntemleri

Laboratuvar hayvanlarında deneysel tip diyabet oluşturma'nın en pratik ve kolay yolu kimyasal yollarla diyabeti teşvik etmektir. Bu yöntemde kimyasal diyabetojenik ajan olarak Alloksan veya Streptozotosin (STZ) kullanılmaktadır (Crouch *et al.* 1981; Covington *et al.* 1993). Bu kimyasal ajanlar pankreatik β hücrelerinde harabiyet meydana getirerek etki göstermektedirler (Lenzen and Munday 1991).

Diyabetojenik bir ajan olan alloksan parenteral, intravenoz (IV), intraperitoneal (IP) veya subkutanöz (SC) olarak uygulanılmaktadır. Sıklıkla kullanılan IV dozu hayvan başına 65 mg/kg olup alloksan IP veya SC yoluyla uygulandığında efektif dozu en az 2-3 kat daha fazla olmaktadır (Szkudelski 2001).

STZ'in yapısı ve etki mekanizması

Streptozotosin (Streptozosin, izostazin, Zanosar, STZ) ilk olarak 1960 yılında *Streptomyces achromogenes* kültüründen izole edilmiş olup geniş spektrumlu N nitroso türevli bir glikozamindir (Szkudelski 2001).

Kapalı formülü $C_8H_{15}N_3O_7$ olan 265,2 dalton molekül ağırlığındaki STZ beyaz ve açık sarı arasında değişen sarı renkli bir toz olup anhidre olarak 115°C'de bozulmaktadır. Maddenin potansiyel kanserojen, mutajen ve toksik özelliği olduğu bilinmektedir. STZ; suda, alkollerde ve ketonlarda çözünmektedir (Kayaalp 1997).

Deneysel diyabet oluşturmak için 45 mg/kg-65 mg/kg aralığında STZ IP veya IV olarak uygulanmaktadır (Fox 1981). STZ, pankreasta serbest radikal temizleyicisi olarak görev yapan süperoksit dizmutazı inhibe etmesi ve böylece serbest radikallerin birikmesi sonucu NAD^+ depleasyonu ve DNA hasarı meydana gelmesi ile β hücrelerinin yıkıma uğraması sonucunda diyabete sebep olmaktadır (Akpan 1989; Ritz and Rychlik 1999; Maiti *et al.* 2004). STZ'nin esas etkisinin son yapılan çalışmalarla hücre içinde olduğu ispatlanmıştır. Şöyle ki, STZ ile indüklenmiş β hücre ölümünün temel nedeni DNA'nın alkilasyonu olup STZ ile oluşturulmuş diyabetik DNA hasarını DNA tamir dönemi izlemektedir. Bu tamir süreci sırasında nükleer bir enzim olan poly ADP riboz sentetaz aşırı miktarda aktive olarak hücresel NAD ve ATP içeriğinin azalmasına yol açmaktadır. Oksidatif metabolizmanın önemli bir elemanı olan NAD'ın azalması β hücrelerinin nekrozuna sebep olmakta sonuç olarakta insülin sentez ve sekresyonu düzenli yapılamamaktadır (Erbayraktar 2002; Kanter 2006; Shrilatha 2007).

1.1.7. Diyabet sıklığını etkileyen faktörler

a. Diyabet yaygınlığında coğrafyanın rolü: Diyabet seyri ve sıklığı bölgesel olarak değişiklik göstermektedir. Greonland ve Alaska da seyrek ve hafif seyretmektedir. İnsüline bağımlı diyabet tipi hemen hemen gözlenmemiştir.

- Pima'lı yerlilerde ve Arizona'lılarda diyabet çok sıktır, Malta'da oldukça sıktır.

- Uzak doğudaki Tip 1 diyabet seyrek olup, erkeklerde daha sıktır.

- Göçler diyabet sıklığını etkilemektedir. İsrail'e göç edenlerde ve Uzakdoğu, Japonya'dan Amerika ya göç edenlerde diyabet daha sık olarak gözlenmiştir.

b. Yaş ve cinsiyet: Diyabet sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. Ayrıca diyabetin kadınlarda daha sık olduğu saptanmıştır. Uzakdoğu ve özellikle Japonya'da ise erkeklerde daha sık olduğu gözlenmiştir.

c. Kalıtım: Ailesinde diyabet hastası bulunanlarda diyabetin daha sık olduğu gözlenmiştir. Diyabetteki kalıtımın çok genli ve multifaktörel olduğu çağdaş görüştür.

d. Şişmanlık: Diyabet şişmanlarda daha sık görülmektedir. Diyabetik nüfusun hemen %85'i şişmandır.

e. Gebelik: Gebelik, diyabetojen bir faktör olup, sık hamilelik ve doğum, diyabete yatkın kişileri diyabete götürmektedir. Ayrıca gebelikte de diyabet oluşmaktadır. Buna gestasyonel diyabet denilmektedir. Gebelikte glikoza tolerans bozulmaktadır (GIGT). Tip 2 ve Tip 1 diyabet gebelikte oluşmaktadır.

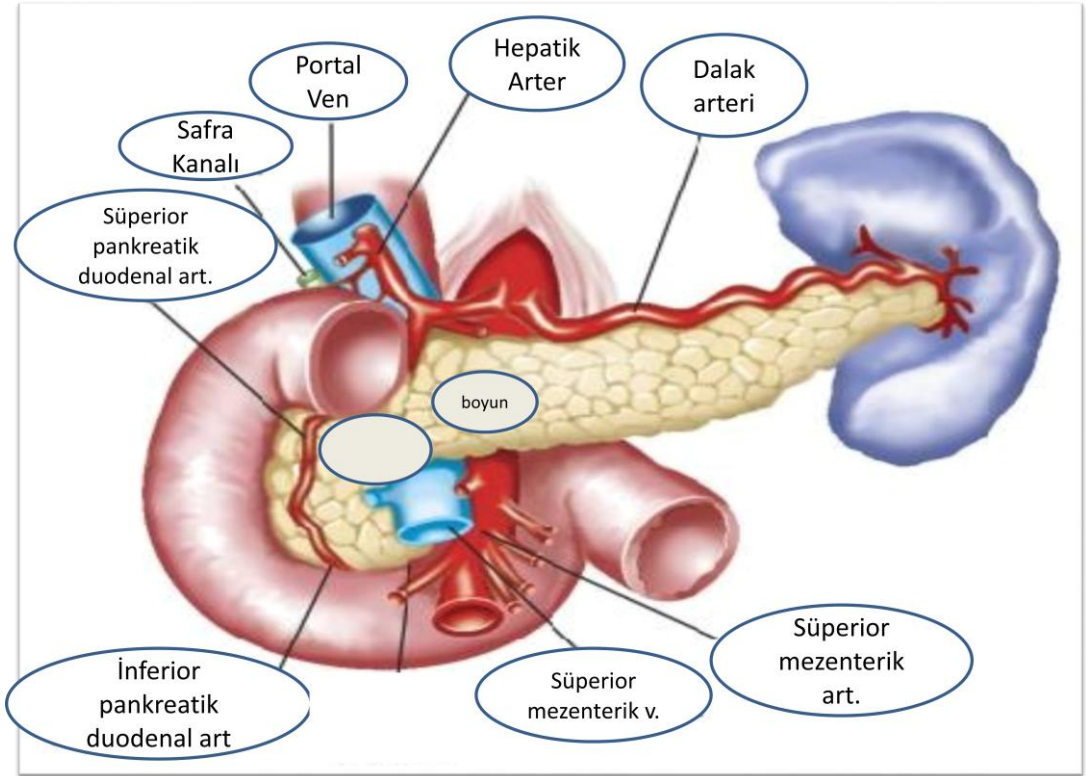
f. Çevre faktörleri: Dengesiz beslenme, aşırı ve yetersiz beslenme diyabet sıklığını etkilemektedir. Enfeksiyonlar, ameliyat ve anestezi stresleri, sık hamilelik, bilinçsiz ilaç

kullanma da diyabet sıklığını etkileyen çevre faktörlerden sayılmaktadır (Bağrıaçık 1997b).

Literatür verilerine göre diyabetle pankreas arasında belirgin bir ilişki sözkonusudur (Rhodes *et al.* 2008).

1.2. Pankreas Anatomisi ve Histolojisi

Karma bir bez olan pankreas, 65-125 g ağırlığında uzun ve sarı renkte bir organdır. Sıçan pankreası ise 5-15 g ağırlığındadır. Ergin memeli pankreası anatomik olarak sindirim kanalının duodenal kıvrımının iç kısmında yer alan baş; omurga ile onun önünde yerleşik bulunan ve kan damarlarının üstünde uzunlamasına yer alan gövde ve dalağa kadar uzanan kuyruk kısmı olmak üzere 3 farklı bölümden oluşmaktadır (Şekil 1.1) (Carlos *et al.* 1998; Larsson 1998; Demir 2006). Pankreasın parankim dokusu, bir ekzokrin bez olarak salgısını duodenuma ve endokrin bez olarak salgısını kana vermektedir. Endokrin bez olarak pankreas, pankreasa akan venöz sirkülasyon içindeki insülin, glukagon, somatostatin ve pankreatik polipeptid hormonlarının sentezi, depolanması ve salgılanmasında görev almaktadır. Pankreasın ekzokrin fonksiyonu ise sindirim enzimleri ve bikarbonattan zengin sıvıların sentezi, depolanması ve salgılanmasını yapmaktır (Yenigün 1995; Bhogavan 2001; Başaran 2005).



Şekil 1.1. Pankreas anatomisi (Anonim 2011a)

Pankreasın endokrin hormonlarını üreten kısmı Langerhans adacıkları denilen yüz binlerce küçük bezlerden oluşmaktadır. Langerhans adacıkları pankreas ağırlığının %2-3'ünü oluşturmaktadır (Murray *et al.* 1998).

Pankreasta hormonlar özelleşmiş hücre kümeleri tarafından üretilmektedir. Her bir adacık hücre tipi tek bir hormon üretmektedir. Şöyle ki;

- Alfa (α) hücreleri; glukagon salgılanmasında görev almaktadırlar. Glukagon kan glukozu düştüğü zaman salgılanmakta ve kan glukozunun yükselmesini sağlamaktadır.
- Beta (β) hücreleri; insülin hormonunun salgılanmasında görev almaktadırlar ve insülin hormonu da kan glukozunun düşürülmesinde görev alır.

- Delta (D) hücreleri; somatostatinin salgılanmasında görev almaktadırlar. Somatostatin, büyüme hormonu, glukagon ve insülin salgılanmasını inhibe etmektedir.
- PP hücreleri; pankreatik polipeptid hormonunun salgılanmasında görev almaktadırlar. Bu hormonlar karbonhidrat ve diğer yapıtaşlarının metabolizmasının düzenlenmesini sağlamaktadır (Yenigün 1995; Başaran 2005; Şimşek 2005).

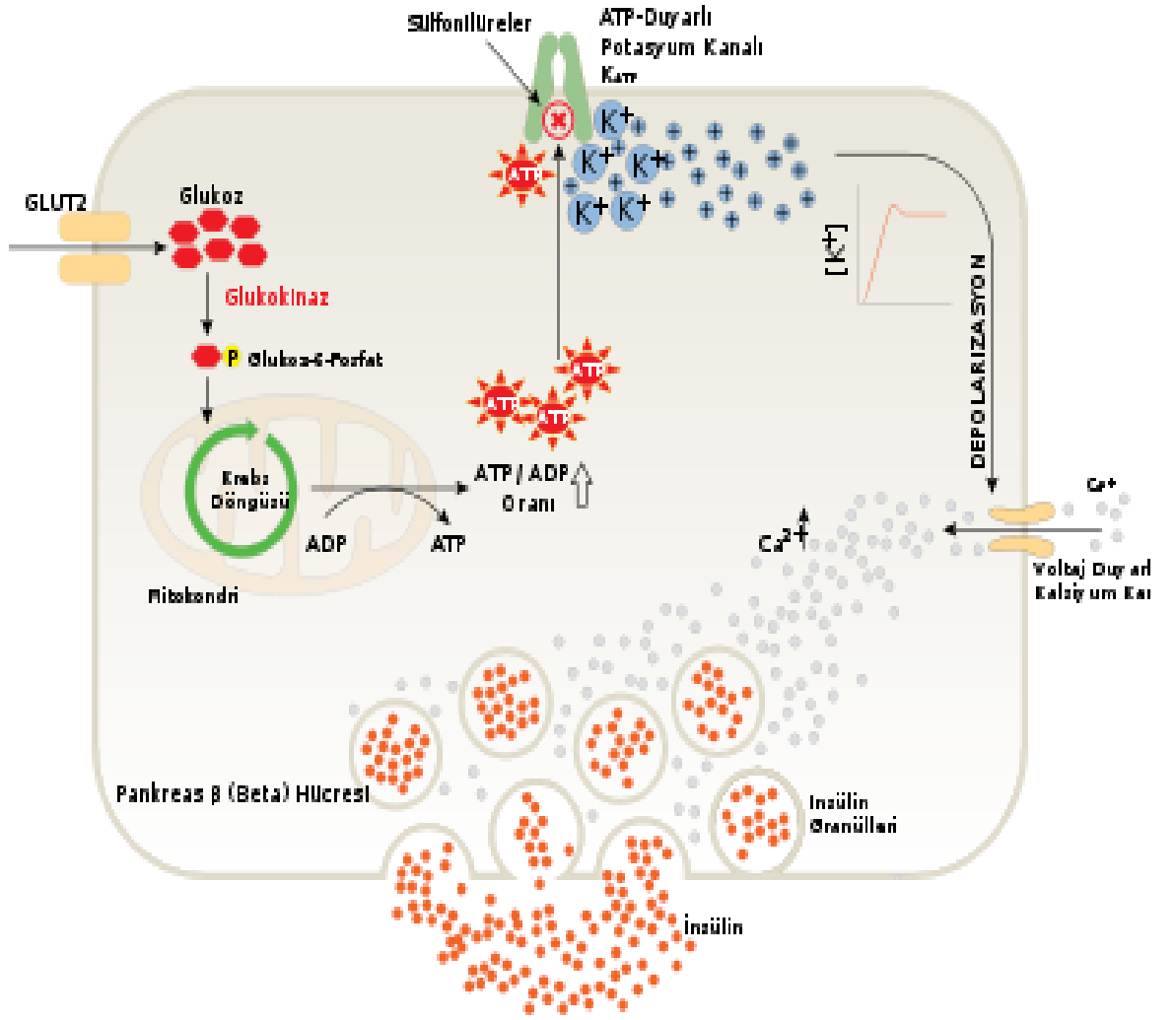
1.2.1. İnsülinin yapısı

1921 yılında Banting ve Best tarafından insülinin pankreastan ekstre edilmesi ve 1922 yılında diyabetik ketoasidoz komasında olan Leonard Thompson isimli bir hastaya verilmesi ile insülinin ilk defa diyabet tedavisinde kullanılması çok önemli bir keşif olarak dünya tarihinde yerini almıştır (Nelson and Cox 2005; Özata ve Yönm 2006).

İnsülin, pankreasın Langerhans adacıkları β hücreleri tarafından üretilen, birbirlerine disülfid bağıyla bağlı olan A ve B polipeptid zincirinden oluşan 51 aminoasitlik bir proteindir (Bağrıaçık 1999; Burtis and Ashwood 2005; Güneş 2006).

İnsülin, pankreasta inaktif tek zincirli preproinsülin şeklinde sentezlenmektedir. Preproinsülinin amino ucunda bulunan ‘sinyal dizisi’ preproinsülinin salgı veziküllerine geçişini yönlendirmektedir. Sinyal dizisinin proteolitik olarak uzaklaştırılması ve üç disülfid bağının oluşumuyla proinsülin meydana gelmekte ve pankreatik hücrelerdeki salgı granüllerinde depolanmaktadır. Artmış kan glukozu insülin salgılanmasını tetiklediği zaman, proinsülin özgülproteazlarla aktif insüline dönüştürülmektedir (Şekil 1.2) (Nelson and Cox 2005).

Glukozun normal plazma düzeyi ~80-100 mg glukoz/dL’dir. Bundan daha düşük düzeylerde insülin salgılanması inhibe olmakta, daha yüksek düzeylerde ise uyarılmaktadır. ~400 mg glukoz/dL derişiminde insülin salgılanması en etkin biçimde uyarılmaktadır (Murray *et al.* 1996).



Şekil 1.2. Pankreastan insülin salgılanmasının mekanizması (Anonim 2011b)

1.2.2. İnsülinin etki mekanizması

Sağlıklı bireylerin kas, yağ ve karaciğer doku hücrelerindeki glikoz transportu, doku hücrelerine spesifik protein yapıdaki glikoz taşıyıcıların rol aldığı kolaylaştırılmış difüzyonla gerçekleşmektedir. Bu mekanizmadan önce insülin, hücre yüzeyindeki reseptöre bağlanarak tirozin kinazı aktive etmekte, reseptörün β alt ünitesinin tirozin birimleri otofosforilasyona uğramaktadır. Reseptör, tirozin kinaz reseptör substrat 1'i (IRS1) fosforile etmekte, fosforile edilmiş IRS1, diğer protein kinaz ve fosfatazların aktivasyonunu desteklemektedir. Aktive olmuş reseptör, spesifik glikoz taşıyıcılarının (GLUT-4) translokasyonla hücre içi havuzdan hücre membranına hareket etmesine

neden olmaktadır (Champe and Harvey 1997; Quinn 2002). Bu taşıyıcıların, glikoz bağlayan bölgesi hücre dışına yönelmiştir. Glikoz buraya bağlanınca, oluşan yapısal değişikliğe bağlı olarak, glikoz bağlayan bölgenin yönü sitoplazmaya doğru dönmekte ve glikoz taşıyıcıdan ayrılıp içeri girmektedir. Plazma insülin düzeyi düşüncü glikoz taşıyıcıları, hücre membranından hücre içi depo havuzlarına hareket etmektedir. Kısacası, insülinin glikoz transportundaki görevi, glikoz taşıyıcılarının yön değiştirmesini ve konsantrasyonlarının artmasını sağlamaktır (Murray *et al.* 1996; Champe and Harvey 1999; Quinn 2002).

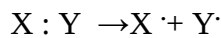
1.3. Serbest Radikaller (SR)

Biyomoleküllerle kolayca reaksiyona giren SR'ler, kanser, DM, miyokard enfarktusu, immün hastalıklar gibi birçok hastalığın patogenezinin sorumlu tutulmaktadır (Cross *et al.* 1987).

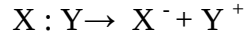
En dış yörüngesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve aktif kimyasal ürün olarak tanımlanan SR'ler pozitif, negatif yüklü ya da nötral olabilmektedirler (Halliwell 2001). Hücre içinde endojen veya eksojen kaynaklı ortaya çıkan SR'ler organik veya inorganik formda bulunabilmektedirler (Mercan 2004).

SR'ler 3 farklı yolla ortaya çıkabilmektedirler (Bast *et al.* 1997; Halliwell and Gutteridge 2001; Stahl and Sies 2002);

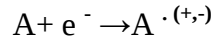
1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşmaktadır (Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalmaktadır).



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşmaktadır. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan heriki elektron, atomlardan birisinde kalmaktadır.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşmaktadır.



Pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilen SR'ler biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşmaktadır (Akkuş 1995).

Hücre içinde sık görülen SR'lerin hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit gibi değişik kimyasal yapıya sahip olduğu belirtilmektedir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli radikallerin oksijenden oluşan radikaller olduğu ve bunlara örnek olarak oksijenin kendisinin, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil gruplarının verilebileceği kaydedilmiştir (Çizelge 1.5) (Cross *et al.* 1984; Cochran 1991).

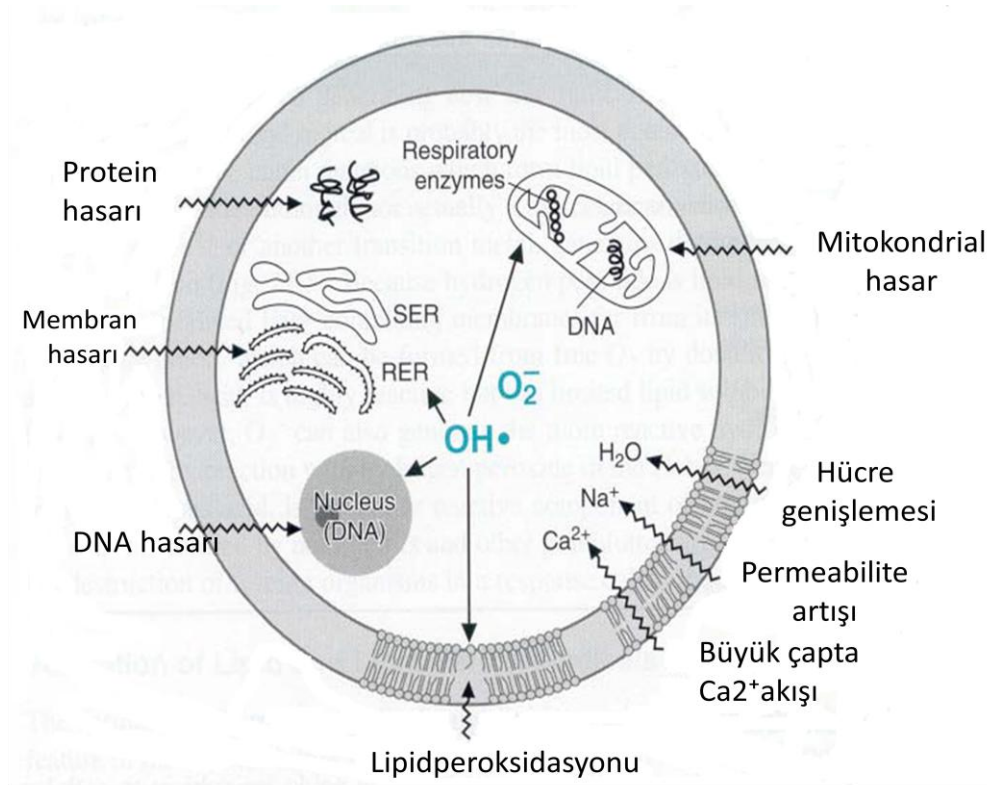
Çizelge 1.5. Reaktif oksijen türleri

Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Hidroksil	(HO [·])	Hidrojen peroksit	(H ₂ O ₂)
Alkoksil	(RO [·])	Singlet oksijen	(O ₂)
Peroksil	(ROO [·])	Ozon	(O ₃)
Süperoksit	(O ₂ ^{·-})	Hipoklorik asit	(HOCl)
Nitrik oksit	(NO [·])	Lipit hidroperoksit	(LOOH)
Azot dioksit	(NO ₂ [·])	Peroksinitrit	(ONOO [·])

SR'ler genel olarak hücrelerin lipid, protein, DNA ve karbonhidratlar gibi yapısal bileşenlerine etki ederek onların bozulmalarına sebep olmaktadır (Blasiak *et al.* 2004; Altan *et al.* 2006). Oksijen radikallerinin bu etkilerinin ise canlılarda DM, karsinogenez, katarakt, hipertansiyon, kurşun zehirlenmesi, aminoglikozit nefrotoksitesisi, ağır metal nefrotoksitesisi, karbon tetraklorüre bağlı karaciğer hasarı, glomerülonefritis, hepatitis B, iskemi ve reperfüzyon, Vit E eksikliği, kanser, kontakt dermatit, orak hücre anemisi, amfizem, hiperoksi, bronkopulmoner displazi, arteroskleroz, pankreatitis ve romatoid artrit gibi birçok patojenik durumlarda ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Cross *et al.* 1987; Reilly 1991; Kehrer and Smith 1994; Özdem 1994; Nakazawa *et al.* 1996).

1.3.1. Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri

Fizyolojik şartlarda organizmada oksidan-antioksidan sistemler denge halinde bulunmaktadır. Bu dengenin oksidan sistem yönünde bozulmasıyla birlikte SR'ler hücrelerin lipid, protein, karbohidrat, DNA ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki etmektedirler (Şekil 1.3) (Başaga 1990).



Şekil 1.3. Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri (Anonim 2011d)

1.3.1.a. Membran lipitleri üzerine etkileri (Lipit peroksidasyonu)

SR'ler tarafından etkilenmeye en duyarlı olan lipitlerdir. Lipit peroksidasyonu, membranda bulunan poliansatüre yağ asitlerinin süperoksit radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur (Köse ve Doğan 1992). Bu olay poliansatüre yağ asitlerinin alfa-metilen guruplarının hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla başlamaktadır (Young and Parthasarathy 1994; Akkus 1995).

Biyolojik molekülden hidrojen atomunun çıkarılması, molekülde hidrojen atomunun önceden bağlanmış olduğu eşlenmemiş bir elektron bırakmaktadır. Hidroksil gibi yüksek aktifliğe sahip radikaller, bu hidrojeni kopararak biyolojik moleküllere zarar vermekte ve böylece lipit peroksidasyonu başlamaktadır (Köse ve Dogan 1992).

Hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla yağ asidi lipit radikali halini almaktadır. Moleküllerin oksijenle birleşme sonucunda lipit peroksil radikalleri ortaya çıkmakta ve bunlarda yeni lipit radikallerini oluştururken kendileri de lipit hidroksi peroksitlere dönüşmektedir. Daha sonra bu yapı yıkılarak aktif yapılar olan aldehit ve karbonil bileşiklerini meydana getirmektedirler. Üç ve daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda malondialdehit (MDA) oluşmaktadır. MDA, çapraz bağlanma ve polimerizasyona sebep olabilmektedir. Sonuçta iyon transport bozuklukları, enzim bozuklukları, hücre bileşenlerinin agregasyonu ortaya çıkmaktadır (Halliwell and Chirico 1993).

MDA seviyelerinin ölçülmesi lipid peroksidasyonlarının belirlenmesinde çoğunlukla tercih edilmekte ve peroksidasyon derecesiyle oldukça iyi korelasyon göstermektedir (Candan 2002).

1.3.1.b. Proteinler üzerine etkileri

Proteinler SR'lerin yıkıcı etkilerine karşı lipitlerden daha az duyarlıdır. Proteinlerin SR'lerden etkilenme dereceleri, oluştukları aminoasit kompozisyonuna göre değişmektedir. Doymamış bağ ve sülfür taşıyan moleküllerin SR'lere daha duyarlı olması nedeniyle triptofan, trozin, fenilalanin, histidin, methionin ve sistein gibi aminoasitlere sahip olan proteinler daha kolay etkilenmektedirler. SR'lerin etkileri sonucunda proteinlerde kırılma, çapraz bağlama, agregasyon anormallikler görülmektedir. Bunun sonucunda proteinler görevlerini yerine getirememektedirler (Akkuş 1995).

Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları enzim aktivitesindeki azalma, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitor aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış ya da azalmış yatkınlık, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immunojen aktivitedeki artış olarak sıralanmaktadır (Davies *et al.* 1999; Shacter 2000).

1.3.1.c. Karbohidratlar üzerine etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve oksoaldehitler oluşmaktadır. Oksoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme, aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstermektedirler. Bu nedenle kanser ve yaşlanma gibi olaylarda önemli rol oynamaktadırlar (Maxwell 1995).

1.3.1.d. Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri

SR'ler, nükleik asitlerde baz modifikasyonları, tek veya çift dal kırıkları, çapraz bağlanmalar yaparak mutasyonlara neden olabilmektedirler. Oksijen radikalleri, DNA'daki bazlara etki ederek birçok baz modifikasyonlarına neden olmaktadır (Halliwell and Gutteridge 2000; Cooke *et al.* 2003; Evans 2004). DNA onarım enzimleri ve DNA polimerazın oksidatif stres sonucu hasarlanması doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Oksidatif stres, sitozolik Ca^{2+} iyon konsantrasyonunda artışa neden olarak nükleustaki Ca^{2+} bağımlı endonükleazları aktive ederek DNA fragmentasyonuna neden olmaktadır (Halliwell and Auroma 1991)

1.4. Diabetes Mellitus ve oksidatif stres

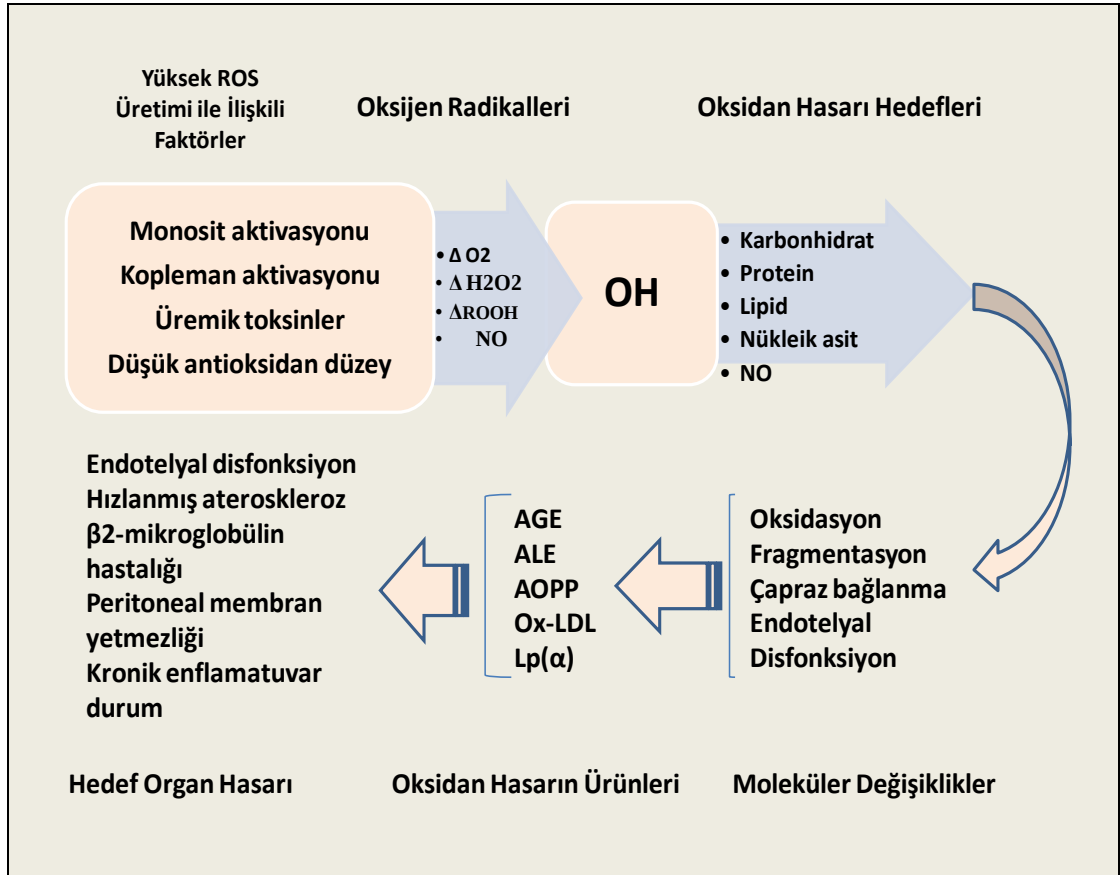
Son yıllarda yapılan çalışmalar, artmış serbest oksijen radikallerinin (SOR) ve lipid peroksidasyonun, birçok hastalığın gelişiminde rol aldığını göstermektedir. Miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, diabetes mellitus, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın oksidatif stres ile ilgili olduğu gösterilmiştir (Hasanoğlu vd 1994; Özenirler vd 1994; Engin ve Altan 2000; Engin vd 2003; Yardım-Akaydın vd 2004; Engin vd 2005; Yardım-Akaydın vd 2006).

Organizmada SR'lerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılmaktadır. Oksidatif denge

sağlandığı sürece organizma SR'lerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olmaktadır (Serafini and Del Rio 2004). Oksidatif stres olarak tanımlanan bu durum vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasında peroksidasyona neden olan SR üretimi arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanabilmektedir (Mercan 2004). Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında yakın bir bağın olduğu in vivo çalışmalarla da desteklenmiştir. SR'ler ile antioksidan savunma sistemi arasındaki bu dengenin bozulup prooksidan ve oksidan maddeler lehine dönmesi DM'ta oksidatif stresin gelişmesine neden olmaktadır (Wolff 1993).

Enzimatik olmayan glikozilasyon, otooksidatif glikozilasyon, antioksidan savunma sistemindeki çeşitli değişiklikler, hipoksi gibi nedenler diyabette oksidatif stresi artıran mekanizmalardır.

Metabolik stres sonucunda diyabetin komplikasyonları oluşmakta ve bu metabolik stres oksidatif olayların artmasına neden olmaktadır. Bu durum diyabet komplikasyonlarının gelişimini kolaylaştıran yapısal ve fonksiyonel hasarı oluşturmaktadır (Şekil 1.4) (Halifeoğlu vd 2005).



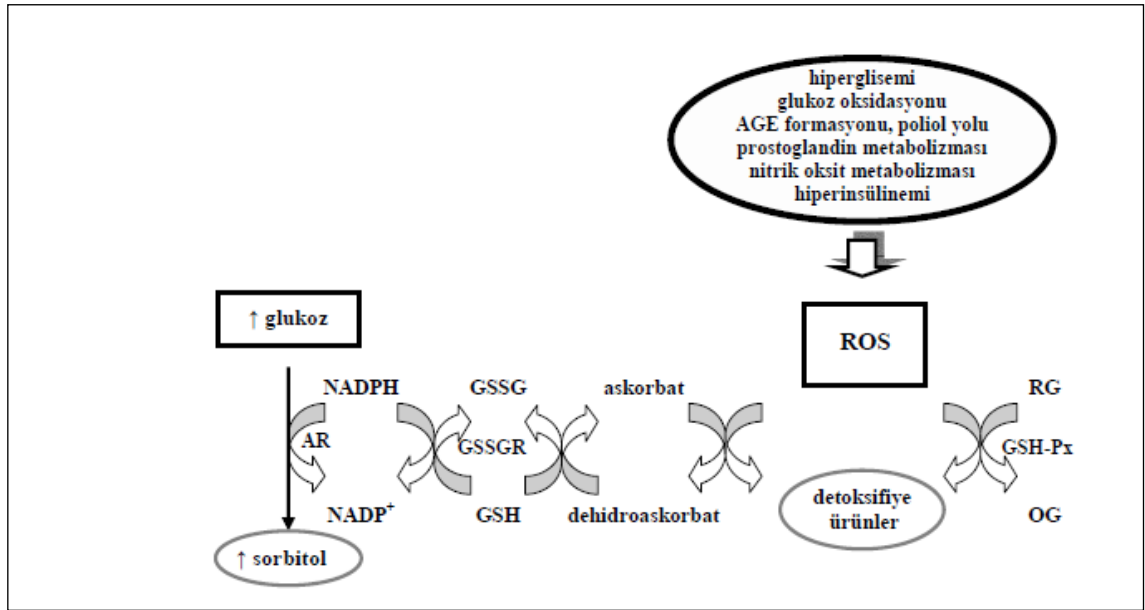
Şekil 1.4. Artmış oksidatif stresin sonuçları (Başkurt Aladağ 2008) (Değiştirilmiştir)

Yapılan çalışmalar da lipid peroksidasyonun göstergesi olan plazma MDA düzeyi teşvikle veya spontan gelişen insülin bağımlı ya da bağımsız diyabetiklerde yüksek bulunmuştur (Halliwell 1989; Strout 1990). Maritim *et al.* tarafından 2003 yılında yapılan çalışma da ise diyabette SR'lerin artması ile antioksidan savunma sisteminin zayıflamasına bağlı olarak insülin reseptörlerinin insüline karşı duyarlılıklarının azaldığını göstermişlerdir. Yine bir diğer çalışma da ise diyabette oksidatif stresin eritrosit membranında lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve zar lipid içeriğinin bozulduğu anlaşılmış ve bu değişikliklerden dolayı eritrositlerde Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde ve membran akışkanlığında bir düşüş olduğu saptanmıştır (Rabini 1997).

Alloksan ve STZ gibi kimyasal ajanların pankreas β hücresi üzerine olan toksik etkilerinin süperoksit dismutaz (Flechner 1990), vitamin E (Papaccio 1995),

nikotinamid (Mandrup 1993) ve melatonin (Montilla 1998) gibi antioksidan ajanlarla azaldığını ya da tamamen ortadan kaldırıldığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır.

Hiperglisemi aracılı SOR üretimi başlıca üç mekanizma ile açıklanmaktadır (Şekil 1.5) (Bonnetfont-Rousselot 2002).



Şekil 1.5. DM’de artmış oksidatif stresin mekanizması. AGE: İleri glukozilasyon son ürünleri, ROS: Reaktif oksijen türleri, AR: Aldoz redüktaz

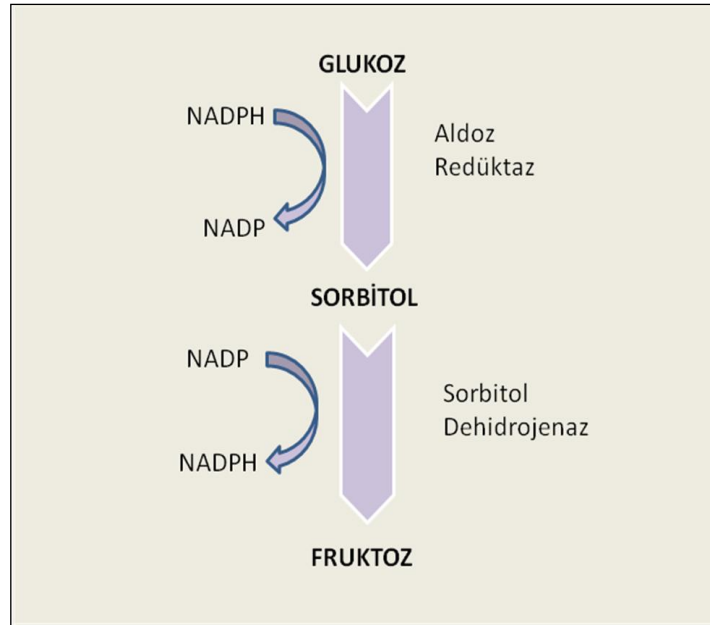
a. Glukozun Oto-oksidasyonu: Bu mekanizma da herhangi bir geçiş elementinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna parçalanmaktadır. Reaksiyonlar zinciri, süperoksit radikalının hidrojen peroksit üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikali oluşturması ile sonuçlanmaktadır. Hücre içi glukoz oksidasyonu NADH’ın açığa çıkmasına neden olmaktadır. NADH solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılmaktadır. Solunum zincirindeki bu reaksiyon sırasında süperoksit radikali açığa çıkmakta ve yüksek glukoz konsantrasyonu varlığında bu yolla süperoksit radikal üretimi artmaktadır. Mitokondri solunum zinciri başlıca hücre içi ROS üretim kaynağıdır. Son yapılan çalışmalar, diyabette ortaya çıkan patolojik bulguların

birçoğunun artmış mitokondriyal ROS üretimi ile ilgili olduğunu savunmaktadır (Altan vd 1997; Brownlee 2001; Green *et al.* 2004).

b. Proteinlerin glikasyonu ve AGE (İleri glikasyon son ürünleri) oluşumu: Yüksek glukoz konsantrasyonunda glukozlar bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz bir şekilde glikasyon reaksiyonlarının başlatılmasına neden olmaktadır. Glikasyona uğramış protein moleküler oksijene elektron vererek serbest oksijen radikalini meydana getirmektedir (Gillery *et al.* 1988). Glukoz ve proteinlerin amino grupları arasında kendiliğinden gelişen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonları yoluyla önce Schiff bazları sonrasında ise daha stabil olan amadori ürünleri oluşmaktadır. Bu ürünlerin oluşumunu takiben ilerlemiş glikasyon ürünleri (AGE) meydana gelmektedir (Dinçer vd 2002). AGE'ler, endotelin-1 aracılığıyla vazokonstriksiyonu artırarak endotel hasarına neden olduğu gibi, kompleks biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal üretebilme yeteneğine de sahiptirler. Yine AGE'lerin toksik etkileri arasında proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilmeleri, kendi reseptörleri ile oksidatif stresi indükleyebilmeleri ve sonuçta nükleer faktör kapa B (NFkB) gibi redoks duyarlı transkripsiyon faktörlerini aktive etmeleri ve ilgili gen ekspresyonlarının artışı sayılmaktadır (Bierhaus *et al.* 1998). Araştırmacılar, AGE'lerin reseptör aracılı mekanizma ile serbest radikal üretimini uyarmasının yanısıra, artmış serbest radikallerin de hücre içi AGE oluşumunu artırdığını ortaya koymuşlardır (Giardino *et al.* 1996; Bierhaus *et al.* 1997). Giardino *et al.* (1998) hücre içi AGE oluşumu ile lipid peroksidasyonu arasında sıkı bir ilişki olduğunu, lipid peroksidasyonunun önlenmesi ile AGE oluşumunun da önlendiğini bildirmiştir. Yapılan çalışmalar, AGE ve serbest radikallerin protein kinaz C (PKC)'yi aktive ettiğini göstermiştir. Aktif PKC'nin vasküler kan akımını, damar permeabilitesini, hücre dışı matriks bileşenlerini ve hücre büyümesine etki ederek vasküler komplikasyonların patogeneğinde önemli bir rol oynadığı açıkça görülmüştür (Chappey *et al.* 1997; Koya and King 1998; Way *et al.* 2001).

c. Poliol Yol: Yüksek glukoz konsantrasyonu, poliol yolu ile sorbitol üretimine neden olmaktadır. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığı için

hücre içi NADPH rezervleri tüketilmektedir. Okside glutatyonun redükte forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir (Maritim *et al.* 2003). Redükte glutatyonun ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında rol oynamaktadır (Şekil 1.6) (Das and Chainy 2001).



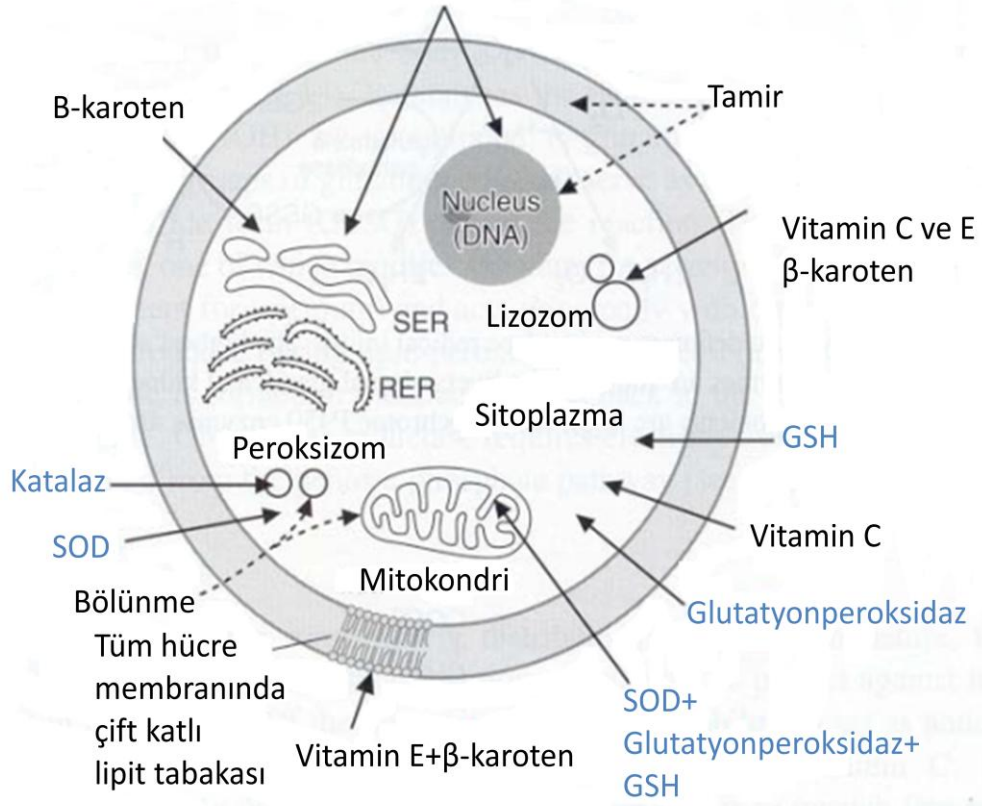
Şekil 1.6. Poliöl yolu (Nurlu Ayan 2007) (Değiştirilmiştir)

1.5. Antioksidan Savunma Sistemi

SR'lerin ve özellikle canlı için büyük öneme sahip reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların neden olduğu hasarı en aza indirmek ya da ortadan kaldırmak üzere vücutta bazı savunma sistemleri oluşturulmuştur. Bu mekanizma antioksidan savunma sistemi olarak adlandırılmaktadır (Ayas 2007).

Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz

hale getirildiği belirtilmiştir (Şekil 1.7) (Halliwell 1995). Endojen kaynaklı antioksidanlar kendi arasında enzim olanlar ve olmayanlar olmak üzere tekrar iki ayrılmaktadır. Hücre içi SR toplayıcı enzimleri olan endojen kaynaklı antioksidanlar arasında Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GPx), Glutasyon S-Transferazlar (GST), Katalaz (CAT), Miyeloperoksidaz (MPA), Hidroperoksidaz, Glutasyon Redüktaz (GR) sayılmaktadır. Melatonin, Seruloplazmin, Transferin, Miyogloblin, Hemogloblin, Albümin, Ferritin, Bilirubin, Glutasyon, Sistein, Metiyonin, Ürat, Laktoferrin ise enzim olmayan endojen kaynaklı antioksidanlardır. Eksojen kaynaklı antioksidanlar ise vitamin (α - tokoferol (vitamin E), β -karoten, Askorbik asit (vitamin C), Folik asit), ilaç (Allopürinol, Oksipürinol, Pterin aldehit, Tungsten, Adenozin, Lokal anestezikler, Kalsiyum kanal blokerleri, Diphenylene iodonium, Barbitüratlar, Mannitol, Albümin, Sitokinler) ve gıda antioksidanları (Butylated hydroxytoluene (BHT), Butylated hydroxyanisole (BHA), Sodium benzoate, Ethoxyquin, Propylgalate, Fe-superoxyde dismutase) olmak üzere üç gruba ayrılmaktadırlar (Akkuş 1995; Mates 1999; Halliwell and Gutteridge 2001).



Şekil 1.7. SR'lere karşı hücresel savunma (Anonim 2011d)

1.5.1. Diyabette antioksidan mekanizmalar

Oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidanlar denilmektedir. Normal sağlıklı kişilerde serbest radikaller/antioksidanlar denge halinde olup diyabette ise bu denge serbest radikaller lehine bozulmuştur (Memişoğulları vd 2005). Bu da diyabetin komplikasyonlarına neden olmaktadır. Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler (Young and Woodside 2001; Taysı vd 2002a; Sözmen 2002; Cherubini *et al.* 2005).

1. Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki enzimler tarafından yapılır.

2. Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılmaktadır.

3. Onarma etkisi

4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılmaktadır (Şekil 1.8).

Antioksidan Sistemler			
Süpürücü Antioksidanlar	Sentetik Antioksidanlar	Enzimatik Antioksidanlar	Önleyici Antioksidanlar
Askorbik asit	N-asetilsistein	Katalaz	Transferrin
α - tokoferol	Allopurinol	Paraoksonaz	Albumin
Tiyoller	Probakol	Süperoksit dismutaz	Seruloplazmin
β -karoten	Penisilamin	Glutasyon peroksidaz	Ferritin
Ürik asit	Deferoksamin		
Flavanoidler	Butil-hidroksitoluen		
Ko-enzim Q			

Şekil 1.8. Antioksidan sistemler

1.5.2. Antioksidan enzimler

Oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürmektedirler (Çizelge 1.6).

Çizelge1.6. Antioksidan enzimler

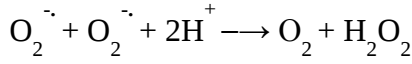
Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar
Mitokondrial Sitokrom Oksidaz Sistemi Süperoksid Dismutaz Katalaz Glutasyon Peroksidaz Glutasyon Redüktaz Glutasyon S-Transferaz	Lipit Fazda Bulunanlar E vitamini (α -tokoferol) β -Karoten Bilurubin Ubikinol Flavonoidler Melatonin Sıvı Fazda Bulunan Antioksidanlar C Vitamini (Askorbik asit) Glutasyon (GSH) Ürik asit Albumin

1.5.2.a. Enzimatik antioksidanlar

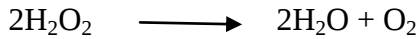
Mitokondrial sitokrom oksidaz: Solunum zincirinin son basamağında bulunan, bakır içeren bir hemoproteindir. Elektron taşıma zincirindeki görevine ek olarak süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlamaktadır (Mayes 1990).

Süperoksid dismutaz: Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968’de keşfedilmiştir. Süperoksitin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eden metallo enzimdir. 3 tür SOD bulunmaktadır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-Zn SOD ve üçüncüsü de Cu içeren ve plazmadaki süperoksid radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD’dur (Young and Woodside 2001; Taysı vd 2002b; Cherubini *et al.* 2005).

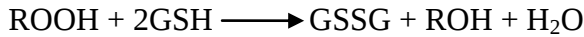
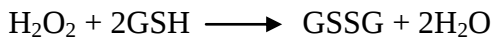
Süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizlemektedir. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedir. Ekstrasellüler aktivitesini çok düşük olduğu tespit edilmiştir (Royson 1988; Yalçın 1998).



Katalaz: Sumer ve Dounce tarafından 1937’de kristalize halde saflaştırılan yapısında Fe^{+3} bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir. Peroksizomlarda bulunmaktadır. SOD’un oluşturduğu H_2O_2 ’yi katalaz peroksidazlarla beraber oksijen ve suya parçalamaktadır (Young and Woodside 2001; Taysı vd 2002; Taysı vd 2002b; Cherubini *et al.* 2005).



Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Yaklaşık 85000 dalton ağırlığında aktif bölgesinde tetramerik 4Se (Selenyum) atomu içeren sitolojik bir enzimdir. Redükte glutasyonu yükseltirken H_2O_2 ’i de suya çevirmekte ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korumaktadır (Akkuş vd 1996).



GSH-Px’in iki substratı bulunmaktadır. Substratlardan birisi olan peroksitler alkolle indirgenirken, diğer substrat olan glutasyon (GSH) yükseltgenmektedir (Royson 1988; Yalçın 1998).

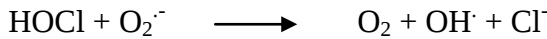
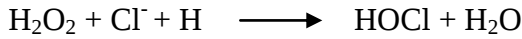
Glutasyon redüktaz: Yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş hale çeviren 2 subünitten oluşmuş bir dimerdir. Her bir subünit 3 tane yapısal alan içermektedir: NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve ara yüz alan olmak üzere. Okside GSH bir

subünitin FAD alanı ve diğer subünitin arayüz alanından oluşan bir bağlanma bölgesi bulunmaktadır. GSH'ın indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH'tan FAD'a transfer edilmekte daha sonra subünitlerdeki iki sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside GSH'a aktarılmış olmaktadır (Cherubini *et al.* 2005).

Glutasyon S-transferaz (GST): Toksik metabolitlerle glutasyonun konjugasyonunu katalizleyen GST enzimi detoksik metabolitlerin detoksifikasyonuna yol açan başka bir antioksidan enzimdir. Dimerik yapılı olup sitozolde yer almaktadır (Van Haaften *et al.* 2001).

Miyeloperoksidaz (MPx)

Nötrofil granüllerde bol miktarda bulunan MPx enziminin sistem içindeki görevi H_2O_2 'den hipoklorik asit (HOCl) oluşturmaktır (Onat vd 2002).



1.5.2.b. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Lipit fazda bulunan antioksidanlar

E vitamini (α - tokoferol): İlk olarak 1923 yılında Evans ve Bishop tarafından tanımlanmış olan bir tokoferoldür. Tabiatta 8 tanesi doğal olarak bulunmaktadır. Bunlardan α -tokoferol en aktif olanıdır. E vitamininin başlıca fonksiyonları; hücre membran fosfolipitlerini de SR'lerin oksidasyonlarından korumaktır (Akkuş 1995). Isıya dayanıklı olup dondurma ile önemli ölçüde tahrip olmaktadır (Orhan 1991).

Flavonoidler: Bitkilerdeki kırmızı, sarı ve mavi renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Başlıca; elma, portakal, limon gibi meyveler; patates, karnabahar, çay gibi bitkilerde bulunmaktadır. Flavonoidler farklı yollarla lipid peroksidasyonunu engellemektedirler;

- 1- Peroksidasyonu başlatan radikalleri tutarak,
- 2- Metal iyonlarını bağlayarak,
- 3- Radikal oluşturuvcu enzimleri inhibe ederek

Ancak bazı flavonoidlerin metal iyonlarıyla bağlanarak pro-oksidan etki yaptığı saptanmıştır (Niki 1987).

Bilirubin: Hem katabolizmasının son ürünü olan bilirubin, singlet oksijen, peroksinitrit ve hipokloroz asit gibi reaktif oksijen ve nitrojen türevlerini, baskılarken peroksil radikallerine karşı hidrojen donörü olarak davranarak lipid peroksidasyonunun zincir devam ettirici radikalini de etkisiz hale getirmektedir. Bilirubin, dolaşımda albümine bağlanmakta ve albümine bağlı yağ asitlerini lipid peroksidasyona karşı kormaktadır (Halliwell and Gutteridge 1990).

β -Karoten: Karotenoidler (β -Karoten, Likopen, Zeaksantin, Lutein) genelde turuncu, sarı bileşikler olup çoğu zaman bitkilerde bulunan pigmentlerdir. İnsan ve hayvanlar karotenoid biyosentezini gerçekleştiremedikleri için bu bileşikleri diyetle almaktadırlar. A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -Karoten'in singlet oksijeni baskılama, superoksit radikalini temizleme özelliklerine ek olarak düşük oksijen kısmi basıncında peroksit serbest radikallerinin dokulara hapsedilmesinde görev alarak antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir (Niki 1987).

Ubikinon: Mitokondride aerobik koşullarda oksitlenmiş kinon, anaerobik koşullarda ise indirgenmiş kinol halinde bulunmaktadır. Mitokondrial lipidlerin bir yapıtaşıdır. Membran fosfolipitlerini oksidatif hasardan koruduğu ve singlet oksijeni temizlediği düşünülmektedir (Krinsky 1988).

Melatonin: En zararlı radikallerden hidroksil radikalini ortadan kaldıran güçlü bir antioksidandır. Önemli bir özelliği lipofilik olmasıdır. Böylece hücrenin bütün önemli organellerine ve çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan beyin engelini de kolayca geçmektedir. Melatonin'in yüksek dozda ve uzun süreli kullanımında bile toksik etkisi görülmemiştir. Ayrıca bazı antioksidanlar gibi prooksidan aktivitesi de gözlenmemiştir (Niki 1987).

Sıvı fazda bulunan antioksidanlar

C vitamini (Askorbik asit): Suda eriyen güçlü bir antioksidandır. Prolin, lizin ve dopamin β -hidroksilaz enzimlerinin kofaktörü olup, bu amino asitlerin hidroksilasyonunda ve kollajen fibrillerin sentezinde gereklidir. Askorbik asidin bir elektron oksidasyonu sonucu monodehidro askorbil radikali oluşurken, reaksiyona girdiği radikali de etkisiz hale getirmektedir. Askorbik asidin radikalik formu ise glutasyon sistemi tarafından askorbik aside yeniden dönüştürülmektedir (Mendiratta *et al.* 1998).

Glutasyon (GSH): GSH, glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptit olup antioksidan ve hücre içi indirgeyici bir ajandır. Proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutmakta ve bu grupları oksidasyona karşı korumaktadır. Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve amino asitlerin membrandan transportunu sağlamaktadır (Droge *et al.* 1994).

Ürik asit: Normal plazma konsantrasyonunda hidroksil, süperoksit, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizlemekte, bakır ve demir iyonlarıyla oluşan oksidasyona karşı selat yaparak C vitaminin oksidasyonunu engellemektedir (Akkuş 1995). Hemoglobin ve eritrositleri peroksidatif hasara karşı korumaktadır (Kayaalp 1997).

Albumin: Plazmanın zincir kırıcı antioksidan aktivitesine yol açan plazma sülfidril gruplarının komponentidir. Plazmada hipokloröz asidin güçlü bir temizleyicisidir (Frei 1994; Yalçın 1998).

1.6. Böbrek

1.6.1. Anatomisi

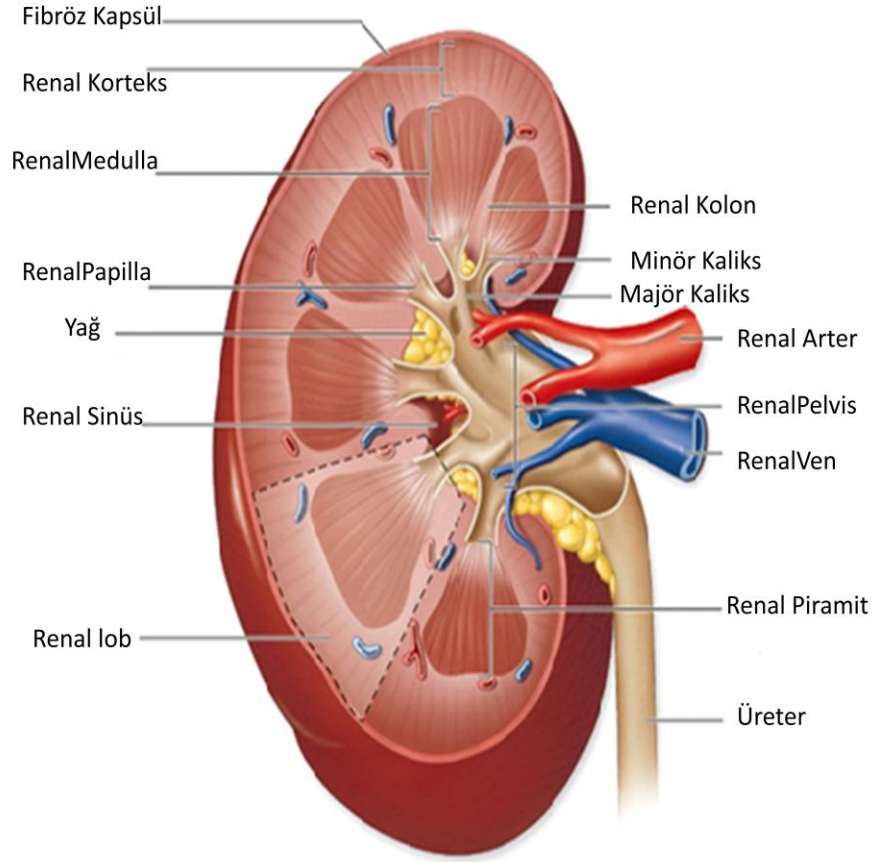
Böbrekler omurgalılarda, omurganın sağında ve solunda, karın zarının (periton) arkasında bulunan fasulye biçimindeki boşaltım organlarıdır.

Böbreklerin üst uçları 12. toraksik vertebra, alt uçları ise 3. lomber vertebra hizasındadır (Allen 1962; Zeren 1972; Çağlar 1986).

Sağ böbreğin ön yüzü, karaciğerin alt yüzü ve sağ kolon dirseği ile komşudur. Sol böbreğin ise ön yüzü pankreas kuyruğu ve dalak ile komşudur. Arkada her iki böbrek, karın arka duvarı ile komşudur (Zeren 1971; Yücel vd 1989). Böbrekler konumları bakımından bakışimsızdırlar bunun nedeni ise karın boşluğunda büyük bir yer kaplayan karaciğerin, sağda bulunan böbreği soldakine göre 1-2 cm daha aşağıya itmesidir.

Böbrekler yaklaşık olarak 11-12 cm uzunluğunda, 6 cm genişliğinde, 2,5-3 cm kalınlığında ve 100-200 g ağırlığındadır (Zeren 1971; Odar 1977).

Böbrekler bağ dokusundan yapılmış fibröz bir kapsül ile sarılmıştır. Bu tabakanın dışında yağ, onun da dışında ince bir bağ doku tabakası bulunmaktadır. Normal böbrek pozisyonunu fibröz kapsülden çıkan ince bağ dokusu uzantıları, böbrekleri saran dokuların turgoru ve karın duvarı gerginliği sağlamaktadır (Şekil 1.9) (Allen 1962).



Şekil 1.9. Böbrek histolojisi (Anonim 2011c)

Böbrekler özel bir şekle sahip olup dış kenarı konveks, iç kenarı konkav olup burada hilus bulunmaktadır. Ortasında sinus denen bir boşluk vardır. Böbrek kapsülü hilustan sinus boşluğuna girmekte, ordaki yapılarla kaynaşmaktadır. Sinus yağ dokusu içinde renal pelvis, kaliksler, damarlar ve sinirler bulunmaktadır. Üç grup üst, orta, alt küçük kaliksler (12 adet) birleşerek üç grup büyük kaliksler yapmaktadır. Bu üç grup büyük kalikte birleşip renal pelvisi oluşturmaktadır. Huni şeklindeki renal pelvis üreterle birleşmekte ve çanak şeklinde olan her minör kalikse 1 bazen 2 papilla uymaktadır. Bu kalikslerin etrafında spiral şeklinde kaslar bulunmakta ve kaslar papillanın delikli (area cribiosa) ucundaki 10 kadar büyük kollektör (toplayıcı) kanaldan (bellini kanalcığı) sağma şeklinde idrarın çıkmasını sağlamaktadır.

Böbrek kesitinde makroskopik olarak üç kısım gözlenmektedir. Bu üç bölüm köken ve görev bakımından farklılık göstermektedir. Korteks nefrojen dokudan köken alıp idrar yapan oluşumları içermektedir. Medulla ise üreter tomurcuğundan gelişir ve başlıca toplayıcı kanallardan yapılmıştır.

Korteks renalis (kabuk): Dış yüzeye yakın 4-6 mm kalınlığında kırmızı esmer renkte ve piramitlerin tabanlarını örten kısımdır. Korteks dokusu piramitler arasında da Bertini kolonları adı ile sinüs renalise kadar uzanmaktadır. Kortekste glomerüller, proksimal ve distal tübülüsler ve dış kortekste nefronların henle kulpları bulunmaktadır.

Medulla renalis: İçteki kısımdır. Konik şekilli 8-10 piramitten oluşmaktadır (malpighi piramitleri). Piramidin tabanı kortekse, tepesi hilusa bakmaktadır. Böbreğin bu kısmında toplayıcı kanallar, Henle kulpları ve vasa rekta'lar bulunmaktadır. Piramitlerin uç kısımları minör kalikslerin içine girerek papillaları oluşturmaktadır. Papillaların sayısı 5-11 kadardır. Normalde kortekste rahat seçilmeyen interstisyel doku medullada daha belirgin bir şekilde gözlenmektedir.

Piramit ve onu çevreleyen korteks dokusu birlikte böbrek loblarını yapmaktadır. İki interlobüler arteriol arasında kalan toplayıcı kanal, iki yanındaki nefronlarla beraber böbrek lobülüsünü oluşturmaktadır.

Pelvis renalis: Renal sinüs içinde 2-3 dal vermektedir. Bu dallara major renal kaliksler denilmektedir. Her bir kaliks renalis major sayıları 7-13 arasında değişen kaliks renalis minor ve daha küçük dallara ayrılmaktadır (Çağlar 1986; Çimen 1994).

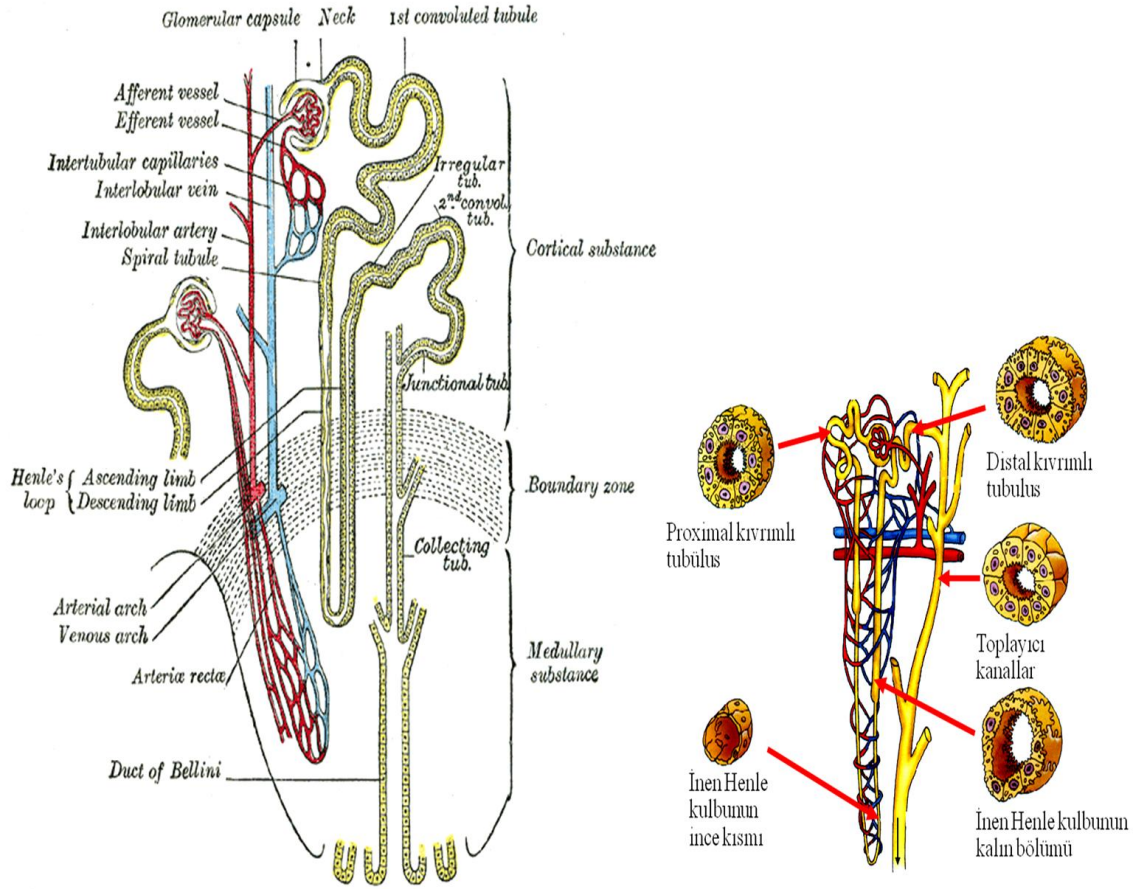
1.6.2. Histolojisi

Böbreğin iki ana fonksiyonu vücuttaki metabolizma artıklarını dışarı atmak ve vücut sıvılarındaki maddelerin konsantrasyonunu kontrol etmektir. Bu fonksiyonları yerine getiren böbreklerin en küçük fonksiyonel birimine ise nefron adı verilmektedir. Bir nefron yaklaşık olarak 50 mm uzunluğundadır ve her bir böbrekte ortalama olarak 1-1,2

milyon kadar nefron bulunmaktadır. Bir nefron, glomerülüs (renal korpuskül; Bowman kapsülü ve glomerül yumağı), proksimal tübülüs (pars konvoluta ve pars rekta), Henle kulpu, distal tübülüs (pars rekta ve pars konvoluta makula densa) ve toplayıcı kanallardan meydana gelmektedir (Şekil 1.10).

Nefronun glomerülüs, proksimal ve distal tübülüsün pars konvolutaları kortekste bulunmaktadır. Korteksteki Henle kulpları medüller ışınlar içinde yer almaktadır. Glomerülleri kortekse yakın olan nefronlara kortikal nefron denilmektedir. Kortikal nefronların Henle kulpları kısadır. Glomerülleri böbrek medullasına çok yakın olan nefronlara ise Juksta-medüller nefronlar denilmektedir. Bunların Henle kulpları uzun olup, medullanın en derin kısımlarına kadar uzanmaktadır. Bu hücrelerde mitokondri, lizozom, golgi aygıtı daha az sayıda ve daha gelişmiş olarak bulunmaktadır. Nefronların %14'ü juksta-medüllerdir (Allen 1962).

Bir nefron temel olarak sıvının filtre edildiği glomerülüs ile filtre edilen sıvının böbrek pelvisine akarken idrar niteliklerini kazandırdığı uzun bir tübülüsten oluşmuştur. Kan afferent arteriyolle glomerül içine girmekte ve efferent arteriyolle çıkmaktadır. Glomerül 50 kadar paralel dala ayrılıp anastomozlar yapan kapillerlerden oluşmaktadır. Epitel hücreleriyle örtülü olan bu kapiller yumak Bowman kapsülü içindedir. Glomerül içindeki kan basıncı sıvının kapsül içine süzülmesini sağlamaktadır. Sıvı buradan kortekste glomerülün yanında yer alan proksimal tübülüslere akmaktadır. Buradan da Henle kulpuna geçmektedir. Henle kulpunun inen kısmı ile çıkan alt ucunun çeper çapı ince olduğundan 'ince segmenti' adını almaktadır. Henle kulpu medullaya kadar uzanım göstermektedir. Çıkan kolu kortekse tekrar yükselirken kalınlaşmakta ve kolun 'kalın segmenti'ni oluşturmaktadır. Sıvı henle kulpundan sonra kortekste yer alan distal tübüle geçmektedir. Distal tübüller birleşerek toplayıcı tübülleri oluşturmaktadır. Toplayıcı tübüller korteksten medullaya dönerek orada toplayıcı kanallara dönüşmektedir. Toplayıcı kanallar medullanın derinliklerine doğru henle kulpuna paralel ilerlerken birbirleriyle birleşerek genişlemekte, en alt kısımda geniş toplayıcı kanal böbrek papillasının ucundan böbrek pelvisine açılmaktadır. Bu papillalar medullanın böbrek kaliksine doğru yaptıkları çıkıntılardan oluşmaktadır (Guyton and Hall 2001).



Şekil 1.10. Nefronun yapısı

Glomerulus: Malpighi cismi ve Bowman kapsülü birlikte glomerulusu oluşturmaktadır. Glomerulusların temel fonksiyonu kapillerlerden gelen kan sıvısının süzülmesini gerçekleştirmektir. Kan, glomerulusa afferent arteriöl yolu ile girmekte ve efferent arteriöl yolu ile çıkmaktadır. Glomeruluslara gelen afferent arteriöl endotel hücresi, düz kas hücresi ve az miktarda perisit (damar duvarının bir bölümünü oluşturan ve endotel hücresinin taban zarı (bazal membran) içine gömülmüş olarak bulunan hücre) oluşmuştur. Afferent arteriölün dalları ve anastomozları, ortasındaki mezengium dokusu ile birlikte bir glomerül lobülü teşkil etmektedir. Efferent arteriöl de tübülsleri sararak peritübüler kapiller ağını yapmaktadır (Allen 1962).

2 milyon glomerülden dakikada yaklaşık olarak 1-2 litre kan geçer. $40\text{\AA}$ a kadar olan partiküller molekül yüke bağlı olarak glomerülden geçer buna karşın daha küçük

partiküller (15A° dan küçük) ise yüke bağlı olmaksızın filtre olmaktadır.

Bowman kapsülü: Bowman kapsülünün parietal yaprağının hücreleri yassı olup bu hücreler kalın bir bazal membran üzerinde yer almaktadırlar (Bulger 1979). Visseral yaprağın epitelyum hücreleri (podosit) ise önce trabekül denen uzantıları, bunlarda terminal ayakcıkları yaparak çapraz bir şekilde bazal membran üzerinde yer almaktadır. Podositler (ayakcık) arasında üzeri membranla örtülü ince yarıklar bulunmaktadır. Podositler sialik asit içeren mukopolisakkaritli bir tabakayla örtülüdürler. Podositlerin altında bulunan bazal membran tabakası, kapillerlerin mezengiuma komşu olan kısmındaki duvarını örtmektedir. Bazal membran kollagen benzeri bir protein ve sialik asitten zengin bir glikoproteinden oluşmuştur.

Proksimal tübülüs: Pars konvoluta ve Pars rekta olmak üzere iki kısmı bulunmaktadır. Pars konvoluta kortekstedir. Pars rekta ise kortekste medüller ışıklarda ve medullada yer almaktadır. Pars konvoluta nefronun en uzun ve en geniş kısmıdır. Hücreleri iyi gelişmiş silindirik ve kübiktir (Heptinstall 1983). Hücre yanlarında bulunan lateral uzantılar, komşu hücre uzantılarıyla iç içe girerek transport işlemlerinde etkin rol oynamaktadır. Sodyum pompası bu kısımda yer almaktadır (Ernst 1975). Yan uzantılar içinde mitokondriler bulunmakta bunlar transport sistemine enerji sağlamaktadırlar (Diamond and Tormey 1966).

Hücrenin fırçası yüzünü mikrovilluslar yapmaktadır (Bulger 1979). Burada Na^+ , K^+ 'un uyardığı ATPaz bol olup proksimal tübülüslerden protein Emilimini sağlamak için villuslar arasında apikal girintiler meydana gelmiştir. Proksimal tübülüs hücrelerinde çok miktarda ribozom ve mitokondri bulunmaktadır. Bu kısım suya, küçük ve büyük iyonlara karşı çok geçirgen olup tübülüslerdeki sıvı izotoniktir (Erek 1988).

Glomerüler süzüntüden tübüller yoluyla aktif olarak geri emilen maddelerden önemlileri glukoz, Na^+ , K^+ , PO_4^{2-} , aminoasitler, kreatin, ürik asit, askorbik asit, asetoasetik asit, beta-hidroksi bütirik asit gibi maddelerdir. Aktif taşımının çoğu proksimal tübüllerde olmaktadır (Noyan 1989).

Henle kulpu: İnce inen ve kalın çıkan kısımlara sahip U şeklinde, büyük kısmı medullada bulunan bir nefron segmentidir. Henle kulpunun çıkan kalın kısmından gerek Na^+ ve gerek Cl^- un aktif olarak peritübüler, interstisyel sıvıya taşınmasının yanında bu çıkan kısmın suya karşı geçirgen olmayışı peritübüler medulla bölümünün hipertonic, kulpun içindeki sıvının ise hipotonik olmasına yol açmaktadır (Erek 1988). Ancak bu kısım kanda vasopressin hormonu (ADH) bulunduğunda suya karşı geçirgen olmaktadır (Noyan 1989).

Distal tübülüs: Proksimal kıvrımlı tübüllerden daha kısadır ve hücreleri daha basıktır. Kısa mikrovillusları bulunmakla beraber fırçamsı kenarları yoktur. Çok az vakuol ve lizozomlar bulunmaktadır. Hücre tabanında plazma membranının girintileri fazla olup bu girintilere fazla miktarda komşu hücre uzantıları dolmuştur. Hücre yan bağlantıları çok kuvvetlidir (Uslu 1987).

İnterstisyum: Böbrek korteksinde az, medullada toplayıcı kanallar etrafında daha çok görülmektedir. Bu hücreler prostaglandinleri yapmaktadır (Allen 1962; Bulger 1979; Heptinstall 1983). Prostaglandinler vücutta doğal olarak üretilen bir grup yağ asitleri olup hormonlara benzer şekilde hareket etmektedirler.

Kollektör (Toplayıcı) kanallar: Elektrolitler buradan çok az emilmektedir. Sodyumun Aldosteron etkisiyle aktif olarak emildiği kabul edilmektedir. Buradaki esas ve önemli olay; ADH hormonunun etkisiyle suyun reabsorbsiyonudur. Suyu karşı geçirgenliği artan hücrelerden suyun hipertonic medullaya kolayca geçmesi mümkün olmaktadır. Bunların sonucu idrarın konsantrasyonu yükselmektedir (Erek 1988).

Glomerüler bazal membran (GBM): Podositlerin ve endotelin arasında bulunan 300-350 nm kalınlıkta olan GBM, kalınlığından dolayı peryodik asit schiff (PAS) ile boyanan histolojik kesitlerde göze çarpmaktadır. Filtrasyon bariyerinin önemli bir komponentidir. GBM, fiziksel bir bariyer ve iyon-seçici süzücü gibi rol oynamaktadır. GBM, tip IV kollagen, sialoprotein ve laminin, fibronektin, entaktin gibi

glikoproteinler, ayrıca özellikle heparan sülfat gibi glikozaminoglikan ve proteoglikanları içermektedir (Büyükdevrim vd 2005).

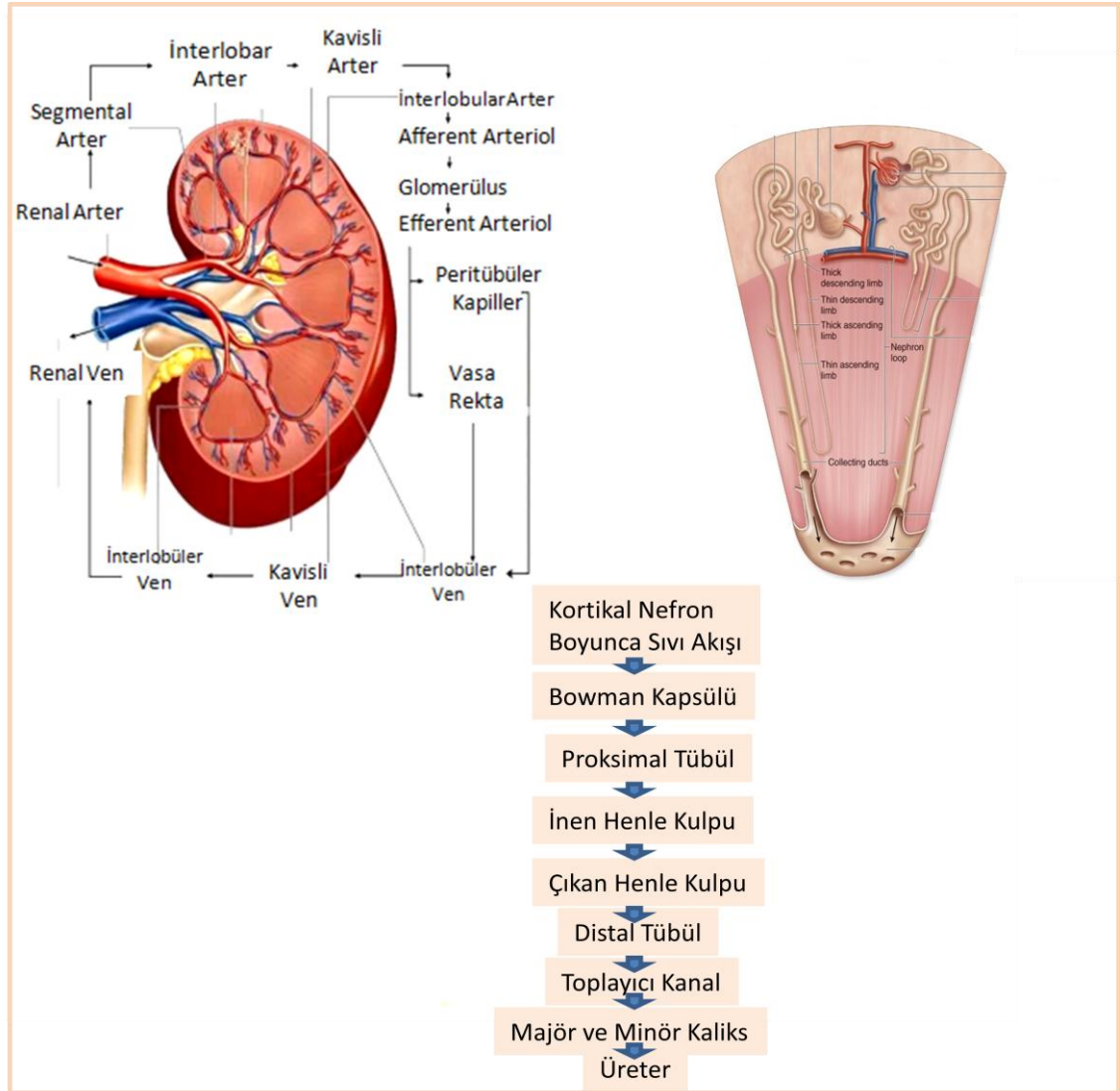
1.6.3. Fizyolojisi

Böbrekler canlıda, değişen faktörlere rağmen iç ortamın sabit tutulmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. Böbreklerin temel fonksiyonları şöyle sıralanabilmektedir;

- 1- Vücut sıvı ve elektrolit dengesinin korunması ve sürdürülmesi
- 2- Metabolik atık ürünlerin (üre, ürik asit, kreatinin) atılımı
- 3- İlaçlar, toksinler ve bunların metabolitlerinin detoksifikasyonu ve atılımı
- 4- Ekstrasellüler sıvı hacmi ve kan basıncının hormonal düzenlenmesi
- 5- Hormon sentezi ve metabolizmasına katkı: Eritropoetin, D vitamini
- 6- Peptid hormonlarının (insülin, glukagon) yıkımı
- 7- Küçük molekül ağırlıklı proteinlerin (β 2-mikroglobulin) yıkımı
- 8- Metabolik etki: Glukoneogenez, lipid metabolizması (Akpolat vd 1996).

Böbreklerde idrar oluşumu süzülme, geri emilim ve salgılama (aktif taşıma) olayları sonucunda olmaktadır. Süzülme malpigi cisimciğinde gerçekleşirken glomerülustan bowman kapsülüne kan plazmasının bir kısmı, su, tuzlar, glikoz, aminoasit, üre, ürik asit, vitamin, keratin gibi maddeler geçmektedir. Kan basıncı arttıkça süzme hızı da artmaktadır. Geri emilim henle kanalında olup suyun büyük bir kısmı glikoz, aminoasit, madensel tuzlar, vitamin, üre ve ürik asitin bir kısmı henle kanalını saran kılcallar tarafında emilerek kana verilmektedir. Su, madensel tuzlar, kerantin sülfat, NH_3 , üre ve ürik asitin geri kalan kısmı nefronda kalarak idrarı oluşturmaktadır. Su dışındaki maddelerin geri emilimi aktif taşıma ile olmaktadır. Suyun geri emilimin de hipofizin salgıladığı antidiüretik hormon (ADH-Vazopressin) etkilidir. Na ve K atılımı ve geri emilimi böbrek üstü bezinden salgılanan aldosteron hormonu tarafından düzenlenmektedir (Anonim 2011g).

Glomerüler filtrasyon: Glomerüluslardaki filtrasyon pasif bir olaydır. Metabolik enerjiye gereksinim göstermemektedir (Hallaç 1979). Glomerülustaki süzüntü yapı bakımından, kapillerin arteriyel kısmındaki interstisyel sıvıya süzülen sıvı ile hemen hemen aynıdır. Yani glomerül süzüntüsünün anlamlı miktarda protein içermemesi (%0,03) dışında, glomerulus süzüntüsü ile serum aynıdır. Glomerül süzüntünün elektrolit ve diğer erimiş maddeler yönünden de içeriği interstisyel sıvı ile aynıdır (Guyton 1978). Glomerulus içindeki kanın basıncı sıvının bowman kapsülüne süzülmesini sağlamak ve süzüntü oradan önce proksimal tübüllerin içine akmakta daha sonra süzüntü henle kulpuna gitmektedir. Henle kulpundan sonra distal tübüllere giden süzüntü sonunda toplayıcı kanallara akmaktadır. Toplayıcı kanallar korteksten aşağı doğru medulla kısmında ilerleyerek Henle kulplarına paralel uzanmaktadırlar. Sıvı daha sonra böbrek pelvisine boşaltılmaktadır. Böbrekler bir günde 180 L kanı filtre ederek yaklaşık 1,5 L idrar oluşturmaktadır (Şekil 1.11) (Koçyiğit 1992).



Şekil 1.11. Nefronun yapısı ve idrar oluşumu (Yıldar 2008)

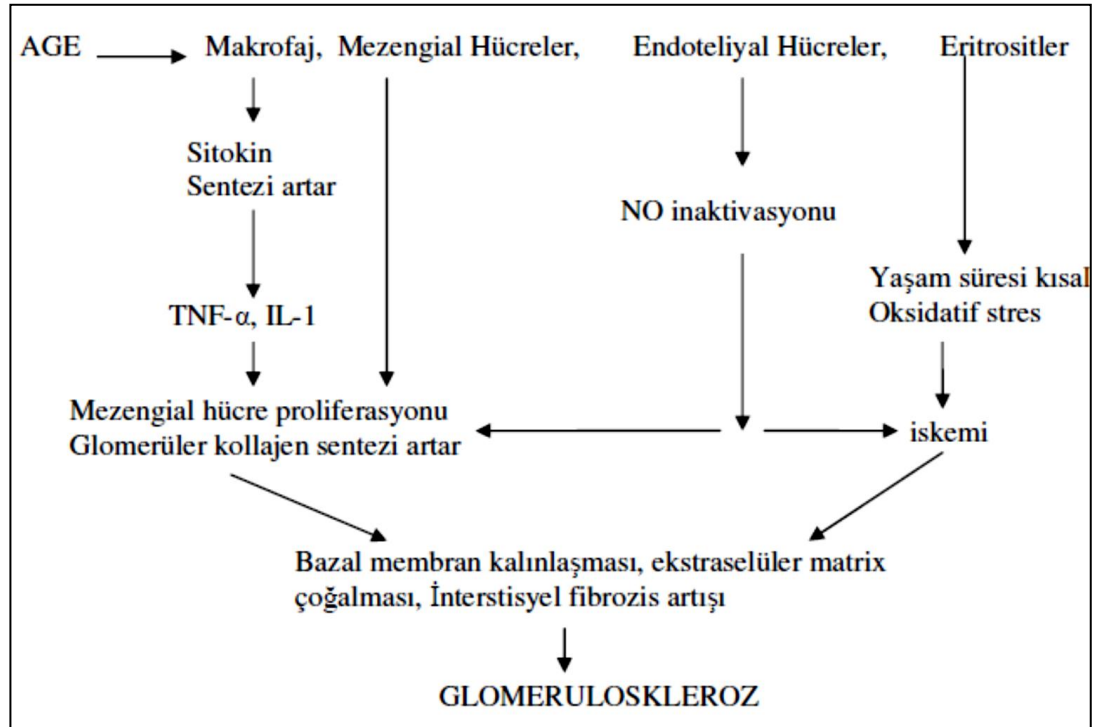
1.6.4. Böbreğin endokrin fonksiyonları

Böbrekler eritropoietin, renin ve prostoglandinleri (PG) üreten endokrin fonksiyonlu organlardır. İnsülin ve aldosteron gibi hormonların yıkımı böbrekte yapılmaktadır. D vitamini aktif hale gelebilmek için iki kez hidroksillenmekte, ilk hidroksilasyon karaciğerde gerçekleşirken ikinci hidroksilasyon böbrekte yapılmaktadır (Noyan 1998).

1.7. Diyabetik Nefropati (DN)

Günümüzde hızla artan ve toplumda sık görülen DM, yüksek oranda hedef organ hasarlarına yol açmaktadır. Morbidite ve mortalitesi yüksek olan DM'nin hedef organları arasında böbrekler önemli yer tutmaktadır. DM'de kolay oluşan üriner traktüs ve renal infeksiyonlar ve makrovasküler bozulmalar nefropati gelişimini kolaylaştırmaktadır (King *et al.* 1998).

DM'ye bağlı olarak proteinüri (albüminüri), arteriyel hipertansiyon, yumuşak ve yaygın ödemler ve zamanla böbrek yetersizliği ile sonuçlanan glomerülötübüler lezyonların bütününe diyabetik nefropati (DN) ismi verilmiştir (Şekil 1.12) (Kuloğlu ve Dabak 2008).



Şekil 1.12. DN'nin etki mekanizması (AGE: İleri glikolizasyon ürünleri) (Aydın 2008)

Diyabetik bir hastada üç ile altı ay arasında en az iki idrar tahlilinde günlük 300 mg ve üzerinde albuminüri saptanması veya günlük 500 mg proteinüri saptanması ile diyabetik nefropati tanısı konulmaktadır.

Kanda glukoz miktarının uzun süreli olarak yüksek olması (hiperglisemi) damarlarda bozukluklara neden olmaktadır. Bu bozulmalar sonucu retina, sinirlerde ve glomerüllerde patolojik durum ortaya çıkmaktadır (Kahn *et al.* 2005). Hiperglisemi nedeniyle böbreğin süzme fonksiyonu artmakta, bunun sonucunda böbrek damarlarında daralma olmaktadır. Böylece böbreklerde yaygın işlev bozukluğu oluşmaktadır.

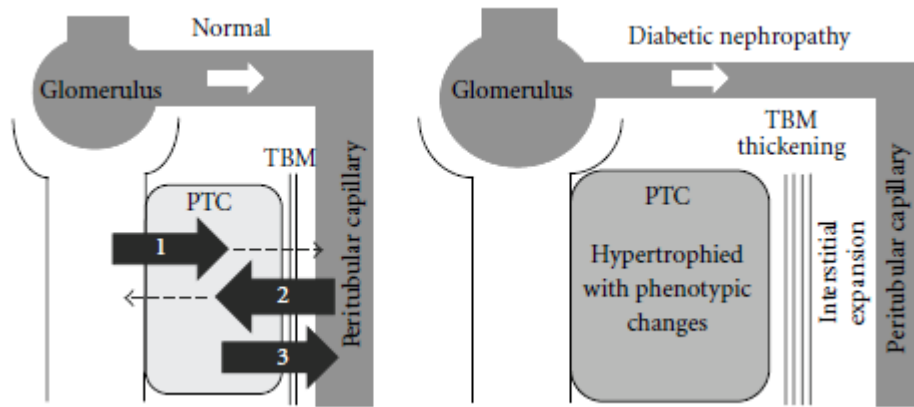
Gelişmiş ülkelerde her yıl ilk kez renal replasman tedavisine başlayan hastaların üçte birinde tanı DN'dir (Altınparmak ve Apaydın 2001). Bu, gelişmiş ülkelerdeki son dönem böbrek yetersizliğinin (SDBY) en sık nedeninin DN olduğu anlamına gelmektedir. Avrupa ve Amerika'da IDDM'li hastaların %30-50'sinde, NIDDM'lilerin %5-15'inde DN gelişmektedir (Çizelge 1.7) (Herman 1990; Perrin *et al.* 2010). DN, artan sayıda hastanın SDBY geliştirmesinden dolayı önemli bir sağlık sorunu olarak kaydedilmiştir (Boner *et al.* 2002).

Çizelge 1.7. Diyabetik hastalarda nefropati prevalansı (Erdoğan 1997)

DIYABETİK HASTADA NEFROPATİ PREVALANSI	Tip 1 Diyabet	Tip 2 Diyabet
Diyabetik Nefropati Gelişmesi	% 30-35	% 15-45
Mikroalbuminüri	% 10-20	% 15-30
Makroalbuminüri	% 10-20	% 15-30
Başlangıçtan Aşıkâr Nefropatiye Geçiş	% 75-85	% 50-80
Aşıkâr Nefropatiden Son Dönem Böbrek Yetmezliğine Geçiş	% 45-50	% 10-50
Başlangıç Aşamasından Son Dönem Böbrek Yetmezliğine Geçiş zamanı	5-20 yıl	5-25 yıl

Tip 1 ve Tip 2 DM'un böbrek üzerinde yaptığı patolojik lezyonların benzer olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte Tip 1 DM'de nefropatinin gelişmesinde ve ilerlemesinde hipergliseminin payı büyük olup genellikle hipertansiyon (HT) ve kardiyovasküler hastalıklar (KVH), nefropati geliştikten sonra oluşmaktadır (Mogensen *et al.* 1983; Parving *et al.* 1996; Kurt vd 2004).

DN'de morfolojik olarak, glomerül bazal membranlarında, tübül bazal membranda ve Bowman kapsülünde kalınlaşma, mezenşimal matrikste genişleme ve glomerüler filtrasyonda değişiklikler görülmektedir (Şekil 1.13).

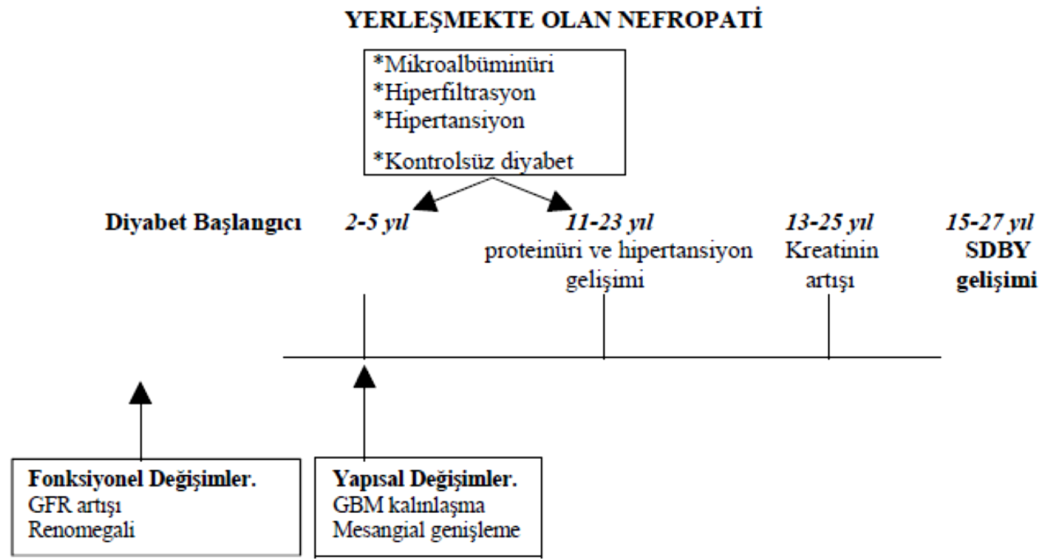


Şekil 1.13. Proksimal tübül hücrelerinin normal fonksiyonu ve erken diyabetik nefropati aşamasında hücreler etrafındaki yapısal değişiklikler (Saito *et al.* 2011)

Mezenşimal hücrelerde hipertrofi olmaktadır. Hipertrofik mezenşimal hücreler ekstrasellüler matriks üretimini belirgin olarak arttırmaktadırlar. Ayrıca, afferent ve efferent arteriyollerde hızlıca hiyalin kalınlaşma oluşmaktadır. Glomerüllere düşen mezenşimal hacmin artması sonucunda, glomerüler kapiller yüzey alanı azalmakta sonucunda diffüz glomerüloskleroz oluşabilmektedir. Bununla birlikte nodüler sklerotik lezyonlar da görülebilmektedir. Nodüler glomerüloskleroz diyabetik nefropatinin bir işareti olup ilk olarak Kimmelstiel ve Wilson tarafından tanımlanmıştır. Ancak DN'li hastaların %80'inde gözlenmemiştir (Friedman 1996). Bu patolojik değişiklikler olurken, filtrasyon alanında ve nefron kitlesinde azalma, kalan nefronlarda daha yüksek kapiller akıma neden olmaktadır. Böylece, intraglomerüler HT, hiperfiltrasyon ve bazal

membrandaki selektif geçirgenlikteki değişiklikler ile hızlanan ilerleyici proteinüri oluşmaktadır (Phillips and Steadman 2002; Kurt vd 2004.)

Diyabetik nefropati gelişim süreci Mogensen'in tanımladığı beş evreden geçmektedir (Şekil 1.14);



Şekil 1.14. Diyabetik nefropatinin gelişim aşamaları (Rudberg and Dahlquist 1996)

Evre 1: Hiperfiltrasyon ve hipertrofi evresi:

Devamlı hiperfiltrasyonun (glomerüler filtrasyon hızı: $GRF > 135 \text{ mL/dk/1,73 m}^2$) ve renal hipertrofinin ön plana çıktığı, fakat henüz albuminurinin normal sınırlarda seyrettiği zaman dilimidir. Hayvanlar üzerinde yapılan deneyler sonucunda diyabetin daha başlangıç döneminde, böbrekte protein sentezinin ve böbrek hacminin arttığı bildirilmiştir (Büyükdevrim 2005).

Bu dönemdeki değişikliklerin renal plazma akımı ve filtrasyon yüzeyinin artmasından kaynaklandığı, glomerüler bazal membranda (GBM) hafif kalınlaşma dışında önemli bir morfolojik değişiklik olmadığı ortaya konulmuştur (Osterby and Gundersen 1990; Erdoğan 1997; Bağrıaçık 1997a).

Evre 2: Sessiz dönem:

Bu evrede morfolojik değişiklikler yıllar boyu sessiz bir şekilde gelişmektedir. Glomerüler filtrasyon hızı (GRF) yavaşça azalarak normal sınırlara inmektedir. Egzersiz sırasında belirgin üriner albümin ekskresyonu (UAE) devam etmektedir. GBM'de kalınlaşma ve mezenşiumda sınırlı ekspansiyondan ibaret morfolojik değişiklikler renal biyopsi ile gösterilebilmektedir. Birçok hasta bu evreden 3. evreye geçememektedir (Osterby and Gundersen 1990).

Evre3: Başlangıç halinde (incipient) diyabetik nefropati dönemi (Mikroalbüminürik evre):

Bu dönemde GFR normaldir. UAE mikroalbüminürik düzeyde, yani 30-300 mg/24saat veya 20-200 mg/dk arasında değişmektedir. Bu durum, aşıkâr nefropatinin habercisidir. Hematüri, konjestif kalp yetmezliği, egzersiz, aşırı protein alımı, ateş, kontrolsüz diyabet ve üriner sistem infeksiyonu mikroalbüminüri pozitifliğini artırmaktadır.

Bu dönemde birçok hastada hipertansiyon sınırına varmayan progressif kan basıncı artışı gözlenmektedir (Norgoard *et al.* 1990; Osterby and Gundersen 1990).

Evre 4: Klinik (aşıkâr) diyabetik nefropati dönemi:

Klasik olarak persistan proteinüri ile karakterizedir. Beraberinde sıklıkla hipertansiyon da gözlenmekte olup eğer hipertansiyon tedavi edilmezse renal fonksiyon kaybı hızlanmaktadır. GFR'nin düşme hızı, ayda 1 mL/dk'dır. Böbrekte morfolojik olarak glomerüllerde skleroz da izlenmeye başlanmaktadır.

Evre 5: Son dönem böbrek yetmezliği:

Üremi gelişmesi ile birlikte, sıvı retansiyonu, ödem gibi diğer komplikasyonlar da

görölmeye başlamaktadır. Yaşlı hastalarda kalp yetersizliği ile birlikte otonom ve periferik nöropati görölmektedir. Kan basıncını kontrol etmek güçleşmekte, hemen hepsinde büyük damar kalsifikasyonları (Mönckeberg sklerozu) gelişmektedir. Koroner vasküler hastalık en sık ölüm nedeni olarak görölmektedir (Çizelge 1.8) (Büyükdevrim vd 1996).

Çizelge 1.8. Diyabetik nefropatinin evreleri (Mogenson sınıflaması)

EVRE	UAE Hızı (mg/gün)	Kan Basıncı	Glomerüler Filtrasyon Hızı	Histolojik Değişiklikler
1 Hiperfiltrasyon	0-30	Normal	%20-50 artış	Glomerül Boyutunda artış
2 Normoalbüminüri	0-30	Normal	%20-50 artış	Bazal Membran (BM) Kalınlaşması
3 Mikroalbüminüri	30-300	Normal veya Artmış	Halen artmış proteinüri ile azalır	Bazal Membran (BM) Kalınlaşması, Mezenşimal Genişleme
4 Proteinüri	>300	Artmış	~10 mL/dk/yıl azalma	Belirgin Anormallikler
5 Son Dönem Böbrek Yetmezliği	>300	Hipertansiyon	<10 mL/dk	İlerlemiş Glomerülopati

İlk üç evre prelinik, son iki evre ise klinik belirtilerle seyretmektedir. Hemodinamik değişiklikler ve glomerül hipertrofisi sıçanlarda STZ ile oluşturulan deneysel diyabette de gösterilmiştir. İleri glikolizasyon son ürünlerinin artışı ile ilişkili metabolik defekte bağlı olarak GBM'de kalınlaşma ve mezenşimal matriks artışı meydana gelmektedir. Glomerül hipertrofisi ile ilişkili hemodinamik etki de glomerül sklerozunun gelişiminde rol oynamaktadır (Bohle 1991).

1.7.1. Diyabetik nefropati bulguları

Diyabetik nefropatide ışık mikroskobu bulguları

Diyabetik nefropatide hem Tip 1 hem Tip 2 diyabetli hastaların böbreklerinde aynı histolojik değişiklikler görülmektedir. Bu değişiklikler şöyle sıralanabilmektedir;

a. Glomerülün interkapiller nodüler lezyonu: Çevresel glomerül lobunun merkezine yerleşmiş eozinofilik ve PAS pozitif nodüllerdir. Bu nodüllerin mezenşimden kaynaklandıkları bilinmektedir. Bu histolojik görünüm ağır proteinüri, hipertansiyon, böbrek yetmezliği gibi bulgularla beraber olmaktadır.

b. Diffüz glomerül lezyonları: En sık görülen lezyon tipidir. Kapiller kıvrımları tutan mezenşim matriksinde genişleme ve kapillerler duvarında kalınlaşma izlenmektedir. Diffüz glomerül lezyonu ve nodüller birlikte görülebilmektedir.

c. Eksudatif lezyon: Bowman kapsülü boşluğunda yer alan, yuvarlak, homojen, eozinofilik yapılar olup bazen kapiller kıvrımları çepeçevre sarmıştır, bazen de Bowman kapsülü boyunca yerleşiktirler.

d. Arteriyel lezyon: Arteriyollerde tüm damar duvarını tutan ve zamanla duvarın yerini alan hiyalinizasyon izlenmektedir. Efferent arteriyoldeki lezyon diyabete özgüdür ve bazen saptanabilen ilk bulgudur.

e. Tübülüs ve interstisyum: İnsulinin devreye girmesi ile birlikte azalan; aşırı glukozürili hastalarda görülen kortikomedüller bölgenin tübül hücrelerinde glikojen birikimi ile tanımlanan patolojik değişikliklere rastlanılmaktadır. Bu değişikliklere “Armanni-Ebstein” lezyonu denilmektedir (Kimmelsteil *et al.* 1962; Farquar and MacDonald 1972).

f. Bazal membran kalınlaşması: Glomerül bazal membran (GBM) kalınlaşması diyabetik glomerülosklerözün erken ve karakteristik bir bulgusu olmakla birlikte kas, deri ve retinabazal membranında da kalınlaşma olmaktadır. GBM, glomerüllerin visseral epitelinde sentezlenen kollojen benzeri bir proteindir (Osterby *et al.* 1983). DN’de GBM’de çeşitli biokimyasal değişiklikler gerçekleşmektedir (Wahl *et al.* 1982).

Diyabetik nefropatide immunopatolojik bulgular: Diyabetik hastaların böbrek biopsilerinin immunfloresan incelemelerinde glomerül bazal membranında ve Bowman kapsülü ve tübüllerin dış yüzeylerinde IgG, IgM, albumin ve fibrinojen birikimi gösterilmiştir. Ayrıca mezenşimde tip IV ve tip V kollajen, laminin, fibronektin ve fetal böbrekte ekspresse edilen antijenler gösterilmiştir.

Diyabetik nefropatide elektron mikroskopik bulgular: Diyabette en erken görülen elektron mikroskobu bulgusu, glomerül bazal membran kalınlaşması ve mezenşim artışıdır. Bu değişiklikler hastalığın ilerlemesi ile daha belirgin olmaktadır (Kimmelsteil *et al.* 1962; Farquar and MacDonald 1972).

İlerlemiş böbrek hastalıklarında glomerül bazal membran kalınlığı ile idrarla protein atılımı arasında ilişki gösterilmiştir. İdrarda albumin atılımı 30 mg/dk’nın üstünde olan Tip 1 diyabetik nefropatilerde mezenşim volümü belirgin olarak artmaktadır (Yenigün ve Altuntaş 2001).

1.8. Likenlerin Genel Yapısı

Liken terimi ilk kez MÖ IV yüzyılda Yunanlı bilim adamı Theophratus tarafından yayınlanan ‘Bitkilerin Tarihi’ adlı eserde zeytin ağacının kabuğu üzerindeki yüzeysel büyümeyi belirtmek için kullanılmış yunanca bir kelimedir. Daha sonra Theophratus tarafından liken olarak adlandırılan bu bitkilerin gerçekte liken olmayıp bu terimin ‘ciğer otları’ için kullanıldığı anlaşılmıştır. (Aslan 1995; Karagöz 2010).

Yeryüzünde çok geniş bir yayılış alanına sahip olan, birçok yüksek bitkinin gelişemediği yüksek bölgelerde varlığını sürdüren, halkımızın ağaç ve kaya üzerindeki formlarına yosun, yosnu, ağaç sümbülü gibi yöresel isimler verdiği likenler (Öztürk 1995) bazı alglerin ve mantarların karşılıklı fayda ilişkisi doğrultusunda bir araya gelerek simbiyotik yaşam şeklini tercih etmeleriyle oluşturdıkları ekolojik birlikteliktir. Fungus bileşeni (mikobiyont), yeşil algler veya mavi yeşil algler (fotobiyont) ile simbiyotik işbirliği kurmayı başaran bir *Ascomycetes* veya *Basidiomycetes* üyesidir (Cansaran Duman 2008). Bu birliktelikte mantar hiflerinden oluşan tabakaya ‘Medulla’, alg hücrelerinden oluşan tabakaya ise ‘Gonidia’ tabakası denilmektedir. Medullayı meydana getiren renksiz mantar hifleri, renkli alg hücreleri ile bir araya gelerek liken tallusunu oluşturmaktadır (Öztürk 1995). Bu birliktelik sonucunda likenler, alglere ve mantarlara hiç benzemeyen, yepyeni morfolojik, anatomik ve fizyolojik özellikler göstermektedirler. Böylece likenleri oluşturan algler ve mantarlar, kısıtlı yaşam koşullarında var olmalarına neden olan karakterlerini kaybedip, üstün özelliklerini ön plana çıkarma şansı bulmaktadırlar (Tufan Çetin ve Sümbül 2008).

Liken oluşturan alg-mantar birlikteliğinde, mantar hifleri, liken tallusunun ihtiyacı olan CO₂’yi, havadan su buharını ve kendi üzerinde birikmiş olan mineralleri kazandırırken, üretici (ototrof) canlı olan alg ise klorofili vasıtasıyla sentezlediği organik maddeleri ve oksijeni temin etmektedir (Tufan Çetin ve Sümbül 2008; Cansaran Duman 2008). Her ne kadar iki canlı grubu karşılıklı kazanç elde ediyormuş gibi görünse de, asıl faydayı algten besin temin eden mantar sağlamaktadır. Bu nedenle, alg-mantar birlikteliğinde baskın canlı mantardır (Nash 1996; Cavalier-Smith 1998).

Yeryüzünde yaklaşık 20 bin türü bulunan likenler çok yavaş büyümektedir. Likenlerin gözle görülür birkaç cm çapında bir rozet şeklinde gelişmesi 50 yıldan fazla zaman almaktadır (Küçükkaya 2004). Buna karşınıllık 0,5 mm den 5 cm ye kadar büyüyen likenler de vardır. Likenlerin büyümesine etki eden faktörler sırasıyla sıcaklık, nem, ışık, temiz bir atmosfer ve rüzgârdır.

Likenlerin renkleri alg bileşenine, liken asitlerine, amorf maddeler, pigmentler ve bazı liken maddelerinin kimyasal reaksiyonları ile oluşmaktadır. Gölge ya da güneşli ortama göre renk değişmektedir (Brodo *et al.* 2001). Likenler toprak oluşumuna yaptıkları katkıdan dolayı ekolojik süksesyonda da önemli rol üstlenmektedirler.

1.8.1. Liken bileşenleri

Mantar

Bütün mantarlar temel olarak hif denilen mikroskobik ipliklerden oluşmaktadır. Hiç bir hif güneş ışığında karbondioksit ve suyu alıp fotosentez yoluyla bunları şekere çevirme yeteneğindeki yeşil pigment olan klorofile sahip değildir.

Mantarlar kendi besinlerini üretmedikleri için tıpkı hayvanların yaptıkları gibi besinlerini bulmak zorundadırlar. Saprofit olarak ölü yapraklar veya odun gibi ölü organik materyal üzerinde yaşayabilmekte veya iyi huylu ya da ölümcül parazitler olarak canlı organizmalarda bulunabilmektedirler. Likenleri oluşturan mantarların büyük kısmı Ascomycetes grubuna dâhildir. Bu gruptaki mantarlar mikroskobik üreme sporlarını; askus denen küçük keseler içerisinde üretmektedirler. Askomisetlerin 30 000 civarında türü bulunmaktadır ve bunların yarıya yakını liken oluşturmaktadır (Aslan 1995; Karagöz 2010).

Fotobiyontlar

Likenlerde fotobiyont olarak birliğe katılan 25 yeşil alg türü, az sayıda altın sarısı alg, bir kahverengi alg ve 12 siyanobakteri (ya da mavi-yeşil alg) cinsi vardır. Birçok fotobiyontun tallus içinde teşhis edilmeleri çok zordur. Çünkü simbiyotik durum yüzünden önemli ölçüde değişikliğe uğramış olabilmektedirler. Yaygın olan fotobiyont cinsleri şunlardır; Cyanobacteria (*Stigonema*, *Chroococcus*, *Gloeocapsa*, *Nostoc*, *Scytonema*) ve Yeşil alglar, (*Trebouxia*, *Stichococcus*, *Myrmecia*, *Heterococcus*, *Trentopohlia*) (Brodo *et al.* 2001).

Liken birliği

Bir liken tallusun da mantar dominant üyedir. Genellikle likenin büyük bir kısmını oluşturarak eşey organlarını meydana getirmektedir. Yapraksı formdaki liken tallusundan alınan enine kesit incelendiği zaman bazı türlerde alg ve mantar tabakalaşmasının olduğu görölmektedir. Eğer alg hücreleri tallus içinde homojen dağılmışsa homomerik tallus, (örnek *Collema* ve *Leptogium* türleri) tabakalaşma olmuşsa heteromerik tallus denilmektedir (örnek olarak *Usnea* ve *Peltigera* türleri).

Çoğu likende mantar; alg veya siyanobakteri hücrelerini küçük hif dallarıyla sarmaktadır. Bu dalların uç kısımları genişlemiştir ve fotobiyontun hücre duvarlarına sıkıca yapışmıştır. Görünüşe bakılırsa mantar doğru alg türünü hücre duvarındaki belirli proteinler (örneğin lektinler) aracılığı ile tanımaktadır. Çoğunlukla haustoria denen kısa çıkıntılar az veya çok fotobiyont hücrelerinin içine nüfuz etmektedir. Fotobiyont hücrelerinin duvarları şeker ve diğer karbonhidratlara karşı daha geçirgen hale gelmekte ve bunun sonucunda bir miktar karbonhidrat fotobiyont hücrelerinden dışarı sızmaktadır. Bu sızıntı mantar tarafından absorbe edilmektedir. Elbette karbonhidratların bir kısmı fotobiyont içerisinde tutulmakta ve fotobiyontun kendi ihtiyaçları için enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Brodo *et al.* 2001).

Mantar ise; Alg hücrelerini kendi dokuları arasında korur ve hücre duvarlarında su tutarak ortamdaki nemin daha kararlı olmasını sağlamaktadır. En yaygın yeşil alg fotobiyontları aşırı ışıktan hasar görmektedir. Liken yapısı içerisindeki mantar dokuları ve mantarın ürettiği pigmentler alg için kısmi bir ışık kalkanı vazifesi görmektedir. Likendeiki mantarın belki de en önemli katkısı alg için bir habitat yaratmasıdır (Brodo *et al.* 2001).

1.8.2. Likenlerin sınıflandırılması

Likenlerdeki sistematik çalışmalar; diğer organizmalarda olduğu gibi klasik olarak daha çok morfolojik karakterlere dayalı tanımlanmaya dayanmaktadır. Likenlerin

talluslarında içerdikleri liken asitlerinin belli kimyasal maddelerle reaksiyona girerek verdiği renk reaksiyonları tanımlanmalarına yardımcı faktördür. Fakat bu tanımlama çalışmaları da likenlerin sistematik kategorilerini tam olarak belirlemeye yetmemektedir (Cansaran Duman 2008).

Likenler bulundukları ortama ve beraber yaşadıkları bitkilerin durumlarına göre değişik şekillerde olabilmektedirler. Bu biçimlere göre de likenler üç gruba ayrılmaktadır (Güner vd 1992).

Yapraksı likenler

Az çok yassılaştırmış ve alt yüzeyleriyle üst yüzeyleri birbirinden ayırt edilebilen likenlere yapraksı denilmektedir. *Lobaria pulmonaria* veya *Flavoparmelia caperata* gibi büyük yapraksı likenleri bu kategoriye yerleştirmek kolaydır. *Xanthoria elegans* gibi substrata çok sıkı tutunmuş olan ya da *Cetraria islandica* gibi lopları neredeyse dik şekilde düzenlenmiş olan yapraksı türlerin bu kategoriye konulmaları ise daha zordur. Çoğu yapraksı likenin kenarları yuvarlak veya biraz açıktır. Loplara şekilleri, uzunluk ve genişlikleri ve konfigürasyonları (mesela yukarı kıvrık veya aşağı kıvrık, konkav veya konveks, şişkin veya yassı olabilir) bir likeni diğerinden ayıran önemli karakteristiklerdir (Brodo *et al.* 2001). Çoğunlukla ağaç kabukları ve kayalar üzerinde, kabuk şeklinde, sıkı bir örtü meydana getirmektedirler. Likenlerin, büyük bir kısmı bu gruba girmektedir (Karamanoğlu 1971).

Dalsı likenler

Dik ya da asılı olarak büyüyen, talluslarında, yassılaştırmış olsalar bile, açık bir şekilde alt ve üst olarak ayırt edilebilen yüzeylere sahip olmayan likenlere dalsı likenler denilir. Bu gelişim şekli çok fazla dallanmış çalimsı likenleri ve dallanmamış saplar veya iplikler halindeki likenleri kapsamaktadır. Bu likenlere *Polychidium* ve *Ephebe* gibi çok küçük kurdele benzeri veya *Usnea* gibi ipliksi liken türleri de dâhil edilmektedir. *Cladonia* ve

Pilophorus gibi bazı cinslerde tallusun sadece bir kısmı dalsı olmaktadır (Brodo *et al.* 2001).

Kabuksu likenler

Basitçe substratlarının üzerinde kabuklar oluşturan likenlere kabuksu likenler denilir. Tüm alt yüzeyleri, substratla temaslarını önleyen bir alt korteks olmaksızın, substrat partiküllerinin üzerinde veya aralarında büyümektedir. Bazıları çok geniş, parlak renkli yamalar oluşturarak çok sert ve kalın olabilirken, bazıları da bir büyütecini yardımı olmaksızın fark edilmeyecek kadar küçük olmaktadır. Kabuksu likenlere *Lecanora*, *Graphis*, *Lecidea*, *Biatorina* örnek verilebilmektedir (Brodo *et al.* 2001). Özellikle kabuksu likenleri, substrattan kazımadan ayırmak mümkün değildir (Küçükkaya 2004) Yapısındaki lifleriyle bazen kayaları dahi eriterek, sert ortamların içlerine girebilmektedirler. Bunlara Endolitik Likenler de denilmektedir (Güner vd 1992).

Morfolojik sınıflandırmada olduğu gibi birçok ara formlar bulunmasına karşın üzerinde geliştikleri substrat çeşidine göre de likenler üç büyük gruba ayrılabilir.

Epifitik veya kortikol likenler

Çeşitli ağaç kısımları, ölü odun gibi materyaller üzerinde gelişen likenlerdir. Bu bitkiler substrata kısmen veya tamamen gömülü durumda (hypophloedal) olarak (*Lecidea* ve *Lecanora* türleri örnek verilebilmektedir), ya da yüzeyde (epiphloedal) olarak (bazı *Buellia*, *Caloplaca* ve birçok tür örnek verilebilmektedir) gelişim göstermektedirler.

Saksikol likenler

Çeşitli taş veya kaya üzerinde gelişen likenlerdir. Bunlarda kaya yüzeyinde gelişen likenler yani epilithik likenler (örnek *Rhizocarpon* sp.) ve kayaya kısmen gömülü olan endolithik (örnek *Verrucaria* sp.) likenler olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar. Genellikle

kalkerli substratlar üzerinde gelişenler az çok endolithik, silisli substratlarda gelişenler ise epilithik türlerdir (Brodo *et al.* 2001).

Terrikol likenler

Kalkerli, silisli, humuslu topraklar üzerinde yalnız veya karayosunları üzerinde gelişen likenlerdir. Örnek *Cladonia* ve *Squamarina* türleri verilebilmektedir (Brodo *et al.* 2001).

1.8.3. Likenler ve antioksidan özellikleri

Yapılan biyolojik aktivite ölçümlerinde liken maddelerin her geçen gün yeni özellikleri keşfedilmekte ve bu maddelerin sitotoksik özelliklerinin az olması da ilaç özelliklerinin araştırılmasında ön planda tutulmaktadır.

Likenlerde antioksidant aktivitelerin belirlenmesine yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Yapılan bir çalışmada; *Protusnea malacea* ve *Placopsis* sp. türlerinden izole edilen depsitler (divaric acid ve atranorin) ile *Erioderme chilense* ve *Psoroma pallidum* türlerinden elde edilen depsidonlar (1'-chloropannarin, pannarin ve vicanicin)'ın antioksidant aktiviteleri araştırılmıştır. Bir diğer çalışmada ise *Bryoria fuscescens*, *Cetraria islandica*, *Cetraria pinastri*, *Dermatocarpon intestiniforme*, *Letharia vulpina*, *Parmelia caperata*, *Peltigera rufescens*, *Physcia aipolia*, *Pseudevernia furfuracea* ve *Usnea florida* türlerinin antioksidant aktiviteleri araştırılmıştır. Ülkemizde likenlerin antioksidan aktiviteleri üzerine yapılmış bazı çalışmalar da mevcuttur (Odabaşoğlu vd 2004; Aslan vd 2006; Güllüce vd 2006).

1.8.4. Likenlerin kullanım alanları

Likenler, dünyada ve ülkemizde çok eski zamanlardan beri halk hekimliğinde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır.

15. yüzyılda insan kafatası iskeleti üzerinde büyüyen bir likenin altın değerinde olduğu ve epilepsi tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Bazı eski kaynaklardaysa likenler, elle çizilmiş şekiller halinde karşımıza çıkmaktadır. Bunların yanındaki açıklamalardan, bu likenlerin göğüs, apandisit ve baş ağrıları, karaciğer sorunları ve romatizmayı tedavi etmede kullanıldığını anlaşılmaktadır (Dilsizoğlu vd 2004).

Avrupa ülkelerinde likenler 16. yüzyıldan itibaren çeşitli hastalıkların tedavisinde infüzyon ve dekoksiyon şeklinde kullanılmıştır. Ülkemizde ise yaraların tedavi edilmesinde ve kan kesici olarak kullanılmaktadır (İlçim vd 1998).

Hastalıkların tedavisinde kullanılan likenlerin iyileştirici özelliklerinin yapılarında bulunan asitlerden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Liken asitleri değişik karakterlerdedir. Likenlerin tanısında büyük bir kriter olan bu asitlere ilaveten önemli boyar maddeleri ihtiva etmeleri ayrıca antimikrobiyal madde içermeleriyle de likenlerin önemi bir kat daha artmaktadır (Dülger vd 1998).

Liken metabolitlerinin değişik mikroorganizmalar, mayalar ve algler üzerine antagonist (antibiyotik) etki gösterdiği uzun yıllardan beri bilinmektedir. Denenen liken örneklerinin %50'sinden fazlasının antibiyotik etki gösterdiği, en etkili maddelerin ise usnik asitler, pulvunik asit türevleri (örneğin vulpinik asit) ve alifatik asitler olduğu ve bu maddelerin de özellikle Gram-pozitif bakterilere ve bazı funguslara antagonist aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bunlara ilaveten likenlerin antiherbivor ve antitümör aktivite göstermeleri de diğer önemli özelliklerdendir (Osmanağaoğlu vd 2000).

Likenler geçmişten günümüze kadar eczacılık, tekstil, kozmetik gibi alanlardaki kullanımları ile önem kazanarak, pek çok bilimsel çalışmaya konu olmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda likenlerin yaklaşık 350 kadar ikincil bileşik içerdikleri (Yılmaz vd 2004), çoğunun insan ve bitki patojenleri üzerine antimikrobiyal etki gösterdiği ortaya konmuştur (Elix *et al.* 1995; Ernst-Russell *et al.* 2000; Rezanka and Guschina 2000).

Likenlerde oluşturduğu özel bileşiklerin antiprotozoal, antinosiseptif, antiinflamatuvar antiproliferatif, antiensamatuar ve analjezik özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir (De Carvalho *et al.* 2005; Cansaran Duman 2008). Bununla birlikte likenlerin, ‘likenin’ adlı liken karbonhidratından glikoz ve alkol eldesinde; parfüm, şampuan, sabun gibi kozmetik ürünlerde kullanılan fiksatifin üretiminde kullanıldığı bilinmektedir (Tutel 1986; Öztürk 1995; Nash 1996). Ayrıca 100'e yakın liken türü farklı renklerde organik tekstil boyalarının imalinde kullanılmaktadır (Casselman 2001).

Cetraria islandica başta olmak üzere *Cetraria* cinse ait pek çok tür, oldukça geniş bir kullanım alanına sahip ve hâlâ Avrupa'da dikkate değer miktarda, evde ilaç yapımında kullanılmak üzere satılmaktadır. 1904 yılında resmi olarak pazarlarda satılan tek liken olma özelliğine sahiptir. Tonik olarak, laksatif olarak, astım tedavisinde, diyabet, nefrit, akciğer hastalıkları ve boşaltım sistemi hastalıkları tedavisinde kullanılmaktadır. Öksürük ve soğuk algınlığına da iyi geldiği bilinmektedir. Günümüzde pek çok şirket boğaz pastillerinin ya da haplarının yapımında *Cetraria*'yı veya *Usnea*'yı kullanmaktadır. Eczane ve doğal yiyecek dükkânlarında satılan söktürücüler (öksürük şurubu vb.) ve güçlendirici tonikler bu likenin ürünleridir. Önemli bir özelliği de halen ‘İzlanda iskorbiti’ hastalığının tedavisinde kullanılmasıdır (Dilsizoğlu vd 2004).

1.8.5. *Cetraria islandica* (L.) Ach.

Tallus 2-6 cm boyunda, şeritsi, dik ya da kalkık uçlu veya püskül şeklinde, loblar 1-10 (-30) mm genişliğinde, + kanallı, geniş loblar daha düz, + dallanmış, üst yüzey koyu gri-kahverengi, kırmızı-kahverengi ya da grimsi-yeşil, taban kısımlar genellikle kırmızımsı renkte, düz ya da bazen noktalı, parlak ya da mat, genellikle genişliği 0,1-1 mm olan kenar çıkıntılara sahiptir. Alt yüzey renksiz ya da soluk, çok sayıda belirgin pseudosfellilidir. Apotesyum geniş lobların alt yüzeyinde nadiren bulunur, disk 1-20 mm, koyu kahverengi, piknidyumlar lobların yüzeyleri üzerinde, koyu kahverengi, konidler 6-7x1µm'dir. Medulla ve pseudosifeller K-, C-, KC-, Pd+ turuncudur. Liken besince zengin ve özellikle dağların zirvelerine yakın yerlerdeki çayırliklar ya da

fundalık bölgelerde toprak üzerinde gelişmektedir (Şekil 1.15) (Wirth 1980; Purvis *et al.* 1994).



Şekil 1.15. *Cetraria islandica* (L.) Ach likeninin doğal ortamındaki görünümü

Cetraria islandica (L.) Ach. likeninin günümüzdeki terapötik önemi likenin ve izolikenin maddelerinden kaynaklanmaktadır. Bu liken türünün etkili bir antioksidan olduğunu gösterir çalışmalar mevcuttur (Gülçin vd 2002; Kosanić and Ranković 2011). Ayrıca *Cetraria islandica*'da protolikesterinik asit, B12 vitamini, folik asit, α -methylene- γ -lactone, fumarprotosetratik asit ve β -orcinol depsidone gibi biyolojik olarak aktif sekonder metabolitlere rastlanılmıştır (Ogmundsdottir *et al.* 1998). Antibiyotik aktivitesi üzerinde yapılan çalışmalarda drogun in vitro'da *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* ve *Proteus vulgaris*'e etken olduğu, *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı drogun (1:20) dekoksiyonunun, 1:10000- 1:50000' lik seyreltmelerde aktif olduğu saptanmıştır (Klosa 1950; Sticher 1965). Bu likenden hazırlanmış olan cetrarin (Merck) adlı preparat, antibiyotikler yaygın şekilde kullanılıncaya kadar tüberküloz, kronik bronşit, dizanteri tedavisinde uzun yıllar önemini korumuştur (Dülger vd 1998). Avrupa ülkelerinde halen solunum yolu hastalıklarında kullanılan Isla-Moos-Pastilleri yapımında drogun sıcak su ekstraktları kullanılmaktadır. Bu pastillerin mukozayı yerel tahrişlerden koruma yolunda antiflojistik etkisinin de olduğu belirlenmiştir (Zeybek ve Volker 1992).

1.8.6. *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf var. *furfuracea*

10 cm çapına kadar ulaşabilen tallus çok sayıda şerit şeklinde loplardan ibaret dalsı şekilli olabilmektedir. Loplara üst yüzeyi gri-beyaz renkte ve izidli gözükmektedir. Loplara alt yüzeyi uçlarda kahverengimsi-beyaz ya da pembemsi, merkezi kısma doğru siyah renktedir. Korteks K (+) sarıdır. Bu varyetede medulla C (-) özelliktedir. Ender rastlanan apotesyum 1,5 cm çapında olabilmektedir. Askus 30-40x14-16 µm, askosporlar 7,5-10x4-5,5 µm boyutlarında, elips şeklinde görülmektedir. Bu türün ikinci varyetesi olan var. *ceratea* (Ach.) D. Hawksw.'da medulla C (+) kırmızı özelliktedir (Şekil 1.16) (Purvis *et al.* 1994; Wirth 1995).



Şekil 1.16. *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf var. *furfuracea* likeninin doğal ortamındaki görünümü

Subalpin bölgelerde rüzgârlı, nemli alanlarda geniş yapraklı ve iğne yapraklı ağaçların asidik kabuklarında, gölgelerinde, daha çok dallarında bulunmaktadır. Daha ender olarak odun ve silisli taşlar üzerinde gelişmektedir. *Pseudevernia* sp., *Hypogymnia* sp., ve *Usnea* sp. ile birlikte aynı substratlarda gözlenmektedir. Boreal ve Akdeniz bölgelerinde dağlık alanlarda yayılış göstermektedir. Hava kirliliğinin çok ve havanın sıcak olduğu bölgelerde ender bulunmaktadır (Purvis *et al.* 1994; Wirth 1995).

Pseudevernia furfuracea (L.) likeninin etkisi de içerdği liken asitlerinden kaynaklanmaktadır. Proksa *et al.* (1994) yılında yaptığı bir çalışmada bu liken de atranorin, physodic asit, oxyphysodic asit ve virensic asit olmak üzere dört adet etken madde belirlemişlerdir. Atranorinin polimorf nükleer lökositlerde lökotirien B4 sentezini inhibe ettiği belirtilmiştir (Kumar and Müller 1999).

Literatürden de anlaşıldığı gibi diyabetik hastalarda artan oksidatif stres doku hasarlarının hücresel ve moleküler mekanizmalarında önemli rol oynamaktadır. Oksidatif stresin sebep olduğu doku ve organ hasarları Tip 1 diyabette söz konusu olup, reaktif oksijen türlerinin üretilmesi (ROS) ve lipid peroksidasyonu (LPO) diyabetik hastalarda artmaktadır. Şeker hastalığı başta pankreas, kan ve karaciğer olmak üzere pek çok doku ve organda belirgin hasarlar oluşturmaktadır. Diğer taraftan, likenlerin pek çok hastalığın tedavisindeki yeri uzun yıllardır ilgi çeken bir konudur. Bu durum onların antioksidan özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, öncelikle iki farklı liken türüne (*Pseudevernia furfuracea* ve *Cetraria islandica*) ait sulu ekstraktların hayvanların vücut ağırlıkları, tükettikleri su ve yem miktarları, kanlarındaki glukoz seviyesi ve özellikle de böbrek dokusu üzerindeki patolojik ve oksidatif etkilerini araştırmaktır. Nitekim, diyabet hastalarının bitkisel ilaçlara karşı dikkatli olmaları gerektiği belirtilmekte, bu maddelerin insan sağlığı üzerinde pek çok istenmeyen olumsuz etkiye yol açabileceği hatta öldürücü olabileceği kaydedilmektedir (Yuan and Bieber 2003). Uluslararası kurallar gereği insan sağlığını korumak amacıyla, öncelikle bitkiler ya da karışımları ile tedavinin deney hayvanları üzerindeki yan etkilerinin incelenmesi ve farklı organlar üzerindeki olumlu ve olumsuz etkilerinin gözlemlenmesi gerektiği de vurgulanmaktadır. Ancak, literatür verileri incelendiğinde likenler üzerinde bugüne kadar yapılan in vivo veya in vitro toksikoloji çalışmalarının yeterli düzeyde olmadığı yapılan taramalardan anlaşılmaktadır. Diğer taraftan, diyabette tedaviye destek amaçlı birçok doğal ürün denenmiştir. Tip 1 diyabet tedavisinde insülinin alternatifsiz olması, Tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan oral antidiyabetik ilaçların karaciğer ve böbreklerde ciddi toksisite oluşturması sebebiyle yeni ilaçların keşfedilmesi için yapılan çalışmalar giderek artmaktadır. Bu nedenle de bu çalışmanın diğer önemli bir amacı, Tip 1 diyabet geliştirilmiş sıçanlar üzerinde söz konusu likenlerin etkinliklerinin

yukarıda belirtilen parametrelerin değeriendirilmesi ile araştırılması olacaktır. Nitekim, bu konuda şimdiye kadar kaydedilmiş herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Sonuç olarak, elde edilecek bulguların literatürde büyük bir boşluğu dolduracağı kanaatindeyiz. Böylece, likenlerden ilaç kaynağı olarak güvenli ve yeterli bir şekilde faydalanılabilecek ve bu durum ülkemiz ekonomisi açısından da fırsat haline dönüştürülebilecektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Alarcón de la Lastra *et al.* (2002), racemic-ketoprofen ve türevleri olan S(+) ve R(-)-ketoprofenin neden olduğu gastrik hasarda serbest oksijen radikal üretimi ve nötrofil infiltrasyonunu incelemişlerdir. Çalışma sonunda doza bağlı olarak Racemic-ketoprofenin yüksek toksik etki gösterdiği ve türevlerinin bu etkisinin daha az olduğunu tespit etmişlerdir. İlaç enjeksiyonun lipid peroksidasyonunu ve xhantin oksidaz enzim seviyesini artırdığını ve süperoksit dismutaz aktiviteini ise düşürdüğünü ortaya koymuşlardır.

Altan vd. (2006), Diabetes Mellitus ile serbest radikaller ve antioksidan sistemi tartışıkları çalışmalarında diyabetik hastaların uzun süreli yüksek kan glukoz konsantrasyonlarına maruz kalmalarının oksidatif stresi arttırabileceğini savunmuşlardır. Ayrıca bu çalışmada diyabette antioksidan savunma sistemlerinin değiştiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada anti-oksidanlar, büyük bir olasılıkla diyabette bozulan oksidatif stresin, protein glikasyonunun ve glukoz metabolizmasının düzeltilmesinde önemli etkiler oluşturabileceği kanaatine varılmıştır.

Althunibat *et al.* (2010), gerçekleştirdikleri çalışma ile *Punica granatum* L. (Punicaceae) bitkisine ait kabuk ekstreleini STZ ile teşvik edilmiş sıçanlar üzerinde denemişler ve STZ nin neden olduğu oksidatif strese karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Aras (2008), antioksidan özelliği olan pirolidyum dithiyokarbamat'ın (PDTC) diyabetik sıçan modelinde nefropati üzerine koruyucu etkisini araştırdığı çalışmasında PDTC'nin diyabete bağlı gelişen renal hasara karşı koruyucu etkisinin olduğunu rapor etmiştir. Ayrıca diyabetik nefropatili hastalarda PDTC'nin alternatif tedavi seçenekleri arasında yer alabileceğini savunmuştur.

Avcı (2001), diyabette olası bir oksidan stresin varlığını kontrol etmek ve bunun üzerine bir antioksidan olan E vitamininin etkilerini incelemeyi amaçladığı çalışmada diyabetli sıçanların böbrek dokularında oksidan stresin en iyi göstergesi olan MDA düzeyleri ile antioksidan enzimler olan katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutat peroksidaz (GSH-Px) ve bunlara E vitamininin etkileri araştırdı. Araştırma sonucunda değişik denek türleri ve E vitamini dozlarıyla yapılacak olan çalışmaların diyabette oksidatif strese bağlı olarak ortaya çıkan komplikasyonların biyokimyasal mekanizmalarının aydınlatılabileceği kanaatine varmıştır.

Başkurt Aladağ (2008), Tip 2 diyabetli hastalarda mikroalbuminüri ve serum ürik asit seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Araştırma sonucunda Tip 2 Diabetes Mellitus'lu mikroalbuminüri gelişmiş hastalarda ürik asit seviyesi değerlerinin istatistiksel çalışmalarda anlamlı olarak yüksek olduğu ve ürik asit yüksekliğinin mikroalbuminüri varlığı ile birlikte olduğunu bulunmuştur. Bunun sonucunda ürik asit seviyesinin 4,5mg/dL üstü değerlerdeki hastalarda mikroalbuminüri varlığı açısından değerlendirilmesinin faydalı olabileceği kanaatine varılmış. Ayrıca ürik asit yüksekliğinin mikroalbuminüriyle birlikte tam olarak neyi temsil ettiğinin bilinmediğini, ürik asidin oksidan veya antioksidan rol oynayabileceğini ve ürik asit düzeyinin mikroalbuminüri için bir belirteç olabileceğini belirtmiştir.

Boustie and Grube (2005), likenler ve likenler tarafından sentezlenen biyoaktif sekonder metabolitler ve onların canlılar üzerine etkilerini araştırmıştır.

Catani *et al.* (2005), vitamin C'nin oksidatif stresin durdurulmasında önemli bir ajan olduğunu ve çeşitli hücrelerin DNA yapıların korunmasında ve vücut homeostazisinin sağlanmasında önemli bir ajan olduğunu tespit etmişlerdir.

Chenet *et al.* (2010), STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanların böbrek dokusu üzerine *Apocynum venetum* ekstresinin koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada diyabetli havanların MDA seviyesinin arttığı SOD ve GSH aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada tedavi amaçlı *Apocynum venetum* ekstresi uygulandığında

böbrek üzerine koruyucu etkiye sahip olduğu ve böbrekteki oksidatif stresi üzerine engelleyici olabileceği kanaatine varılmıştır.

Çınaroğlu Saka (2005), diyabetik ve non diyabetik nefropatisili hastalarda Enalapril ve Losartan tedavisinin proteinüri üzerine olan etkilerinin incelendiği çalışmada Angiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü (ACE-I) ve Angiotensin II resptör antagonist (AT II RA)'lerinin diyabetik nefropati (DN) gelişmiş insuline bağımlı diabetes mellitus (IDDM)'lu hastalarda proteinuri üzerindeki iyileştirici etkisini araştırmak amaçlanmış ve tedavinin proteinuri, hipertansiyon, renal ve tübüler fonksiyonlar ve metabolik parametreler üzerine etkisi karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda diyabetik ve non diyabetik nefropatisi olan hastalarda enalapril ve losartan tedavisi ile renal ve metabolik kontrol üzerine olumsuz etkiler oluşmadığı, istatiksel olarak anlamlı antiproteinurik etki de gözlenmediği, ancak her iki tedavinin de iyi tolere edildiği rapor edilmiştir.

Doğan vd (2011), STZ ile deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanların böbrek dokusunda, Enalapril ve Losartan'ın iyileştirici etkilerinin incelendiği çalışmalarında enalapril ve losartan tedavisi uygulanan diyabetli sıçanlarda birbirlerine benzer histolojiye sahip olduklarını ve bu gruplarda glomerüllerde Bowman mesafesinde daralma ve mezangial matriks artışı izlendiğini, tübüler dilatasyonlar ve Armani-Ebstein lezyonlarının ise diyabetik gruba göre daha az belirgin olduğunu, ayrıca tübül epitellerinin fırçamsı kenarlarındaki ayrılma ve bozulmaların da daha az belirgin olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada STZ ile deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanların böbrek dokusunda enalapril ve losartan'ın diyabetik nefropatinin histolojik bulguları üzerine etkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Dönmez (2008), kan basıncını ve glomerüler filtrasyon hızını (GFR) düşürmeyen dozdaki anjiotensin reseptör blokeri olan İrbesartanın (İR), farklı antioksidanlar olan Alfa Lipoik Asit (ALA) ve L-Carnitine (L-Karnitin) (LC) kombinasyonu ile tedavilerinin deneysel Diyabetik Nefropati (DNP) üzerine etkilerini araştırmıştır. Sonuç olarak Angiotensin Tip 1 (AT1) reseptör blokerlerinin, oksidatif stresin organ hasarı

gelişiminde önemli role sahip olduğu Diabetes Mellitus hastalarında antioksidanlarla birlikte verilmesi halinde renal koruyucu etkilerini güçlendirdiğini göstermiştir.

Dülger vd (1998), *Cetraria islandica* (L.) Ach. likeninin Antimikrobiyal Aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında *Cetraria islandica* (L.) Ach. likeninden Etil esetat, Aseton, Kloroform ve Etanol ekstraktları hazırlanarak disk difüzyon metoduna göre *Escherichia coli* ATCC 11230, *Enterobacter aerogenes* CCM 2531, *Staphylococcus aureus* 6538P, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* La2114, *Bacillus cereus* var. *mycoides*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus megaterium*, *Mycobacterium smegmatis* RUT, *Salmonella thyphimurium*, *Candida utilis* La991, *Candida albicans* CCM314, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton rubrum*, *Botrytis cineriae*, *Fusarium oxysporium*, *Streptomyces murinus* ISP 5091 ve *Nocardia cornea* IFO 14403 üzerinde antimikrobiyal etkileri denenmiştir *Cetraria islandica* (L.) Ach. bazı Gram (+) bakterilere karşı etkin olduğu, fakat Gram (-) bakterilere, funguslara ve actinomycete'lere karşı ise antimikrobiyal bir aktivite içermediği saptanmıştır.

Ertuğrul Karaçalı (2006), *Trigonella foenum graecum* L. ekstraktının diyabetli sıçanların böbrek dokusunda meydana gelen hasarları önleyip önlenmediğini ayrıca bitkinin antioksidan özellik içerip içermediğini araştırmıştır. Diyabette fazlaca bulunan ve peroksidasyon ürünü olan Malondialdehit (MDA)'nin *Trigonella* ekstraktı verilen grupta oluşumunun azaldığı, bir antioksidan olan Glutatyon (GSH)'in ise önemli oranda değişmediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak *Trigonella foenum graecum* L. ekstraktının diyabetten kaynaklanan böbrek dokularındaki hasarı önlemede kullanılabileceği bildirilmiştir.

Karuna et al. (2011), streptozotocin ile diyabet oluşturulmuş sıçanların böbrek dokusunda LPO ve oksidan proteinlerinin arttığını gözledikleri çalışmada tedavi amacıyla diyabet grubuna *Phyllanthus amarus* sulu ekstraktı uygulanmıştır. *Phyllanthus amarus* sulu ekstraktı uygulanan tedavi grubunda, diyabet grubuyla karşılaştırılınca

LPO ve oksidan proteinlerde önemli bir düşüş görüldüğünü ayrıca GSH miktarında ve GR, GPx, GST aktivitelerinde önemli bir artış meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Kuloğlu ve Dabak (2008), streptozotosin ile oluşturulan diyabetin 2., 4. ve 6. haftasında sıçan böbrek dokusuna olan etkilerinin incelenmesi amaçlanan çalışmalarında diyabetik gruplarda, böbrek dokusunda başta glomerüller ve tübüller olmak üzere, diyabetin altıncı haftasına doğru gittikçe artan bazı histopatolojik değişiklikler gözlemişlerdir. Bu değişikliklerin, glomerüllerde hipertrofi, mezangial matriks ve hücre artışı, glomerül kapillerlerinin bazal membranlarında kalınlaşma, tübül epitellerinin fırçası kenarlarında ayrılma ve bozulmalar ile Armanni-Ebstein lezyonları olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, deneysel diyabette sıçan böbrek dokusunda, diyabetin süresi ile orantılı olarak gittikçe artan bazı histopatolojik değişikliklerin şekillendiği belirlenmiştir.

Li (2007), streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş 50 adet sıçan üzerinde *Lycium barbarum* bitkisinden izole edilmiş polisakkaritlerin etkisini araştırmıştır. Polisakkaritlerin sağlıklı hayvanlara herhangi etkisinin olmadığını gözlemlemiştir. Karaciğer ve böbreğin diyabet hasarına karşı korunduğunu ve bu polisakkaritin antihiperglisemik ajan olarak kullanılabileceğini ileri sürmüştür.

Manna *et al.* (2009), Swiss albino sıçanlar üzerinde STZ ile diyabet geliştirmişler ve arjulongic asidin koruyucu etkisine bakmışlardır. STZ ile deney hayvanlarda oksidatif stres ve MDA düzeylerde önemli artışlar gözlemlemiştir. Sonuçta Arjulongic asidin STZ indüklü diyabette yararlı etkilerinin olabileceğini rapor etmişlerdir.

Mansouri *et al.* (2011), sıçan böbrek dokusunda diyabet sonucu meydana gelen oksidatif stres üzerine üzüm çekirdeğinden elde edilen Proanthocyanidin ekstraktlarının etkilerini araştırdıkları çalışmada diyabetik nefropatili sıçanların böbrek dokusunda CAT, SOD, GSH-Px aktivitelerinin düştüğünü ve lipid peroksidasyon miktarının arttığını tespit etmişlerdir.

Muralikrishnan *et al.* (2011), diyabetik sıçanların lipid peroksidasyonu ve antioksidan seviyeleri üzerine *Ocimum sanctum* 'un koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmalarında diyabetli hayvanların karaciğer ve böbrek dokularında SOD, CAT, GPx enzim aktivitelerinin azaldığı ancak lipid peroksidasyon seviyesinin arttığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada *O. sanctum* ekstraktının uygulandığı gruplarda bu enzimlerin aktivitelerinin arttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak *O. sanctum* ekstraktlarının diyabetik sıçanların antioksidan enzimlerini yenilemede doğal bir antioksidan olduğu kanaatine varılmıştır.

Naowabootet *al.* (2009), çalışmalarında diyabetik sıçanlardaki dokularda (karaciğer, böbrek, kalp ve aort) artmış olan MDA seviyesinin *Morus alba* yaprak ekstresi uygulanmasıyla önemli bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir.

Noyan vd (2004), alloksanla diyabet oluşturulan farelerin karaciğer ve böbrek dokularında 8 hafta boyunca pentoksifilin (PTX) ve melatoninin (MLT) antioksidan etkilerini araştırmışlardır. Diyabetin karaciğer ve böbrek dokularında oksidatif strese artışa neden olabileceğini, pentoksifilin ve melatonin uygulamasının serbest radikal önleyici etkisiyle bu dokularda koruyucu etki gösterebileceğini bildirmişlerdir.

Osmanağaoğlu vd (2000), çalışmalarında *Letaria vulpina*, *Pseudevernia furfuraceae* var. *furfuraceae* ve *Everniadivericata* likenlerinin aseton ve kloroform ekstraktlarının Gram-pozitif çomaklar, Grampozitif koklar, Gram-negatif çomaklar ile *Candida albicans* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesiarştırılmış, gerek aseton gerekse kloroform ile hazırlanan ekstraktlarda Gram-pozitif kok ve çomaklara karşı inhibitör etki elde edilirken, Gram-negatif çomaklar ve *Candida albicans* 'a karşı herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. Ayrıca bu çalışmada disklere emdirilen farklı ekstrakt dozları ile zon çaplarındaki artış oranları arasında herhangi bir korelasyon kurulmamış, ekstraksiyon için kloroform yerine aseton kullanılması durumunda inhibitor aktivetinin göstergesi olan zonların daha büyük çaplarda elde edilebileceği gözlemlenmiştir.

Tripathi and Chandra (2010), çalışmalarında alloksan ile diyabet oluşturulmuş sıçanların kalp, böbrek ve karaciğerinde SOD, CAT, GST ve lipid peroksidasyon ve glutasyon seviyelerini ölçülmüş ve diyabet grubunun antioksidan aktiviteleri kontrol gurubuyla karşılaştırıldığında düşük bulunmuştur. Tedavi amacıyla uygulanan *M. charantia* ve *T. foenum graecum* ekstraktlarının ise kalp ve böbrek gibi hayati organları korumada antioksidan potansiyele sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Turgut vd (2010), sıçanlarda diyabete bağlı gelişen böbrek hasarı üzerine erdosteinin koruyucu etkilerini gözlemlemeyi amaçlandıkları çalışmalarında diyabet geliştirilen sıçanlarda belirgin diyabetik nefropatiye ait değişiklikler gözlenmiş, erdostein tedavisi uygulanan grup, uygulanmayan grupla karşılaştırıldığında histopatolojik değişiklikler anlamlı olarak daha az oranda görülmüştür. Bu bulgulardan yola çıkılarak diyabete bağlı olarak böbrekte oluşan hasar üzerine erdosteinin koruyucu etkisi olabileceğini bildirilmiştir.

Türkez vd (2010), *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zoph. likeninin gliotoxin (GTX; Gliocladium, Aspergillus ve Penicillium türleri tarafından üretilen toksik, karsinojenik ve mutajenik sekonder metabolitlerden biri) ile muamele edilmiş lenfosit kültürleri üzerine rolünü ve farklı konsantrasyonlarda (50, 75 ve 100 ng/ml) GTX'in genotoksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında *P. furfuracea* likeninin lenfositlerde genetik hasara neden olan GTX'e karşı DNA'nın direncinin artmasını sağladığını tespit etmişlerdir.

Yeşilot (2008), STZ ile deneysel diyabet oluşturulan diyabetik sıçanlarda diyabete bağlı oluşan ağrının giderilmesinde ve hasarın azaltılmasında kullanılabileceği düşünülen antioksidan özelliği olan Aspirin (COX-1 inhibitörü) ve Nimesulid'in (COX-2 inhibitörü) vasküler sistem ve böbrek dokusu üzerine diyabetin olumsuz etkilerine verdiği cevapları incelemiştir. Aspirinin diyabetli sıçanlarda damar ve böbrek dokusunda oluşan hasarda Nimesulid'e göre daha etkili olduğu tespit edilmiş. Bunun nedeninin Asprin'in Prostaglandin (PGI₂) sentezine dokunmamasına ve Tromboksan A₂

(TXA2) sentezini çok düşük dozlarda dahi bloke etmesine ayrıca antioksidan özelliğinin olmasına bağlı olabileceği rapor edilmiştir.

Zafar *et al.* (2009), diyabetik böbrek komplikasyonları ile böbrek enzimleri arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında albino sıçanların böbrek morfolojisi, anatomisi ve AST, ALT, ALP ve PChE aktiviteleri üzerine STZ'nin etkilerini çalışmışlardır. Sıçan böbrek histopatolojisinde, insan böbrek histopatolojisindeki gibi glomeruloskleröz, glomerüler membran kalınlaşması, arteriolar hiyalinleşme ve tübüler nekrozis ile benzer lezyonlar gösterdiğini, böbrekte AST, ALT, ALP ve PChE değerlerinin arttığını gözlemişlerdir. Diyabetik komplikasyonların enzim değerlerinin değişimi ile ilişkili olduğu kanaatine varılmıştır.

Xue *et al.* (2011), *Trigonella foenum graecum* çekirdeği ekstresinin diyabetik sıçanların böbrek fonksiyonu ve morfolojisi üzerine koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada diyabet grubunda SOD ve CAT aktivitelerinde azalma MDA miktarında artma gözlenmiştir. *Trigonella foenum graecum* çekirdeği ekstresinin uygulandığı diyabetli grupta ise düşük olan antioksidan aktivitenin arttığı belirlenmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer

Bu araştırma, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim dalı Hayvan Fizyolojisi ve Histoloji laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1.2. Deneklerin Seçimi

Bu çalışmada 250 ± 50 g ağırlığında, 8 haftalık Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar deneye başlamadan önce ortama adaptasyonlarının sağlanması açısından, aynı bakım koşullarında günlük değiştirilen taze musluk suyu ve standart fabrikasyon palet yem ile beslendi. Deney sırasında hayvanların rahat hareket edebilecekleri büyüklükte ve üzeri hava alabilecek şekilde kapatılmış metal kafesler kullanıldı. Kontrol grubunu oluşturan hayvanlar uygulama grupları ile aynı şartlara maruz bırakıldı. Çalışmalar için Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi Etik Kurulundan (AÜHAYDEK, 10.03.2010 tarihli toplantıya ait) izin alındı ve deney süresince Etik Kurul şartlarının sağlanmasına özen gösterildi (Ek 1).

3.1.3. Deney bitkilerinin temini ve teşhisi

Bu çalışmada, çalışma materyali olarak bölgemizde bulabildiğimiz *C. islandica* (L.) Ach. Ve *P. furfuracea* (L.) Zopf isimli iki farklı liken türleri tercih edildi. Liken örnekleri, 2009-2010 yıllarının Haziran-Eylül aylarında Artvin, Erzurum, Giresun illeri ve çevresinden Doç. Dr. Ali Aslan tarafından toplandıktan sonra uluslararası teşhis yöntemleri kullanılarak türlerin teşhisi yapıldı (Purvis *et al.* 1992; Aslan 2000; Aslan *et*

al. 2002). Liken türlerinin birer örneği de Atatürk Üniversitesi-Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır.

3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada Streptozotosin (STZ) (S0130-500 mg), hematoksilen (H3136-100 g), eozin (E4382-100g), bakır iki klorür (CuCl_2), etilen diamin tetraasetik asit (EDTA), Alüminyum potasyum sülfat (şap), glasiyal asetik asit, potasyum klorür (KCl), hidrojen peroksit (H_2O_2), xantine oksidaz (XO), sodyum klorür (NaCl) Riedel-de Haent® firmasından, etanol, potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), trikloroasetik asit (TCA), sodyum hidroksit (NaOH), hidroklorik asit (HCl), entellan, formaldehit, ksilol, pikrik asit, parafin, metanol, amonyak, civa oksit Merck® firmasından, amyloid staining kit Sigma-Aldrich® firmasından, masson-goldner staining kit Merck® firmasından, schiff's solüsyonu, light green stain, peryodik asit solüsyonu ve sıvı azot kullanıldı.

3.1.5. Kullanılan aletler ve cihazlar

Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar Çizelge 3.1'de gösterildi.

Çizelge 3.1. Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar

Alet ve Cihazlar	Temin Edildiği Firma
Mikrotom	Leica RM 2255, Germany
Doku bloklama	Leica EG 1160, Germany
Işık mikroskobu	Olympus BH 40, Japan
Etüv	Heraeus FB 420, Germany
Hassas terazi	Sartorius AG, Germany
Otomotik pipet	Finpipette Labsystems, Finland
Santrifüj	Heraeus 4600, Germany
Spektrofotometre	Beckman DU 500, USA
Su banyosu	Nüve BM 101, Nüve M.S.L.T.A, Ankara
Kan şekeri ölçüm cihazı	Accu-Chek, Roche
Derin dondurucu Sanyo Ultra Low, Japan	Derin dondurucu Sanyo Ultra Low, Japan

3.1.6. Kullanılan boya ve çözeltilerin hazırlanması

Harris Hematoksilen boyasının hazırlanışı

Hematoksilen kristal.....	5 g
%95'lik alkol	5 cc
Aluminyum potasyum sülfat (Şap)	100 g
Saf su	1000 cc
Merkürük oksit(civa oksit).....	2,5 g
Asetik asit.....	50 cc

5 g hematoksilen 50 mL etil alkolde çözüldü. Daha sonra 100 g potasyum amonyum sülfat (şap) alınarak 1L distile su ilave edilip kaynatıldı. Diğer taraftan hematoksilen manyetik ısıtıcıda en son sıcaklık derecesinde kaynatıldı. Üzerine kaynatılmış olan aluminyum potasyum sülfat çözeltisi yavaş yavaş sızdırma şeklinde ilave edildi. Manyetik ısıtıcıda hem karıştırıp hemde kaynatarak işleme devam edildi. Daha sonra 2,5 g merkürükoksit (civa oksit) ilave edildi. Civa oksit katıldıktan sonra tortu tabakası oluştu. Bu tabaka yok oluncaya kadar kaynatma işlemine devam edildi. Süzgeç kağıdı ile boyanın rengi kontrol edilip, koyu mor bir renk alıncaya kadar kaynatma işlemine devam edildi. Renk oluşuktan sonra kaynatma işlemine son verildi. Soğuk su içerisinde boyanın soğuması beklenildikten sonra üzerine 50 cc asetik asit ilave edilip karıştırıldı. Bu işlem tamamlandıktan sonra sargı bezi ile boya süzüldü, önceden hazırlanmış olan hematoksilen boyası ile karıştırılıp süzgeç kâğıdı ile süzüldükten sonra kullanıma hazır hale geldi.

Eozin boyası'nın hazırlanışı

Eozin.....	4-5 g
Distile su.....	50 cc
Asetik asit.....	4-5 cc
Etil alkol.....	500 cc

Eozin suda çözüldü, karıştırıcıya yerleştirildikten sonra üzerine 500 cc etil alkol ilave edildi. Karıştırma işlemine 10-15 dk tortu oluşmayıncaya kadar devam edildi, bu işlem bittikten sonra 4-5 cc asetik asit ilave edildi.

Asit alkol solüsyonunun hazırlanışı

Etil alkol.....300 cc
HCl.....10 cc
Distile su.....700 cc

Notral tamponlanmış formalin (NTF)

%40'lık formalin.....100 mL
Distile su.....900 mL
Sodyum fosfat, monobazik, monohidrat.....4 g
Sodyum fosfat, dibazik, anhidroz.....6,5 g

Bouin solüsyonunun hazırlanışı

Distile suda sature pikrik asit.....1500 mL
% 40'lık formalin.....500 mL
Glacial asetik asit.....100 mL

Fosfat tamponlu salin'in (pbs) hazırlanışı (pH: 7)

NaCl.....8,0 g
KCl.....0,2 g
KH₂PO₄.....0,2 g
Na₂HPO₄.....2,32 g

Yukarıda belirtilen miktarlarda ad kimyasallardan alınarak 1 litre distile suda çözüldü. Çözelti oda ısısında muhafaza edildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney ve kontrol gruplarını belirlenmesi

1. Grup (Kontrol Grubu, n:7):

Bu gruptaki sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldıktan (290 ± 10 g) sonra, 1 mL serum fizyolojik su intraperitoneal (IP) yoluyla uygulandı. Sıçanlar kafeslerine alındı, suları 1,5 L, yemleri de 500 g olarak ayarlandı. Hayvanların deney süresince günlük olarak su ve yem ölçümleri yapıldı. Su ve yemleri tazelendi.

2. Grup (Diyabet grubu, n:7):

Bu gruptaki sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldıktan (250 ± 10 g) sonra, hayvanlar kafeslerine alındı. 24 saat aç bırakılan sıçanlara 24 saatin sonunda 50 mg/kg dozunda STZ (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) IP yoldan tek doz olarak uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 72 saat sonra sıçanların kuyruk venlerinden alınan kan örnekleri ile kan glukoz seviyesi belirlendi. Kan glukoz seviyesi 200 mg/dL üzerinde olan hayvanlar diyabet hastası kabul edildi ve diyabetli sıçanlara ek tedavi verilmeden takip edildi. Hayvanların suları 1,5 L, yemleri de 500 g olarak ayarlandı. Deney süresince hayvanların günlük olarak su ve yem ölçümleri yapıldı. Su ve yemleri tazelendi.

3. Grup (*Cetraria islandica* 250 mg/kg grubu, n:7):

Bu gruptaki sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldıktan (220 ± 10 g) sonra sıçanlar kafeslerine alındı. Hayvanlara her gün 250 mg/kg CISE IP yoldan uygulandı.

Hayvanların suları 1,5 L, yemleri de 500 g olarak ayarlandı. Deney süresince hayvanların günlük olarak su ve yem ölçümleri yapıldı. Su ve yemleri tazelendi.

4. Grup (*Cetraria islandica* 500 mg/kg grubu, n:7):

Bu gruptaki sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldıktan (220 ± 10 g) sonra sıçanlar kafeslerine alındı. Hayvanlara her gün 500 mg/kg CISE IP yoldan uygulandı. Hayvanların suları 1,5 L, yemleri de 500 g olarak ayarlandı. Deney süresince hayvanların günlük olarak su ve yem ölçümleri yapıldı. Su ve yemleri tazelendi.

5. Grup (*Pseudevernia furfuracea* 250 mg/kg grubu, n:7):

Bu gruptaki sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldıktan (220 ± 10 g) sonra sıçanlar kafeslerine alındı. Hayvanlara her gün 250 mg/kg PFSE IP olarak uygulandı. Hayvanların suları 1,5 L, yemleri de 500 g olarak ayarlandı. Deney süresince hayvanların günlük olarak su ve yem ölçümleri yapıldı. Su ve yemleri tazelendi.

6. Grup (*Pseudevernia furfuracea* 500 mg/kg grubu, n:7):

Bu gruptaki sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldıktan (220 ± 10 g) sonra sıçanlar kafeslerine alındı. Hayvanlara her gün 500 mg/kg PFSE IP olarak uygulandı. Hayvanların suları 1,5 L, yemleri de 500 g olarak ayarlandı. Deney süresince hayvanların günlük olarak su ve yem ölçümleri yapıldı. Su ve yemleri tazelendi.

7. Grup (STZ+*Cetraria islandica* 250 mg/kg grubu, n:7):

Bu gruptaki sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldıktan (200 ± 10 g) sonra sıçanlar kafeslerine alındı. 24 saat aç bırakılan sıçanlara 24 saatin sonunda 50 mg/kg dozunda Streptozotosin (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) IP yoldan tek doz olarak uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 72 saat sonra

sıçanların kuyruk venlerinden alınan kan örnekleri ile kan glukoz seviyesi belirlendi. Kan glukoz seviyesinin 200 mg/dL üzerinde olmasıyla birlikte diyabetli sıçanlara her gün 250 mg/kg CISE IP olarak uygulandı Hayvanların suları 1,5 L, yemleri de 500 g olarak ayarlandı. Deney süresince hayvanların günlük olarak su ve yem ölçümleri yapıldı. Su ve yemleri tazelendi.

8. Grup (STZ+*Cetraria islandica* 500 mg/kg grubu, n:7):

Bu gruptaki sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldıktan (210 ± 10 g) sonra sıçanlar kafeslerine alındı. 24 saat aç bırakılan sıçanlara 24 saatin sonunda 50 mg/kg dozunda Streptozotosin (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) IP yoldan tek doz olarak uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 72 saat sonra sıçanların kuyruk venlerinden alınan kan örnekleri ile kan glukoz seviyesi belirlendi. Kan glukoz seviyesinin 200 mg/dL üzerinde olmasıyla birlikte diyabetli sıçanlara her gün 500 mg/kg CISE IP olarak uygulandı. Hayvanların suları 1,5 L, yemleri de 500 g olarak ayarlandı. Deney süresince hayvanların günlük olarak su ve yem ölçümleri yapıldı. Su ve yemleri tazelendi.

9. Grup (STZ+*Pseudevernia furfuracea* 250 mg/kg grubu, n:7):

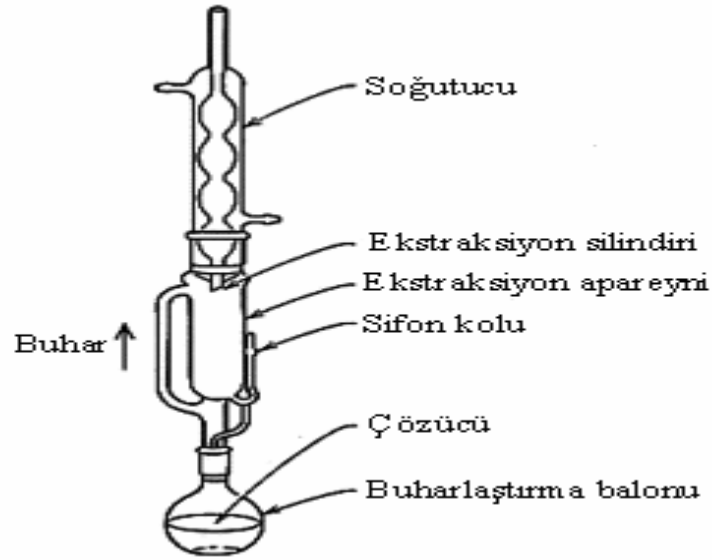
Bu gruptaki sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldıktan (200 ± 10 g) sonra sıçanlar kafeslerine alındı. 24 saat aç bırakılan sıçanlara 24 saatin sonunda 50 mg/kg dozunda Streptozotosin (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) IP yoldan tek doz olarak uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 72 saat sonra sıçanların kuyruk venlerinden alınan kan örnekleri ile kan glukoz seviyesi belirlendi. Kan glukoz seviyesinin 200 mg/dL üzerinde olmasıyla birlikte diyabetli sıçanlara her gün 250 mg/kg PFSE IP yoldan uygulandı. Hayvanların suları 1,5 L, yemleri de 500 g olarak ayarlandı. Deney süresince hayvanların günlük olarak su ve yem ölçümleri yapıldı. Su ve yemleri tazelendi.

10. Grup (STZ+ *Pseudevernia furfuracea* 500 mg/kg grubu, n:7):

Bu gruptaki sıçanların ağırlık ölçümleri yapıldıktan (200 ± 10 g) sonra sıçanlar kafeslerine alındı. 24 saat aç bırakılan sıçanlara 24 saatin sonunda 50 mg/kg dozunda Streptozotosin (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) IP yoldan tek doz olarak uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 72 saat sonra sıçanların kuyruk venlerinden alınan kan örnekleri ile kan glukoz seviyesi belirlendi. Kan glukoz seviyesinin 200 mg/dL üzerinde olmasıyla birlikte diyabetli sıçanlara her gün 500 mg/kg PFSE IP yoldan uygulandı. Hayvanların suları 1,5 L, yemleri de 500 g olarak ayarlandı. Deney süresince hayvanların günlük olarak su ve yem ölçümleri yapıldı. Su ve yemleri tazelendi.

3.2.2. Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Liken örnekleri toplandıktan sonra temizlenerek oda sıcaklığında kurutuldu. Kuru örnekler sıvı azot ile havanda öğütülerek toz haline getirildi. 100 g öğütülmüş liken örnekleri distile su ile 250 mL'ye tamamlanarak Soxhlet cihazında (= çalkalayıcı) 25°C'de 2 gün ekstrakte edildi (Şekil 3.1). Elde edilen ekstrakt süzgeç kağıdı ile süzüldü. Çözücünün buharlaştırılması ile elde edilen kuru ekstrakttan stok çözelti hazırlandı. Stoktan seyreltme yöntemi kullanılarak diğer dozlar hazırlandı ve deney gruplarına verildi. Stok çözelti +4°C'de buzdolabında saklandı.



Şekil 3.1. Soxhlet ekstraksiyon düzeneği

3.2.3. Sıçanlarda deneysel diyabet modelinin oluşturulması

Deneysel diyabet oluşturulması için rutin sağlık kontrolleri ve tartıları yapılan denekler 12 saat süreyle aç bırakıldı ve açlık kan glukoz düzeyleri kuyruk venlerinden alınan kan ile Accu-chek Go marka glukometre kullanılarak kontrol amacıyla ölçüldü. Deney grupları, hayvanların kilo ağırlıkları (± 10 g) baz alınarak oluşturuldu. Sonraki aşamada deney hayvanlarına 0,1 M, pH'sı 4,5 olan soğuk sitrat tamponunda taze hazırlanmış STZ çözeltisinden 0,1 mL içinde 50 mg/kg olacak şekilde tek doz IP yoldan verilerek deneysel diyabet oluşturuldu (Li 2007). Kontrol gurubundaki 7 deneğe ise 0,1 mL serum fizyolojik IP olarak enjekte edildi ve bu deneklerden kontrol gurubu oluşturuldu. STZ'in etki mekanizması göz önüne alınarak, STZ enjeksiyonu yapılmış hayvanların içme sularına enjeksiyondan 2 saat sonra başlamak üzere, 24 saat süre ile %5 oranında sukroz ilave edildi (Tuch *et al.* 2000). Enjeksiyondan 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örnekleri glukometre ile ölçüldü, glukoz düzeyi 200 mg/dL ve üzerinde olan denekler diyabetli olarak kabul edildi ve deney grupları oluşturuldu (Noyan *et al.* 2004).

3.2.4. Vücut ağırlığı ölçümü

Çalışma kapsamındaki deney hayvanlarının vücut ağırlıkları çalışma başlangıcında (1. gün), 3., 10. ve 17. gün olmak üzere toplam 4 kez ölçüldü.

3.2.5. Su ve yem miktarlarının ölçülmesi

Deney hayvanlarının su ve yem miktarları 1., 3., 10. ve 17. gün olmak üzere toplam 4 kez ölçüldü.

3.2.6. Kan glukoz düzeyleri ölçümü

Deney hayvanlarının kan glukoz değerleri, 1., 3., 10. ve 17. gün olmak üzere toplam 4 kez, sıçanların kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz oksidaz yöntemiyle otomatik şeker ölçüm cihazı (Accu-Chek, Roche) kullanmak suretiyle glukoz düzeylerine bakıldı.

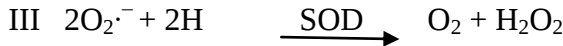
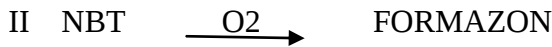
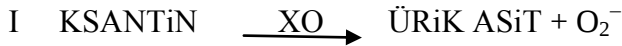
3.2.7. Antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeyinin belirlenmesi

3.2.7.a. Doku homojenatlarının hazırlanması

Böbrek dokuları bir havan içinde sıvı azot yardımıyla ezildi. Bu örneklerden 0,5 g tartılarak üzerine 4,5 mL tampon ilave edildi ve bir ultra-turraks homojenizatörde 15 dk süreyle buz üzerinde homojenize edildi. Homojenatlar bir süzgeç kağıdından süzildükten sonra soğutmalı santrifüj kullanılarak her enzim için literatürlerde belirtilen hızlarda +4°C’de santrifüj edildikten sonra üstte kalan berrak kısım (süpernatant) enzim aktivitelerinin belirlenmesi için kullanıldı (Alarcón de la Lastra *et al.* 2002).

3.2.7.b. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Ölçüm prensibi: Ksantin, ksantin oksidaz enzimi vasıtasıyla ürik aside dönüştürülmesiyle meydana gelen süperoksit radikalleri, şayet ortamda NBT (nitro blue tetrazolium) mevcutsa, NBT ile reaksiyona girerek formazon boyası oluşturmaktadır. Bu bileşik 560 nm dalga boyunda maksimum absorbands vermektedir. Şayet ortamda SOD enzimi varsa süperoksit radikalleri bu enzim tarafından H_2O_2 'ye dönüştürüldüğü için formazon oluşumu düşmekte buna bağlı olarak da 560 nm'de ölçülen absorbands azalmaktadır. Absorbandaki azalmanın miktarı bize SOD aktivitesini vermektedir. Özetle; SOD aktivitesi aşağıda verilen II nolu reaksiyonun inhibe edilme derecesiyle ölçülebilmektedir.



SOD ölçümü: SOD aktivitesi Sun *et al.* (1988) tarafından tarif edilen yöntemle ölçüldü (Champe et al 1997). Böbrek dokuları homojenize edildikten sonra 18000 g'de 1 saat santrifüj edildi (Hye Kyung *et al.* 2001). Cam bir spektrofotometre küvetine 2450 µl ölçüm karışımı (0,3 mM Xanthine, 0,6 mM EDTA, 150 µM NBT, 0,4 M Na_2CO_3 , 1,2 g/L BSA), 500 µl supernatant, 50 µl ksantin oksidaz eklendikten sonra karıştırılarak yaklaşık 20 dakika inkubasyona bırakıldı ve 1000 µl $CuCl_2$ ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı.

SOD aktivitesi'nin hesaplanması: Oluşan formazon miktarları 560 nm'de 3 mL'lik quartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak (EU) değerler elde edildi ve SOD aktivitesi, mmol/dakika/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekrerrü yapılarak verildi.

$$EU \text{ mg.doku} = 100 - \left(1 - \frac{\Delta AKör - \Delta Anumune}{\Delta AKör}\right) \times 100$$

3.2.7.c. Total glutatyon (GSH) miktarı ölçümü:

Ölçüm prensibi: Ölçüm ortamındaki DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)] disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenmektedir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir.

GSH miktarının ölçülmesi: Sedlak ve Lindsay (1986)'in geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi. Bu amaçla, 0,5 g doku üzerine 4,5 mL 50 mM Tris-HCl (pH 7,4) 0,5 g doku ezildi üzerine 4 mL fosfat tamponu ilave edilerek homojenizasyon yapıldı (Alarcón de la Lastra *et al.* 2002) ve homojenatlar, 12000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Öncelikle kapaklı deney tüpleri içerisine 1500 µl ölçüm tamponu (0,2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH =8,2), 500 µl süpernatant, 100 µl DTNB ve 7900 µl metanol pipetlenerek vortekslendi ve karışım 37°C' de 30 dakika inkubasyona bırakıldı, sonra da ölçümleri alındı.

GSH miktarının hesaplanması: Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 3 mL'lik quartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler yapıldı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg doku olarak tarif edildi. Deneyler 3 paralel tekerrür halinde yapıldı.

3.2.7.d. Lipid peroksidasyonunun (LPO) belirlenmesi

Ölçüm prensibi: SR'lerin hücre zarında oluşturduğu lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan malondialdehit (MDA) düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemlerin çoğu MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği reaksiyonu temel

almaktadır. Bir molekül MDA iki molekül TBA ile stabil kırmızı renk oluşturmak üzere reaksiyona girmektedir. LPO ölçümü, Ohkawa ve arkadaşlarının metoduna göre MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitirik (TBA) asitle oluşturduğu rengin 532 nm'de optik dansitesinin ölçülmesi prensibine dayanarak yapıldı (Ohkawa *et al.* 1979).

MDA ölçümü: Ohkawa ve arkadaşlarının (1979) geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi. 0,5 g doku üzerine 4,5 mL %10 KCl ilave edilerek homojenize edildi (Alarcón de la Lastra *et al.* 2002). Homojenatlar, 5000 g'de 20 dk santrifüj edildi ve bu süpernatantlar, LPO miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 250 µL homojenat, 100 µL %8 sodyum dodesil sülfat (SDS), 750 µL %20 asetik asit, 750 µL %0,08 TBA ve 150 µL saf su pipetlenerek vortekslendi. Karışım 100°C'ta 60 dk inkubasyona bırakıldıktan sonra üzerine 2,5 mL n-bütanol ilave edildi ve ölçüm alındı.

MDA miktarının hesaplanması: Oluşan kırmızı renk miktarları 532 nm'de 3 mL'lik cam küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler yapıldı. Numunelerin LPO miktarları, nmol MDA/g doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekerrür yapılarak verildi.

3.2.8. Böbrek diseksiyonu

Deney sonunda tüm sıçanlar Sevorane® (Abbot; İstanbul, Türkiye) kullanılarak uyutulduktan sonra karın bölgesi dikkatli bir şekilde açıldı ve böbrekleri çıkarıldı. Çıkarılan böbrek örneklerinden bir kısmı histolojik işlemler için %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde postfiksasyon işlemleri için 48 saat beklemeye alındı, örneklerin diğer kısmı ise enzim aktivitesinin belirlenmesi için %0,09 fizyolojik su ile yıkandıktan sonra -80°C de derin dondurucuda saklandı.

3.2.9. Histolojik işlemler

Histopatolojik tekniklerin uygulanması

%10'luk formalin fiksatifinde 48 saat bekletilen sıçan böbrekleri sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirilerek doku takipleri yapıldı;

- 1) Akarsuda yıkama: Dokular çeşme suyunda 4 saat boyunca yıkandı.
- 2) Daha sonra dehidratasyon işlemi için alkol serilerinden geçirildi. Bu amaçla dokular; %70'lik alkolde 4 saat ve %80'lik alkolde 1 gece bekletildi. Bu işlemlerin ardından 4 ayrı %96'lık alkol serilerinde 1'er saat bekletildi.
- 3) Dehidratasyon işleminin ardından ksilen serileri ile şeffaflaştırma işlemine geçildi. Bu amaçla dokular; Ksilol I, Ksilol II ve Ksilol III serilerinde 15'er dakika bekletildi.
- 4) Daha sonra 3 ayrı parafin banyosunda 1'er saat (58⁰C'deki etüvde) bekletildi.

Parafin III banyosundan sonra parçalar parafin kalıplara konularak üstlerine sıcak parafin eklendi ve böylelikle örnekler kesit alınacak duruma getirildi. Mikrotom ile 5 µm kalınlığında histopatolojik kesitler alındı ve aşağıda yazılı olan boyama prosedürleri uygulandı (Bancroft and Stevens 1982).

Hematoksilen-eosin boyama metodu

Genel histolojik yapıları göstermek için kullanıldı.

Boyama Tekniği;

1. Ksilol I'de 15 dk bekletildi
2. Ksilol II'de 15 dk bekletildi
3. Ksilol III'de 15 dk bekletildi
4. %70'lik alkolde 10 dk bekletildi

5. %80'lik alkolde 10 dk bekletildi
6. %96'lık alkolde 10 dk bekletildi
7. Çeşme suyunda 15 dk yıkandı
8. Hematoksilen: İlk kullanıldığında 30 dk, bir buçuk ay sonunda 7 dk bekletildi
9. Asit alkol: Preparat üç defa batırılıp çıkarıldı
10. Eozin'de 1 dk bekletildi
11. Saf suda 1 dk bekletildi
12. %96'lık alkolde 10 dk bekletildi
13. %80'lik alkolde 10 dk bekletildi
14. %70'lik alkolde 10 dk bekletildi
15. Ksilol I'de 15 dk bekletildi
16. Ksilol II'de 15 dk bekletildi
17. Ksilol III'de 15 dk bekletildi

İşlemler tamamlandıktan sonra preparatlar kanada balzamu ile kapatıldı (Bancroft and Stevens 1982).

PAS boyama metodu (Periodic acid schiff's solution, Diagnostic BioSystems)

Fiksasyon: Dokular %10'luk formalinde tespit edildi.

Hazırlanan parafin bloklarında 5 mikron kalınlığında kesitler alındı.

Boyama Tekniği:

1. Ksilol I'de 10 dk bekletildi
2. Ksilol II'de 10 dk bekletildi
3. Ksilol III'de 10 dk bekletildi
4. %70'lik alkolde 10 dk bekletildi
5. %80'lik alkolde 10 dk bekletildi
6. %96'lık alkolde 10 dk bekletildi

7. Kesitler akarsuda yıkandı
8. Peryodik asit solüsyonunda 7 dk bekletildi
9. Kesitler hızlı bir şekilde distile suda çalkalandı
10. Schiff's solüsyonunda 15 dk bekletildi
11. Akan çeşme suyunda 5 dk yıkandı
12. Hematoksilen'de 2 dk boyandı
13. Çeşme suyunda 3 dk yıkandı
14. Light green boyasında zemin yeşil olana kadar bekletildi
15. 3 ayrı alkolde suyunu gidermek için bekletildi
16. Ksilol I, II, III serilerinden geçirildi
17. Preparatlar entellan ile kapatıldı.

Amiloid (krezil) boyama metodu (Amyloid stain, Congo red kit, Sigma-Aldrich)

Doku takipleri yapıp parafin bloklara gömülen doku örneklerinden 5 µm kalınlığında histopatolojik kesitler alındı ve amiloid boyama için aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulandı.

Boyama Tekniği;

1. Deparafinizasyon ve hidratasyon işlemleri için ksilol ve alkol serilerinden geçirildi.
2. Kesitler 3 dk hematoksilen solüsyonunda bekletildi.
3. Kesitler 5 dk akan musluk suyu altında yıkandı.
4. 20 dk sodyum klorid solüsyonunda bekletildi.
5. 20 dk Kongo red solüsyonunda bekletildi.
6. Kesitler 3 ayrı alkol serisinde geçirildi.
7. Ksilolde temizleme işleminden sonra preparatlar entellan ile kapatıldı.

Masson trichrome boyama metodu (Masson-Goldner staining kit, Merck)

Doku takipleri yapıp parafin bloklara gömülen doku örneklerinden 5 µm kalınlığında histopatolojik kesitler alındı ve masson trikrom boyama için aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulandı.

Boyama Tekniği;

1. 10 dk Ksilol I’de bekletildi
2. 10 dk Ksilol II’de bekletildi
3. 10 dk Ksilol III’de bekletildi
4. %70’lik alkolde 10 dk bekletildi
5. %80’lik alkolde 10 dk bekletildi
6. %96’lık alkolde 10 dk bekletildi
7. 5 dk hematoksilende bekletildi
8. 5 dk akar suda yıkandı
9. 30 sn %1’lik asetik asit* ile durulandı
10. 10 dk azophloxin solüsyonunda bekletildi
11. 30 sn %1’lik asetik asit* ile durulandı
12. 1 dk tungstophosphoric asit orange G solüsyonunda bekletildi
13. 30 sn %1’lik asetik asit* ile durulandı
14. 2 dk light green solüsyonunda bekletildi
15. 30 sn %1’lik asetik asit* ile durulandı
16. %96’lık alkolde 10 dk bekletildi
17. %80’lik alkolde 10 dk bekletildi
18. %70’lik alkolde 10 dk bekletildi
19. Ksilol I’de 15 dk bekletildi
20. Ksilol II’de 15 dk bekletildi
21. Ksilol III’de 15 dk bekletildi

Boyama işlemi tamamlandıktan sonra preparatlar entellan ile kapatıldı.

*%1'lik asetik asit: Boyama işlemi esnasında taze olarak hazırlandı.

3.3. Verilerin değerlendirilmesi

Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS® 13,0 for Windows® paket programı kullanılarak yapıldı. Tüm deney gruplarının kan glukoz değerleri ile biyokimya parametreleri tek yönlü varyans analizi (ANOVA)-tekrarlı ölçüm testleri ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testleri uygulanarak değerlendirmeye alındı. p değerleri 0,05'ten küçük olanlar anlamlı; p değerleri 0,05'den büyük olanlar ise anlamsız olarak kabul edildi. Sonuçlar, ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası olarak verildi (Öntürk ve Özbek 2007).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

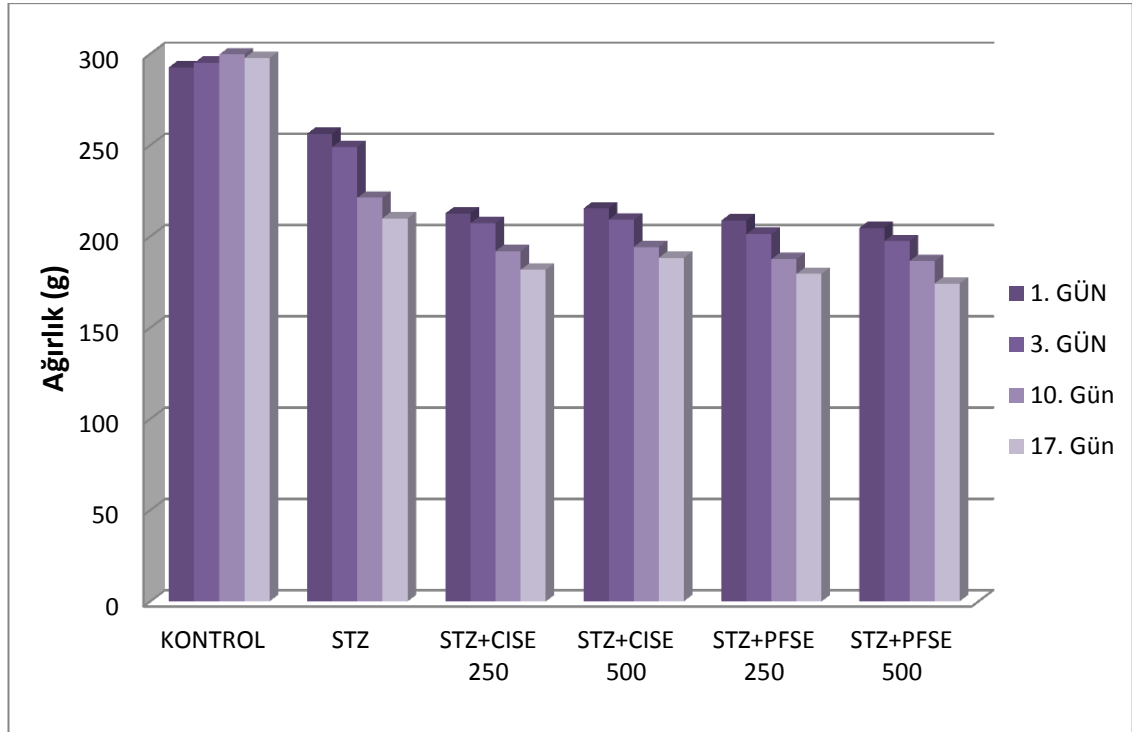
4.1. Vücut Ağırlığı, Yem Tüketimi ve Su Tüketimi Profilleri

Deney hayvanlarının ortama uyumları sağlandıktan sonra uygulama gruplarında diyabet oluşturmak için 72 saat beklendi ve bu süreyle birlikte 14 gün boyunca deney gruplarının vücut ağırlıkları ile yem ve su tüketim miktarları haftalık olarak ölçüldü. Bu ölçme işlemi çalışma başlangıcı (1. gün), 3., 10. ve 17. gün tekrarlandı. Diyabet oluşturulan sıçanların vücut ağırlıkları çalışma başlangıcında kontrol grubundan farklı değildi. Çalışmanın ilerlemesiyle vücut ağırlığı kontrol grubu sıçanlarda belirgin olarak değişmezken, diyabet oluşturulan tüm gruplarda zamanla azaldı. Gruplar kendi içinde 1. gün ile karşılaştırıldığında özellikle 10. günden sonra diyabetli hayvanların vücut ağırlıkları belirgin bir şekilde azaldı ($p<0,05$). Çalışma kapsamındaki sıçanların vücut ağırlıklarının zamana bağlı değişimleri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Ayrıca diyabetli hayvanların tükettikleri su ve yem miktarları kontrol gruplarına kıyasla önemli düzeyde artış gösterdi. 5-500 mg/kg doz aralığında uygulanan CISE ve PFSE’nin ise ne kontrol gruplarında ne de diyabetli hayvanlarda çalışılan parametreleri herhangi bir şekilde etkilemedi. Bundan dolayı da çalışmada likenlerle ilgili bulgular 250 ve 500 mg/kg doz aralığında sunuldu (Çizelge 4.1). Tüketilen su ve yem miktarlarının zamana bağlı değişimleri Şekil 4.2 ve 4.3’de verilmiştir.

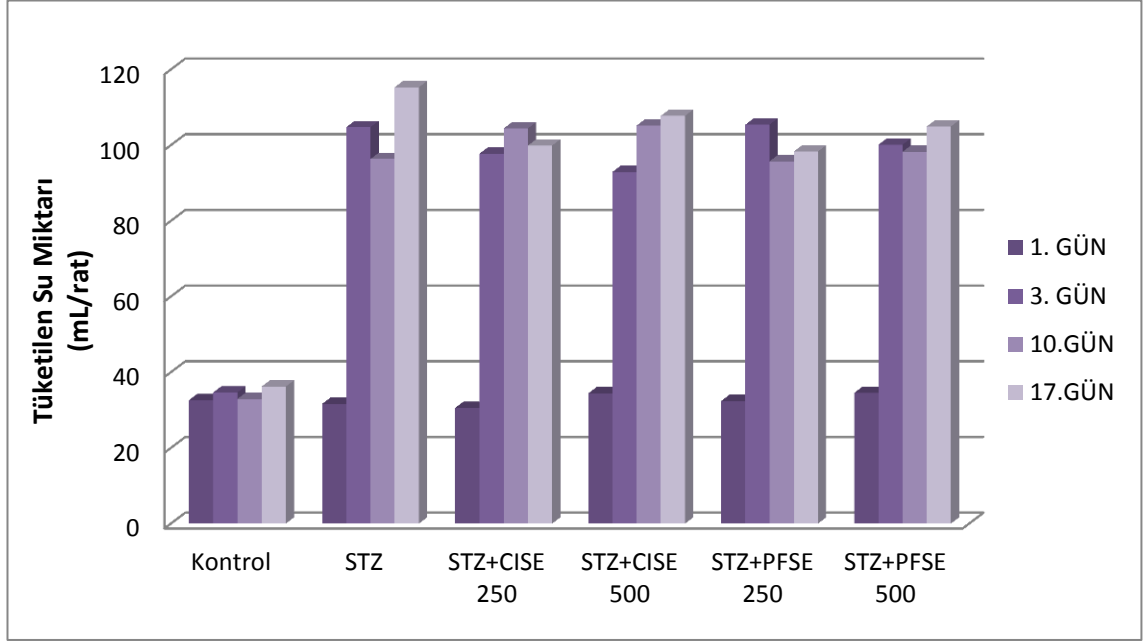
Çizelge 4.1. Çalışma kapsamındaki sıçanların vücut ağırlıklarının zamana bağlı değişimleri

GRUPLAR (mg/kg)	1. Gün ort±Sd	3. Gün ort±Sd	10. Gün ort±Sd	17.Gün ort±Sd
KONTROL	292,75±21,15	295,13±11,47	299,71±23,40	297,74±22,13
STZ	256,32±17,41	249,04±13,15	221,19±16,13*	209,97±14,92*
CISE 250	228,14±14,17	231,35±21,96	226,11±13,93	222,93±15,33
CISE 500	223,09±12,85	227,78±17,63	224,53±12,10	221,54±14,86
PFSE 250	216,28±11,87	219,52±13,54	213,11±13,28	213,36±10,83
PFSE 500	218,64±12,39	216,12±10,27	215,09±19,61	211,88±19,57
STZ +CISE 250	212,64±16,23	207,34±12,86	191,90±14,83*	181,74±13,58*
STZ +CISE 500	215,37±12,24	209,11±19,06	194,29±16,19*	188,33±15,33*
STZ+ PFSE 250	208,77±21,35	201,30±17,05	187,57±19,62*	179,51±15,81*
STZ+ PFSE 500	204,67±14,42	197,43±15,74	186,46±16,21*	174,16±18,72*

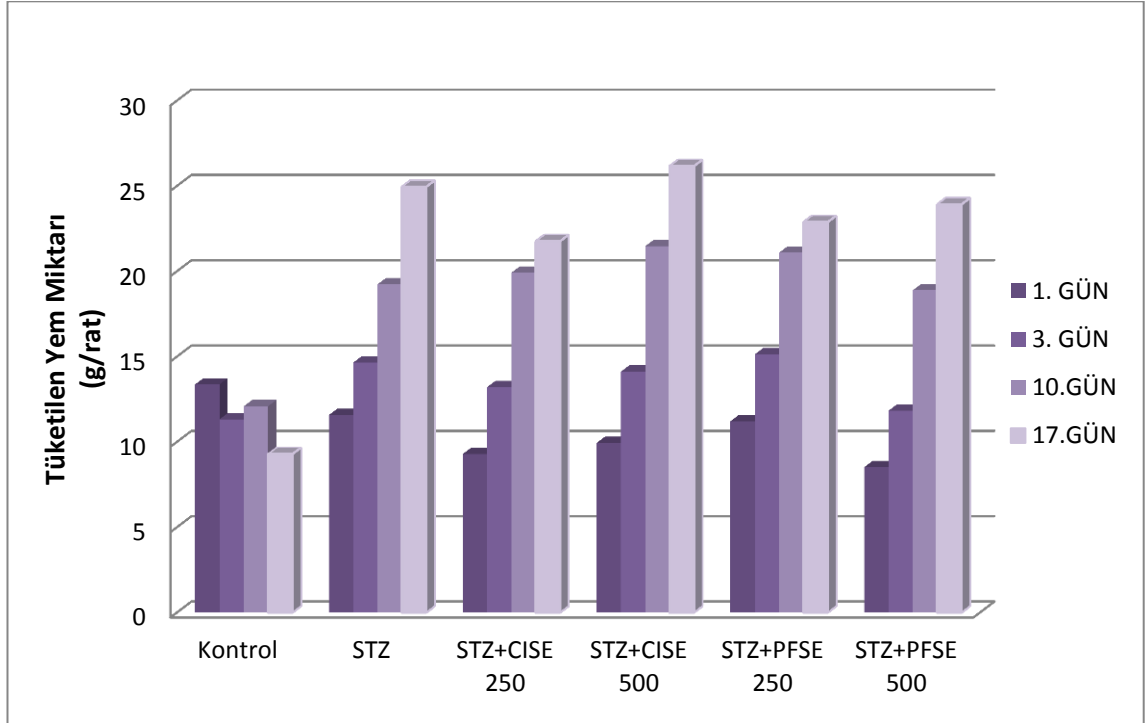
* p<0.05 anlam seviyesine göre istatistiki açıdan grup içinde 1. günden farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.1. Çalışma kapsamındaki sıçanların vücut ağırlıklarının zamana bağlı değişimi



Şekil 4.2. Çalışma kapsamındaki sıçanların su tüketim miktarlarının zamana bağlı değişimi



Şekil 4.3. Çalışma kapsamındaki sıçanların yem tüketim miktarlarının zamana bağlı değişimi

4.2. Kan Glukoz Seviyeleri

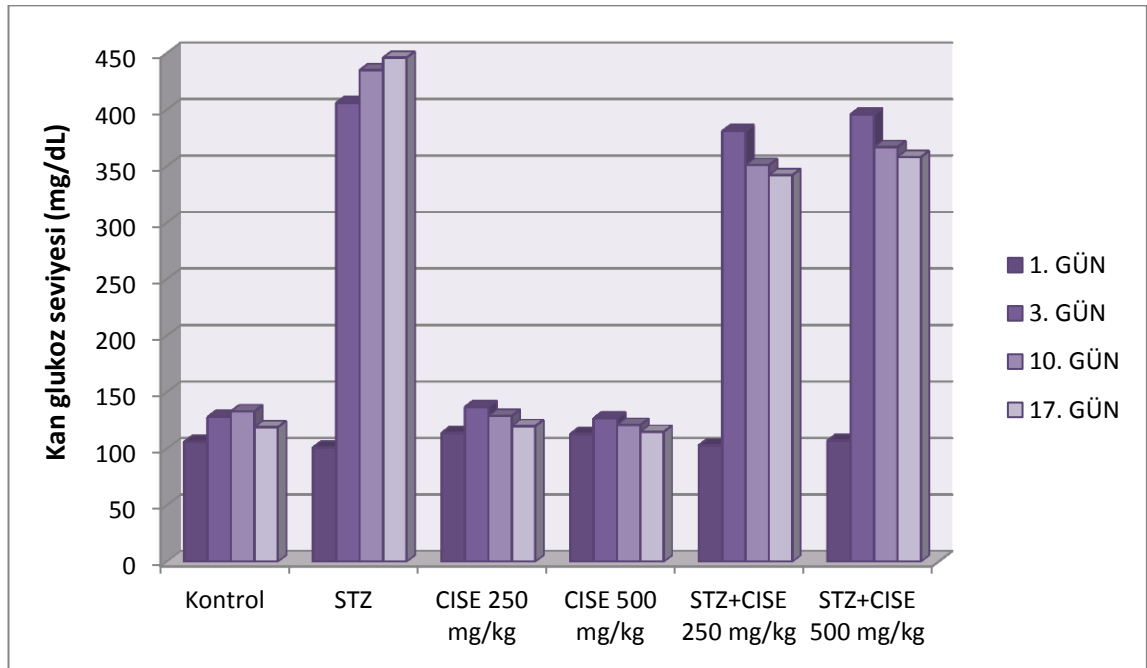
Deney hayvanları çalışmanın 1. günü, 3. günü, 10. günü ve 17. günü olmak üzere toplam 4 kez tüm grupların kan glukoz seviyeleri ölçüldü. Değerlerin ölçüleceği günlerde sıçanlar 1 gece önceden aç bırakılarak zaman ve açlığa bağlı glukoz değişimlerinin önüne geçilmiş oldu. Sonrasında her bir gruba ait kan glukoz değerlerinin ortalaması hesaplandı. Bu değerlerin zamana bağlı değişimleri standart hataları da hesaplanarak Çizelge 4.2’de sunuldu. Tüm grupların kan glukoz seviyeleri birinci gün en düşük $100,87 \pm 6,76$, en yüksek ise $117,24 \pm 6,71$ mg/dL olarak ölçüldü. Deney süresince kontrol grubundaki hayvanlarda kan glukoz seviyesinde herhangi bir değişiklik tespit edilmedi ($p > 0,05$) (Çizelge 4.2). STZ uygulanan gruplarda üçüncü gün kan glukoz seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla önemli derecede arttığı gözlemlendi. Bu artış kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan önemliydi ($p < 0,05$).

Çizelge 4.2. Tüm gruplara ait ortalama kan glukoz değerlerinin (mg/dL) zamana bağlı değişimleri

Gruplar (mg/kg)	n	1. Gün ort±Sd	3. Gün ort±Sd	10. Gün ort±Sd	17. Gün ort±Sd
KONTROL	7	106,32±5,22 ^a	128,40±4,50 ^a	133,67±7,80 ^a	119,95±10,59 ^a
STZ	7	101,11±5,53 ^a	406,10±11,02 ^{*c}	435,90±20,08 ^{*c}	446,02±22,43 ^{*c}
CISE 250	7	114,49±5,97 ^a	137,65±6,84 ^a	129,87±4,95 ^a	120,25±10,65 ^a
CISE 500	7	113,51±4,32 ^a	127,65±6,84 ^a	121,80±10,19 ^a	115,33±10,69 ^a
PFSE 250	7	117,24±6,71 ^a	128,22±7,88 ^a	131,73±13,21 ^a	121,97±2,64 ^a
PFSE 500	7	104,70±3,85 ^a	119,35±7,46 ^a	128,20±9,90 ^a	114,92±10,80 ^a
STZ+CISE 250	7	103,07±4,31 ^a	382,79±17,68 ^{*b,c}	351,58±21,09 ^{*b,c}	342,93±22,76 ^{*b,c}
STZ+CISE 500	7	107,15±2,65 ^a	396,35±12,09 ^{*c}	367,91±60,71 ^{*b,c}	358,31±17,76 ^{*b,c}
STZ +PFSE 250	7	100,87±6,76 ^a	403,80±16,20 ^{*c}	386,12±17,06 ^{*c}	374,50±15,18 ^{*c}
STZ +PFSE 500	7	102,42±3,76 ^a	375,50±12,80 ^{*b,c}	348,67±12,78 ^{*b,c}	349,87±15,95 ^{*b,c}

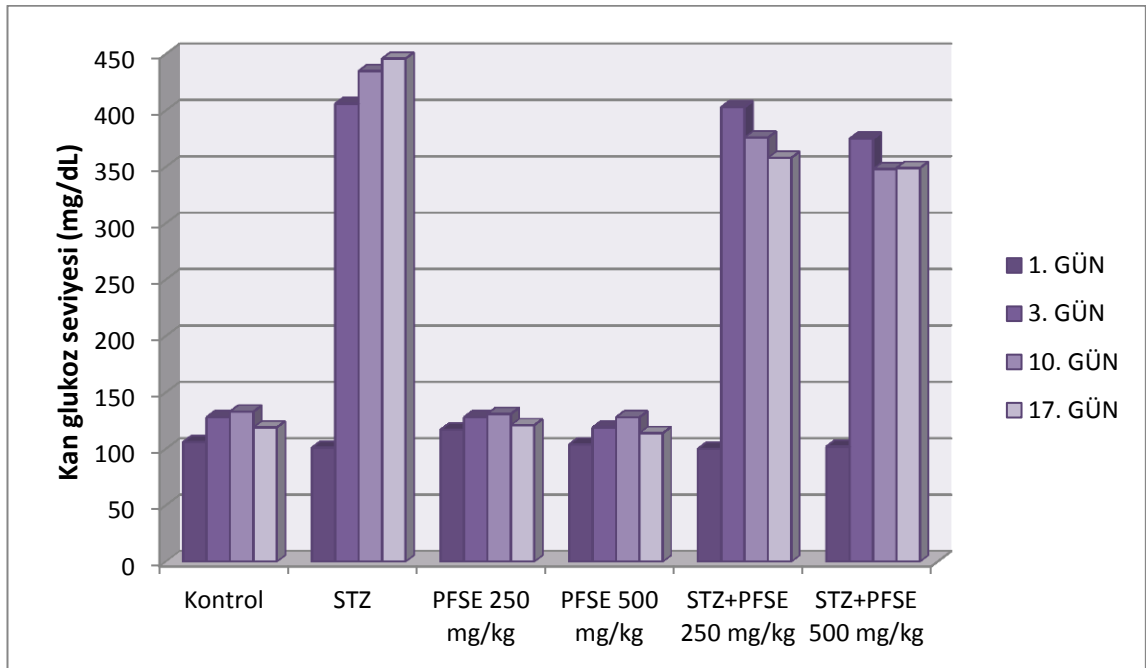
*: Kontrol grubuna göre p<0,05 önem derecesinde fark vardır. a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir (p<0.05),
ort: Ortalama değer, Sd: Standart hata.

STZ uygulaması yapılmamış hayvanlara 250-500 mg/kg doz aralığında CISE ve PFSE uygulandığında kan glukoz seviyelerindeki değişim istatistiksel olarak önemsizdi ($p<0,05$). Öte yandan diyabet geliştirilmiş hayvanlara 250 mg/kg CISE uygulanan grubun kan glukoz düzeyleri birinci gün $103,07\pm4,31$; üçüncü gün $382,79\pm17,68$; onuncu gün $351,58\pm21,09$ ve deney sonunda da $342,93\pm22,77$ mg/dL olarak ölçüldü. Bu grubun kan glukoz düzeylerinde kısmen bir azalış izlense de bu fark diyabet grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir anlam ifade etmemekteydi ($p<0,05$) (Çizelge 4.2). 500 mg/kg CISE uygulanan grupta ise kan glukoz düzeyleri birinci gün $107,15\pm2,65$; üçüncü gün $396,35\pm12,09$; onuncu gün $367,91\pm60,71$ ve deney sonunda da $358,31\pm17,76$ mg/dL olarak belirlendi. Aynı şekilde CISE'nin yüksek dozu (500 mg/kg) uygulanan grupta da kan glukoz seviyelerinde bir azalış izlendi fakat bu azalış diyabet grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan bir anlam ifade etmemekteydi ($p<0,05$ ve Şekil4.4).



Şekil 4.4. CISE uygulanan gruplara ait kan glukoz değerlerinin zamana bağlı değişimi

Bir diğer tedavi ajanı olan PFSE'nin 250 mg/kg dozunun uygulandığı gruplara ait kan glukoz değerlerinin ortalaması birinci gün $100,87 \pm 6,76$; üçüncü gün $403,80 \pm 16,20$; onuncu gün $386,12 \pm 17,06$ ve deney sonunda $374,50 \pm 15,18$ mg/dL olarak ölçüldü. PFSE'nin düşük dozu kan glukoz seviyesinde kısmen bir azalma sağlasa da bu sonuçlar kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak farklıydı ($p < 0,05$) ve CISE ye kıyasla diyabet üzerinde herhangi bir olumlu etkisi de yoktu. Aynı şekilde 500 mg/kg PFSE uygulanan grubun kan glukoz seviyeleri de ilk gün $102,42 \pm 3,76$; 3. gün $375,50 \pm 12,80$; 10. gün $348,67 \pm 12,78$ ve deney sonunda $349,87 \pm 15,95$ mg/dL olarak ölçüldü (Şekil 4.5). Bu sonuçlar ışığında PFSE'nin yüksek dozunun da tedavi konusunda yetersiz kaldığı tespit edildi ($p < 0,05$ ve Çizelge 4.2).



Şekil 4.5. PFSE uygulanan gruplara ait kan glukoz değerlerinin zamana bağlı değişimi

4.3. Biyokimyasal Bulgular

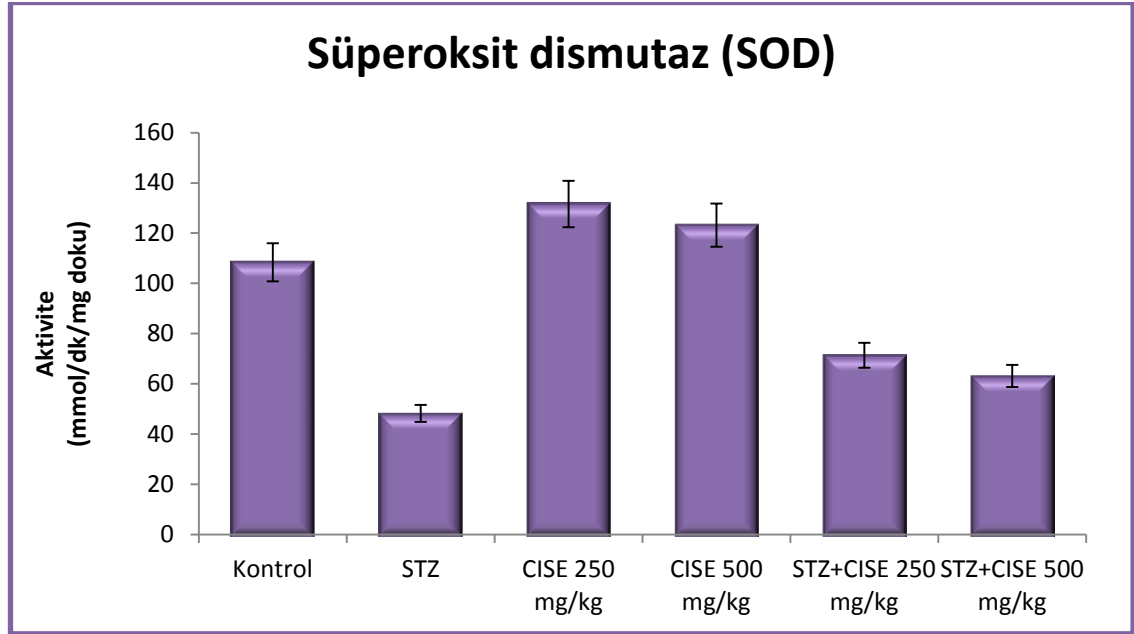
Biyokimyasal metotlar kullanılarak hayvanların böbrek homojenatlarında önemli antioksidan enzimlerden olan SOD aktivitesi ölçüldü. Oksidatif stresi değerlendirmek için de böbrekte GSH miktarı ve LPO aktivitesinin göstergesi olan MDA seviyesi

ölçüldü (Çizelge 4.3, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8). Kontrollerle karşılaştırıldığında diyabetli hayvanlarda antioksidan enzim aktivitesinde ve GSH miktarında belirgin düşüşler gözlemlendi. Bu düşüşler kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Bununla birlikte, MDA seviyesi önemli bir artış gösterdi. Böylece, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında diyabetli hayvanların böbrek dokusunda MDA seviyesi istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık gösterdi (Çizelge 4.3). Diğer taraftan, 5-500 mg/kg doz aralığında, 250 mg/kg CISE'nin tek başına verildiği hayvanlarda SOD aktivitesinin ve GSH değerinin kontrollere kıyasla belirgin bir şekilde arttığı, diyabetli hayvanların böbrek dokusunda ise likenin etkisiyle antioksidan kapasitede kısmi bir artışın olduğu fakat bu değerlerin kontrol grubundakine yaklaştırılamadığı gözlemlendi ($p<0,05$) (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7). Kontroller üzerinde CISE'nin etkisiyle MDA miktarı değişmezken diyabet grubuna uygulanan dozu ile belirgin olmayan bir azalma görüldü (Şekil 4.8). Çalışılan parametreler CISE'nin artan dozuna (500 mg/kg) rağmen herhangi bir değişiklik göstermedi.

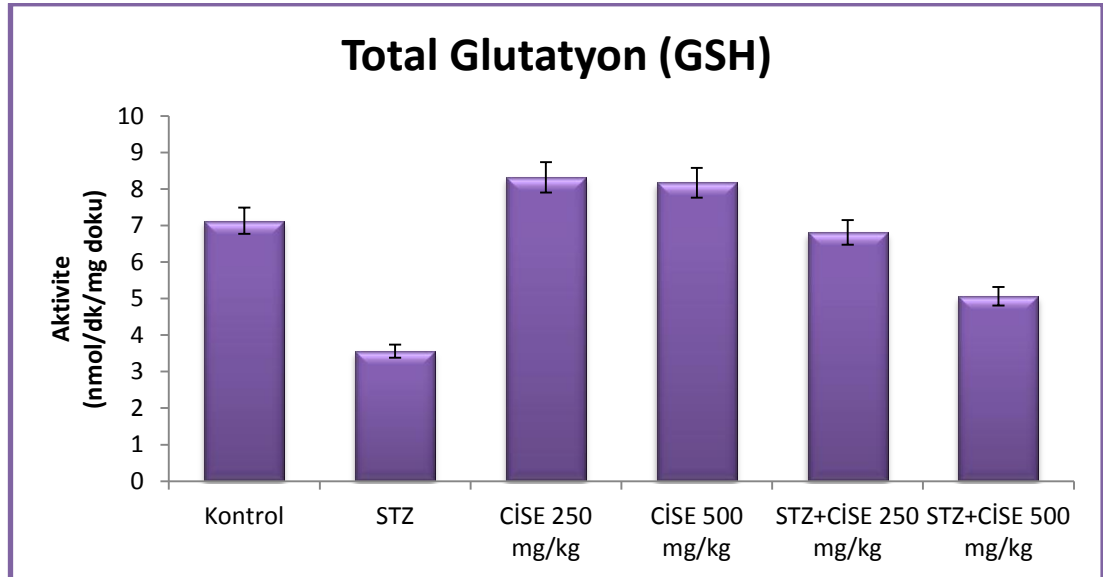
Çizelge 4.3. Diyabetik sıçanlarda kontroller ile karşılaştırmalı MDA, GSH ve SOD seviyeleri

Gruplar (mg/kg)	n	SOD (mmol/dk/mg doku) ort±Sd	GSH (nmol/mg doku) ort±Sd	MDA (nmol MDA/g doku) ort±Sd
KONTROL	7	108,42±5,06 ^b	7,13±2,58 ^c	5,21±0,25 ^a
STZ	7	48,27±4,54 ^{*c}	3,56±1,27 ^{*e}	12,66±0,63 ^{*c}
CISE 250	7	131,60±3,69 ^a	8,32±2,65 ^a	4,47±0,22 ^a
CISE 500	7	123,15±3,63 ^{a,b}	8,17±3,07 ^{a,b}	4,73±0,11 ^a
PFSE 250	7	110,38±4,87 ^b	7,33±2,46 ^{b,c}	5,69±0,20 ^a
PFSE 500	7	111,31±5,67 ^b	7,09±2,71 ^{b,c}	5,34±0,35 ^a
STZ+CISE 250	7	71,38±7,48 ^{*b,c}	5,91±1,65 ^{*d}	8,18±0,84 ^{*b,c}
STZ+CISE 500	7	63,14±8,93 ^{*c}	5,06±2,23 ^{*d}	9,87±0,76 ^{*b,c}
STZ +PFSE 250	7	57,36±4,64 ^{*c}	4,73±1,88 ^{*d}	11,71±0,95 ^{*c}
STZ +PFSE 500	7	54,40±5,66 ^{*c}	4,42±1,56 ^{*d}	12,13±0,47 ^{*c}

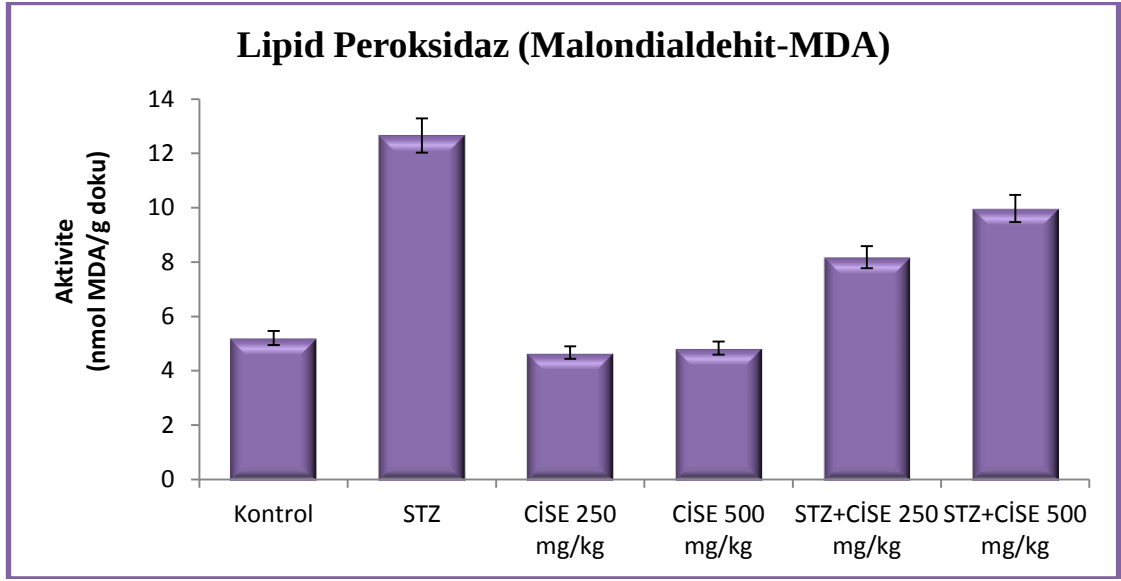
*: Kontrol grubuna göre p< 0,05 önem derecesinde fark vardır. a,b,c,d,e: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir (p< 0.05), ort: ortalama değer, Sd: standart hata.



Şekil 4.6. CİSE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının SOD değerleri

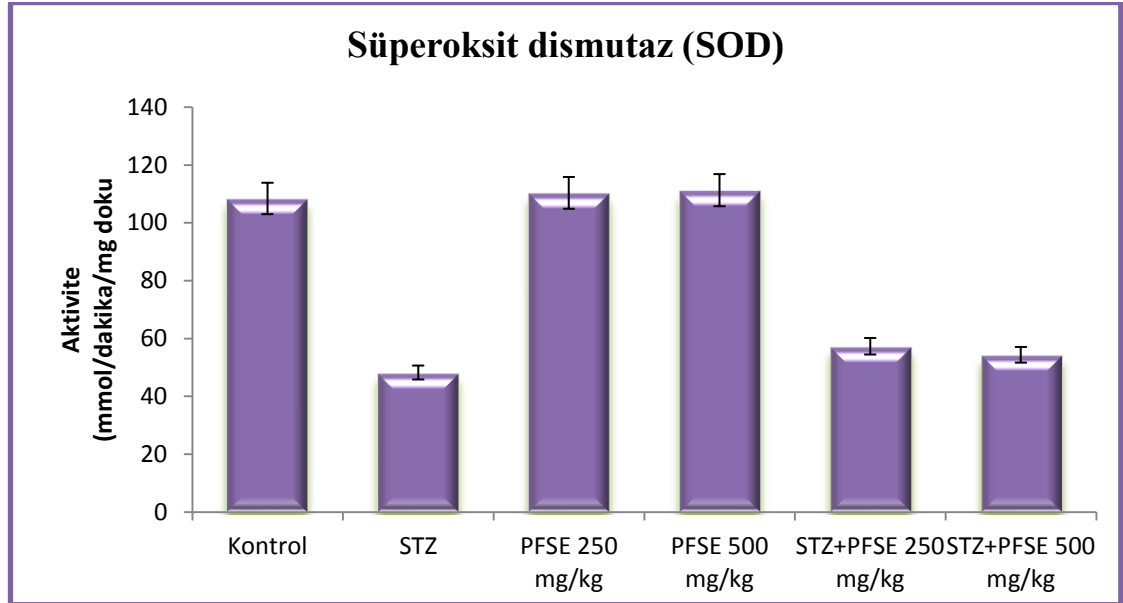


Şekil 4.7. CİSE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının GSH değerleri

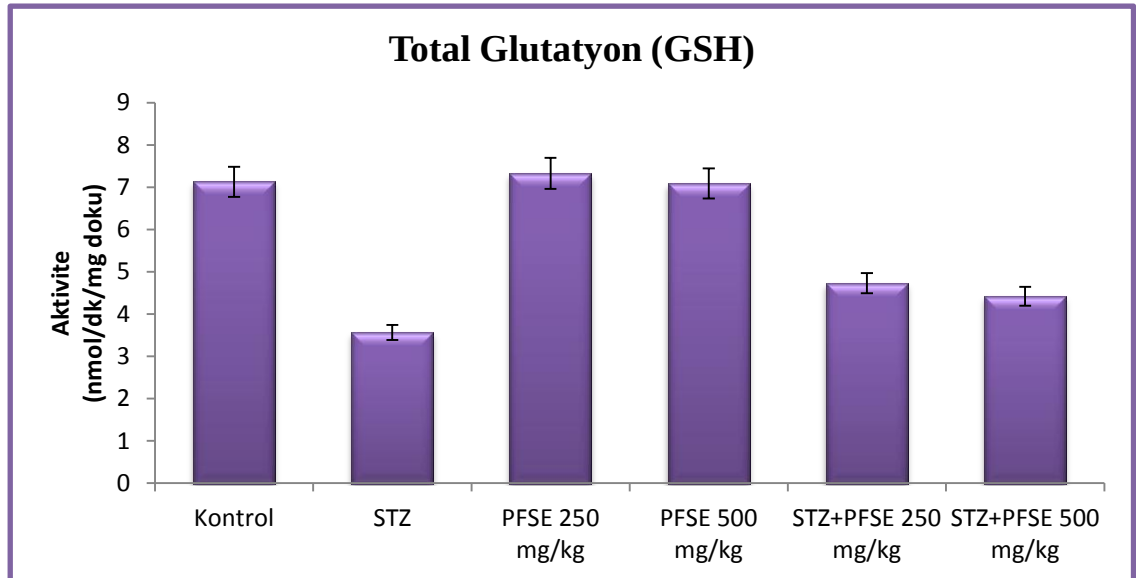


Şekil 4.8. CİSE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının MDA değerleri

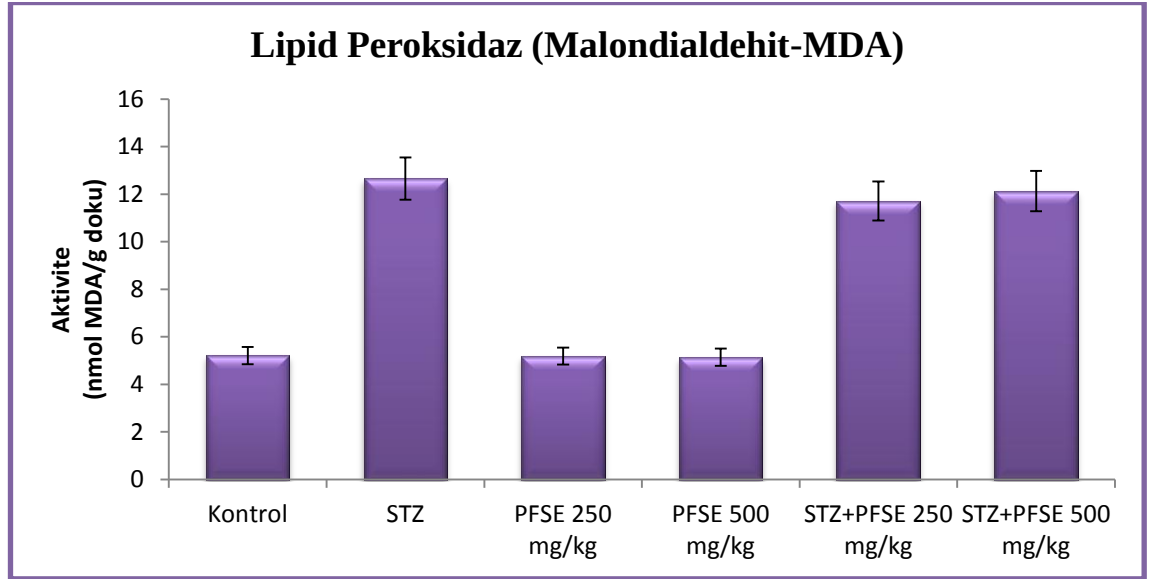
PFSE'nin çalışılan doz aralığında (5-500 mg/kg) incelenen biyokimyasal parametreler üzerinde doza bağlı etkilerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlendi bundan dolayı da likenle ilgili bulgular 250 ve 500 mg/kg doz aralığında sunuldu. 250 mg/kg PFSE'nin kontrollere ait böbrek dokusunda SOD aktivitesini ve GSH miktarını orta düzeyde artırdığı, MDA seviyesinde ise herhangi bir değişikliğe yol açmadığı tespit edildi. Diyabetli hayvanlar üzerinde de likenin orta düzeydeki antioksidan özelliğine rağmen koruyucu rolünün olmadığı ve diyabetle teşvik edilmiş oksidatif stresi önleyemediği görüldü. Benzer bulgular PFSE'nin 500 mg/kg dozunda da söz konusuydu (Çizelge 4.3, Şekil 4.9-11).



Şekil 4.9. PFSE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının SOD değerleri



Şekil 4.10. PFSE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının GSH değerleri

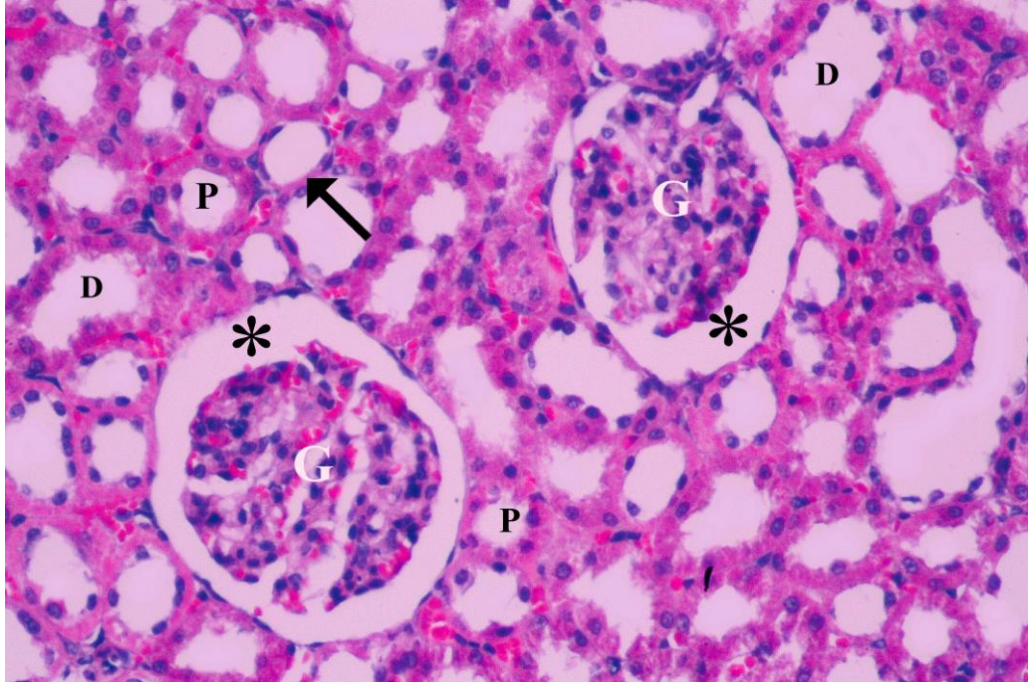


Şekil 4.11. PFSE uygulanmış gruplara ait kontrol ve diyabet gruplarının MDA değerleri

4.4. Histopatolojik Bulgular

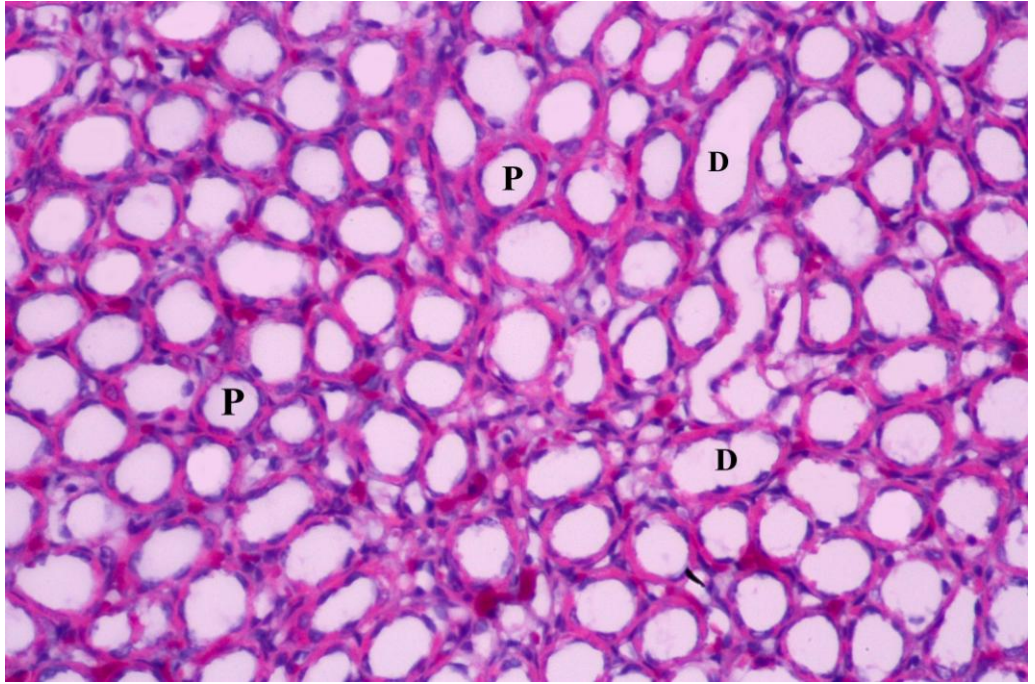
Diyabet oluşturulmuş sıçanlardan alınan böbreklerden, rutin doku takip aşamalarından sonra, 5 mikron kalınlığında kesitler alındı ve böbrek dokusunda patolojik değişiklikleri tespit edebilmek amacıyla da farklı boyama metotları kullanıldı.

Dokunun genel histolojik yapısını belirleyebilmek için H&E boyama metodu uygulandı ve yapılan incelemeler sonucunda kontrol grubuna ait sıçan böbreklerinde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 4.12 ve 4.13) ancak diyabetli hayvanların böbreklerinde kontrollerle karşılaştırıldığında belirgin histopatolojik bulgular tespit edildi. Bunlar sırasıyla glomerülusta mezenşimal matriks artışı, Bowman mesafesinde daralma, difüz glomerüloskleröz, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu, interstisyel fibrözis, tübüler dilatasyon ve tübüler atrofi, arterioskleröz, tübüllerde hipertrofi, tübül lümeninde protein birikimi ve nodüler glomerüloskleröz (Kimmelstiel-Wilson nodülü)'dür (Şekil 4.14-22).



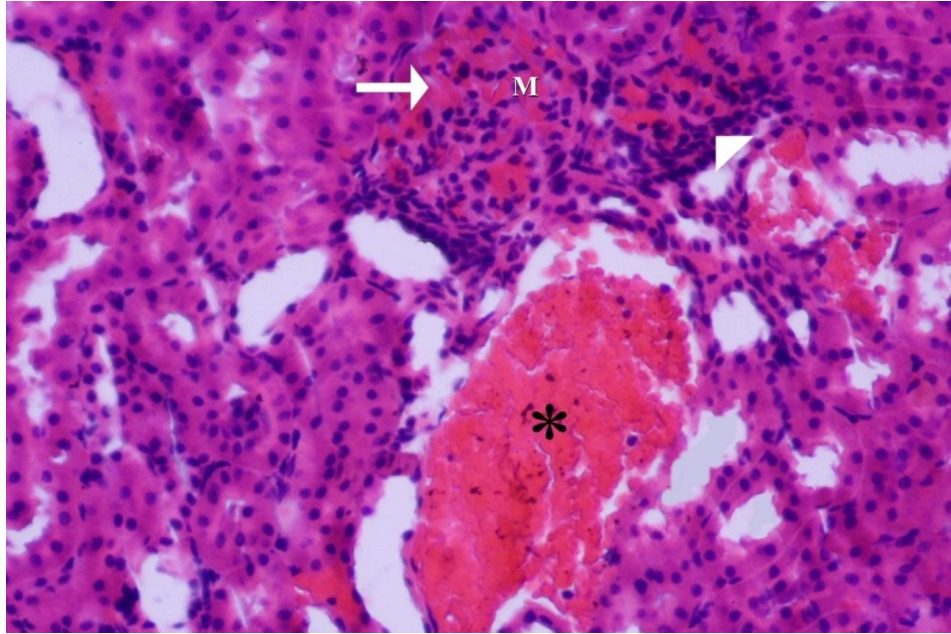
Şekil 4.12. Kontrol grubu normal böbrek histolojisi.

*G: Glomerulus, Asteriks: Bowman mesafesi, Ok: Arteriol, D: Distal tübül, P: Proksimal tübül (H&E x200).



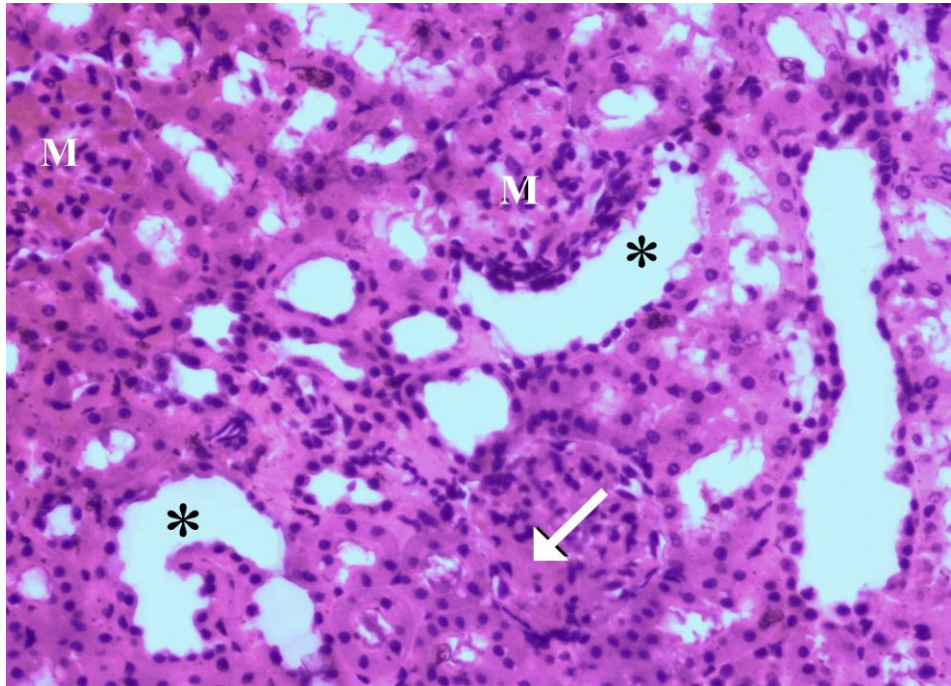
Şekil 4.13. Kontrol grubu böbrek medulla bölgesi normal yapıda proksimal tübül ve distal tübül görülmektedir.

*D: Distal tübül, P: Proksimal tübül (H&E x200).



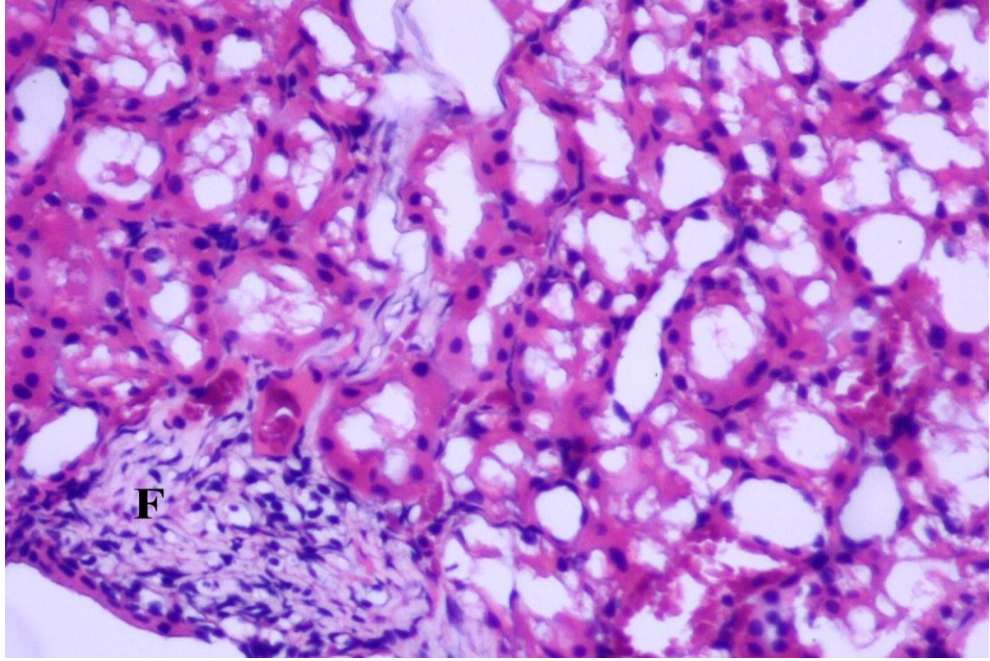
Şekil 4.14. STZ grubunda mezenşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, diffüz glomerüloskleröz, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu görülmektedir.

*M: Mezenşimal matriks, Beyaz ok: Diffüz glomerüloskleröz, Asteriks: Konjesyon, Okbaşı: Lenfosit infiltrasyonu (H&E x200).



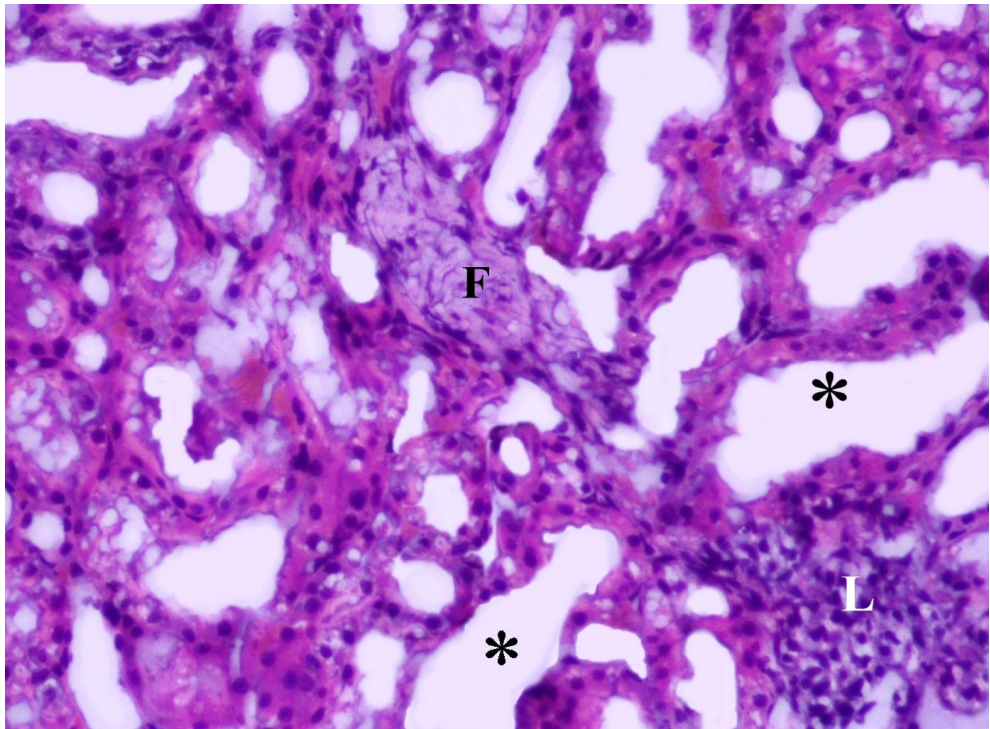
Şekil 4.15. STZ grubunda diffüz glomerüloskleröz, mezenşimal matriks artışı ve ayırt edilemeyen Bowman mesafesi görülmektedir. Ayrıca tübüler dilatasyonlarda devam etmektedir.

*Ok: Diffüz glomerüloskleröz, M: Mezenşimal matriks artışı, Asteriks: Dilatasyon (H&E x200).



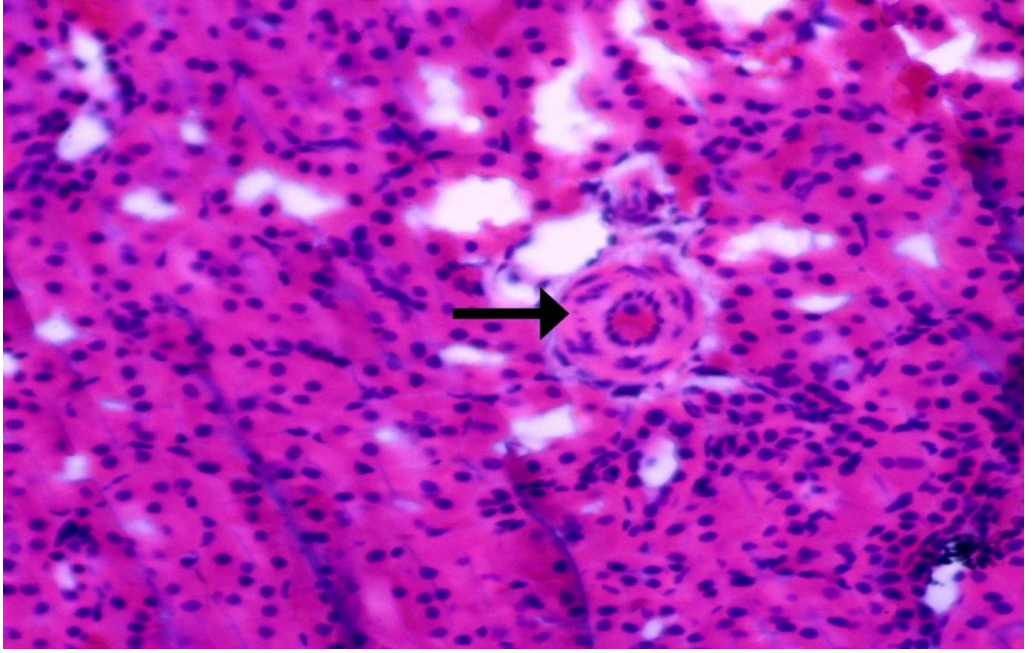
Şekil 4.16. STZ grubu böbrek dokusunda interstisyel fibrözis ve tübüler atrofi görülmektedir.

*F: Fibrözis (H&E x200).

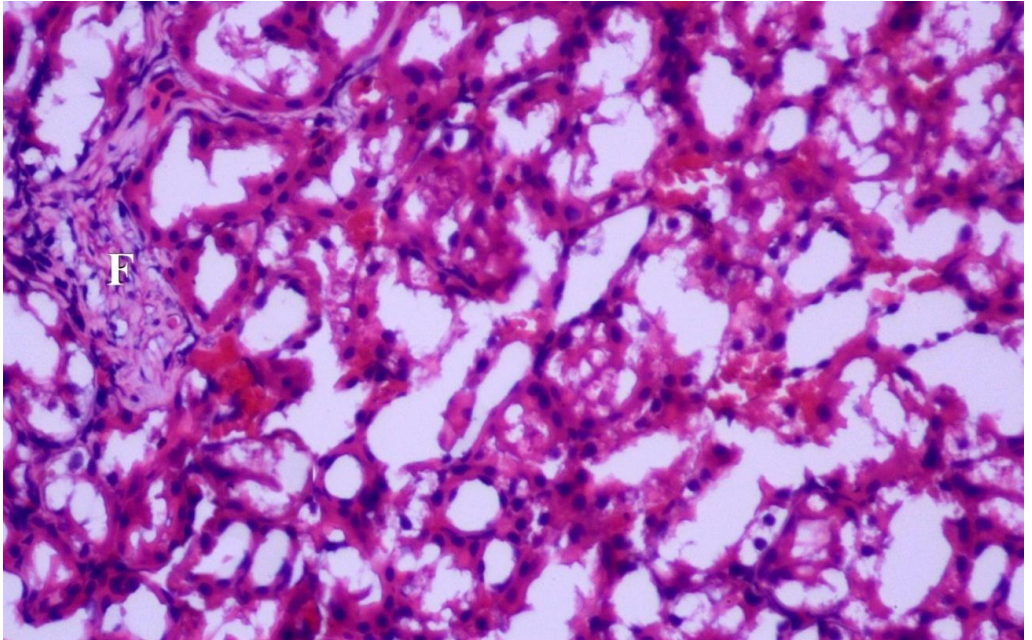


Şekil 4.17. STZ grubunda kontrollerle karşılaştırıldığında interstisyel fibrözis, lenfosit infiltrasyonu, tübüler dilatasyon ve tübüler atrofi belirgin bir şekilde görülmektedir.

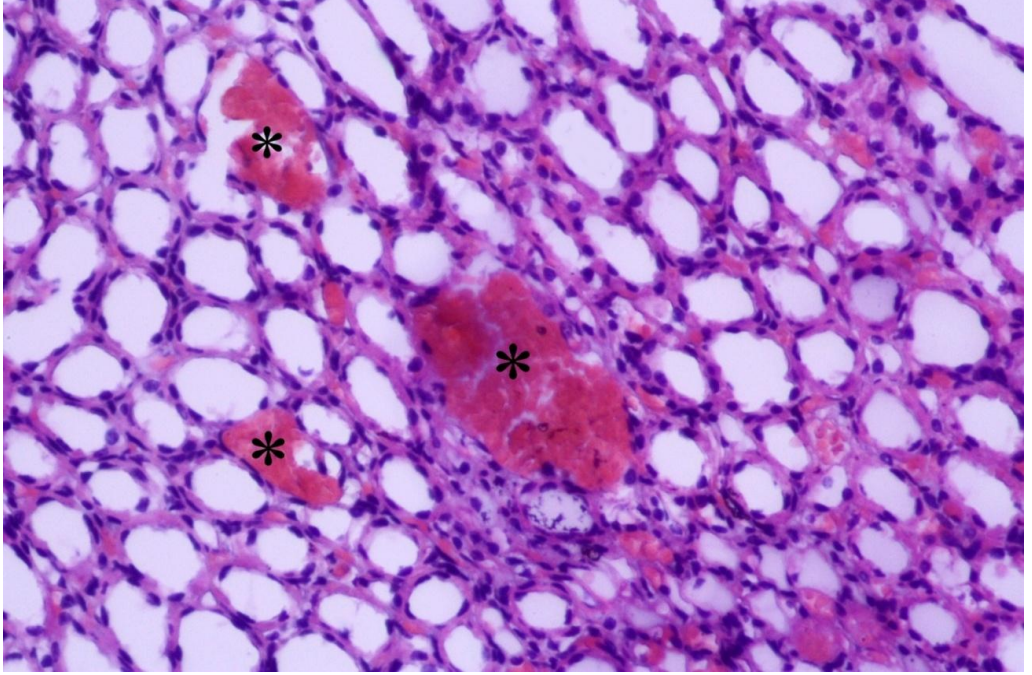
*Asteriks: Tübüler dilatasyon, L: Lenfosit infiltrasyonu, F: Fibrözis (H&E x200).



Şekil 4.18. STZ grubunda arterioskleröz ve tübüllerde hipertrofi görülmektedir.
*Ok: Arterioskleröz (H&E x200).

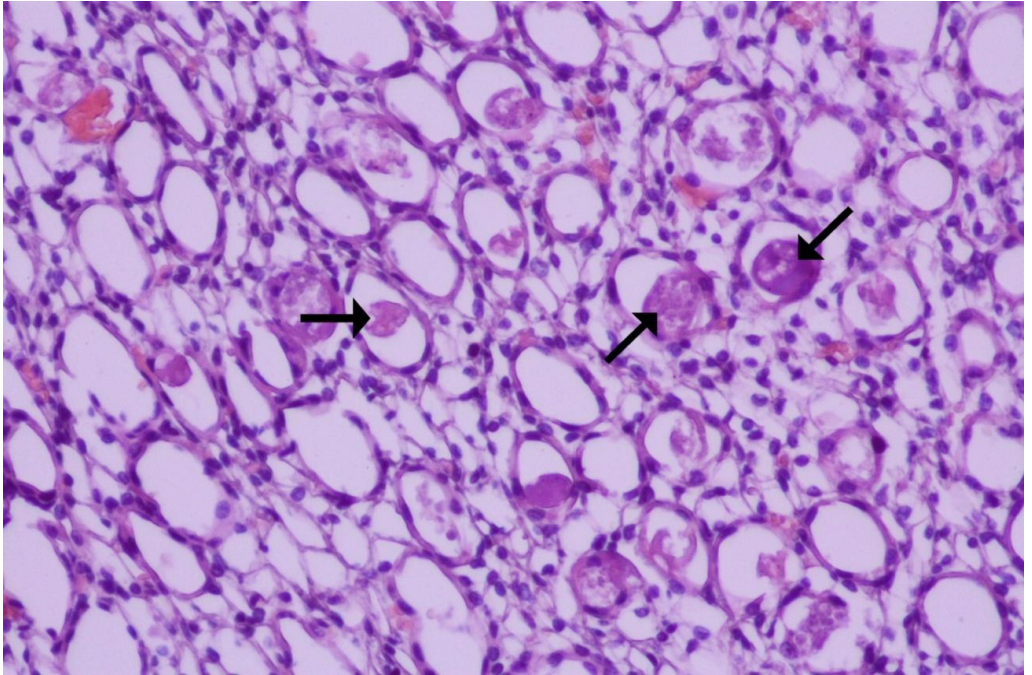


Şekil 4.19. STZ grubunda interstisyel bağdoku artışı ve interstisyel fibrözis'in yanı sıra çok belirgin olarak tübüler atrofi görülmektedir.
*F: Fibrözis (H&E x200).



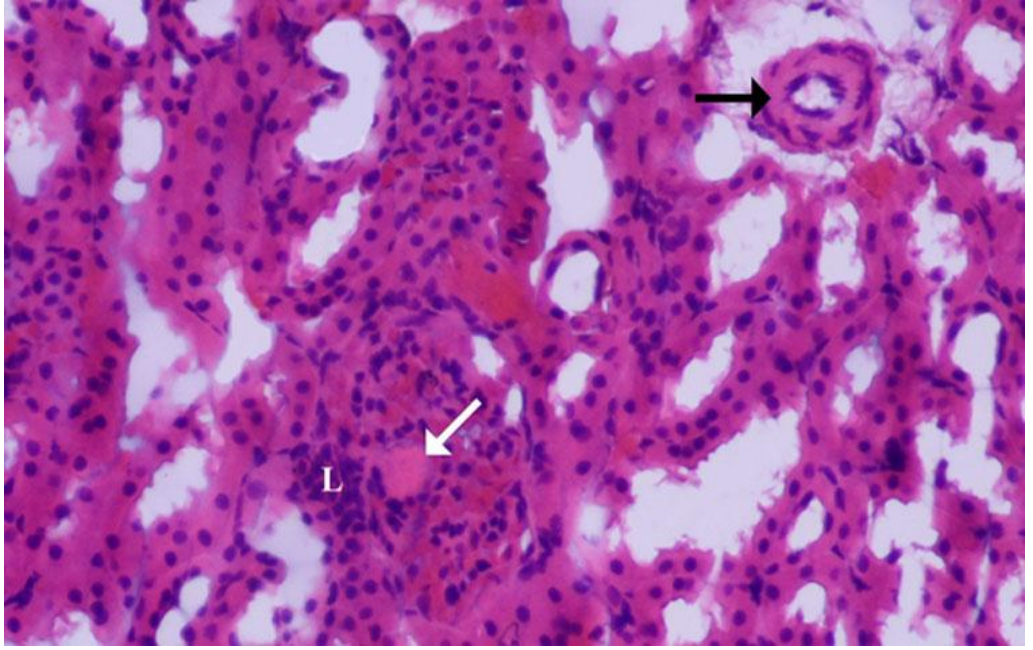
Şekil 4.20. STZ grubuna ait böbrek dokusunun medulla bölgesinde belirgin bir konjesyon görülmektedir.

*Asteriks: Konjesyon (H&E x200).



Şekil 4.21. STZ grubu böbrek medulla bölgesinde kontrolle karşılaştırıldığında tübül lümeninde protein birikimi görülmektedir.

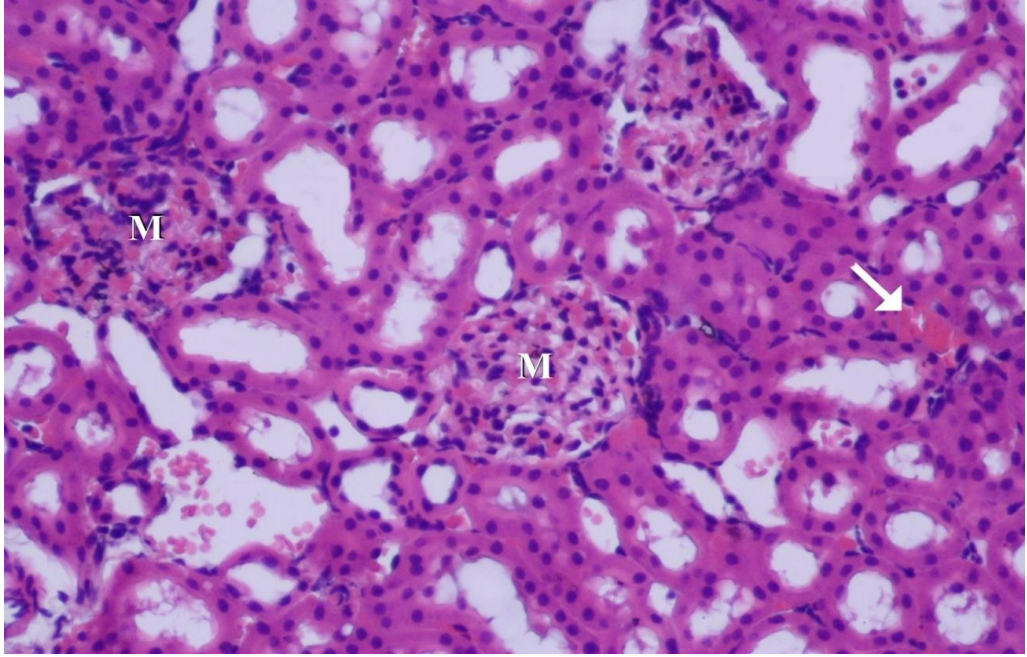
*Oklar: Protein (H&E x200).



Şekil 4.22. STZ grubu böbrek dokusunda glomerülusta mezenşimal matriks artışı ve Bowman mesafesinde daralma devam etmektedir. Ayrıca glomerülusta nodüler glomerüloskleröz (Kimmelstiel-Wilson nodülü) ve çapı artmış arteriolde skleröz görülmektedir.

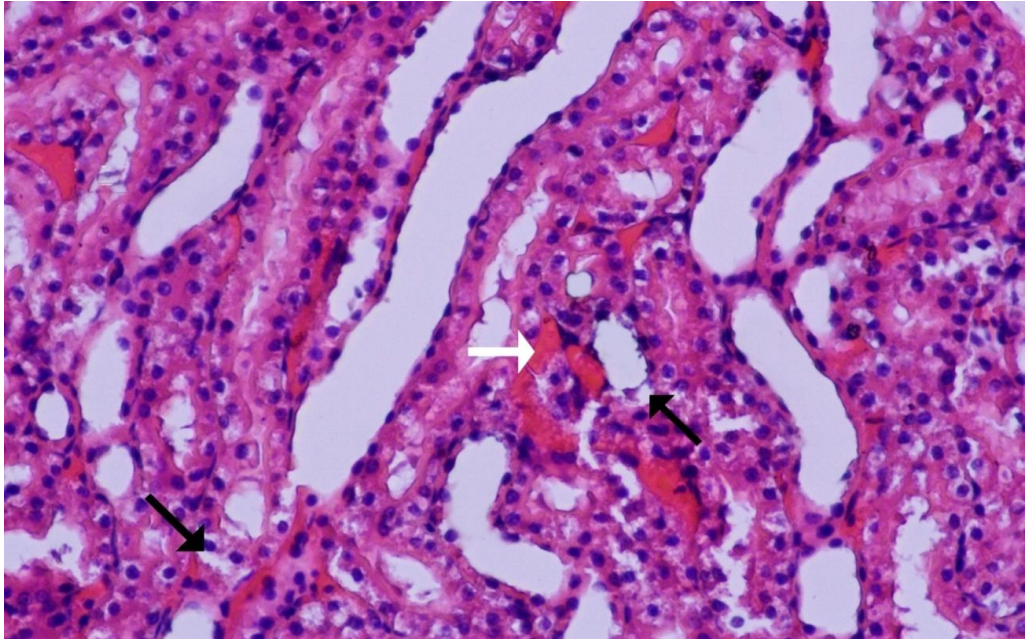
*Beyaz ok: Nodüler glomerüloskleröz, Siyah ok: Arterioskleröz, L: Lenfosit infiltrasyonu (H&E x200).

Kontrollerle karşılaştırıldığında 250 ve 500 mg/kg CISE, kontrol böbrek dokusu üzerinde herhangi bir patolojik etkiye sahip değildi. Dokuya 250 mg/kg CISE uygulandığında ise diyabette gözlenen patolojik bulgular likenin yüksek antioksidan özelliğine bağlı olarak azaltıldı. Ancak bu olumlu etki çok zayıf bir şekilde gerçekleşti. Nitekim, böbreğin korteks ve medulla bölümleri diyabet grubuyla karşılaştırıldığında glukojenik vakuolizasyonun, konjesyonun ve lenfosit infiltrasyonunun azaldığı, fakat glomerülustaki mezenşimal matriks artışının, Bowman mesafesindeki daralmanın, bazı tübüllerde dilatasyonun ve atrofinin devam ettiği gözlemlendi. Ayrıca seyrekte olsa arterioskleröze rastlandı. (Şekil 4.23-26). Benzer bulgular CISE'nin 500 mg/kg dozunda da söz konusuydu.



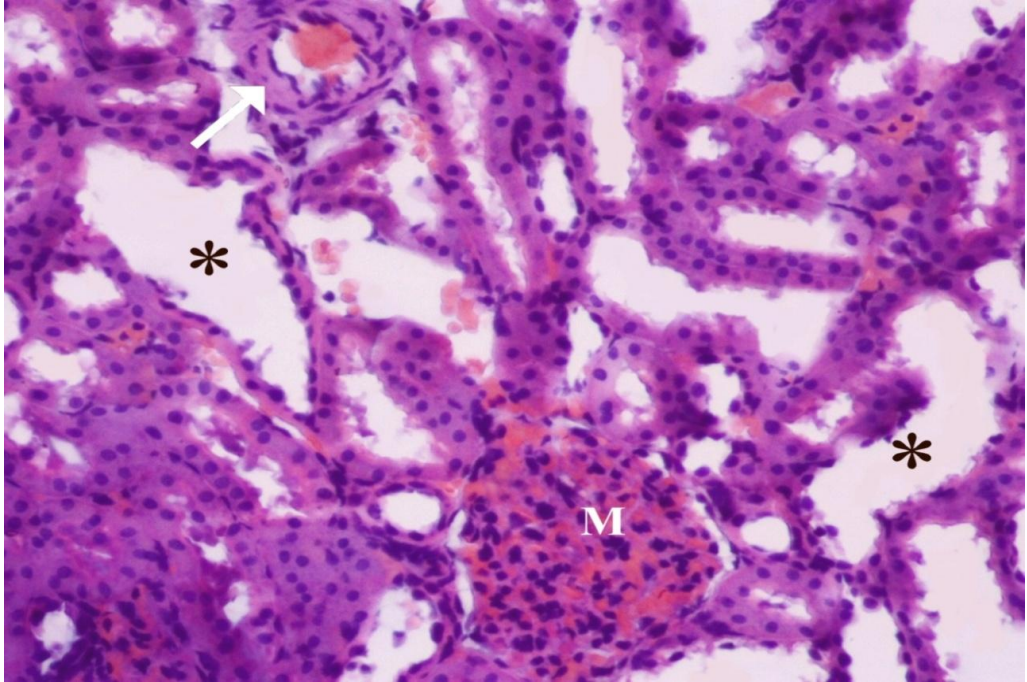
Şekil 4.23. STZ+250 mg/kg CISE grubunda diyabet grubunda olduğu gibi glomerülusta mezenşimal matris artışı ve Bowman mesafesinde daralma görülmektedir. Diyabet grubuna kıyasla azalan konjesyon dikkat çekmektedir.

*M: Matris artışı, Ok: Konjesyon (H&E x200).

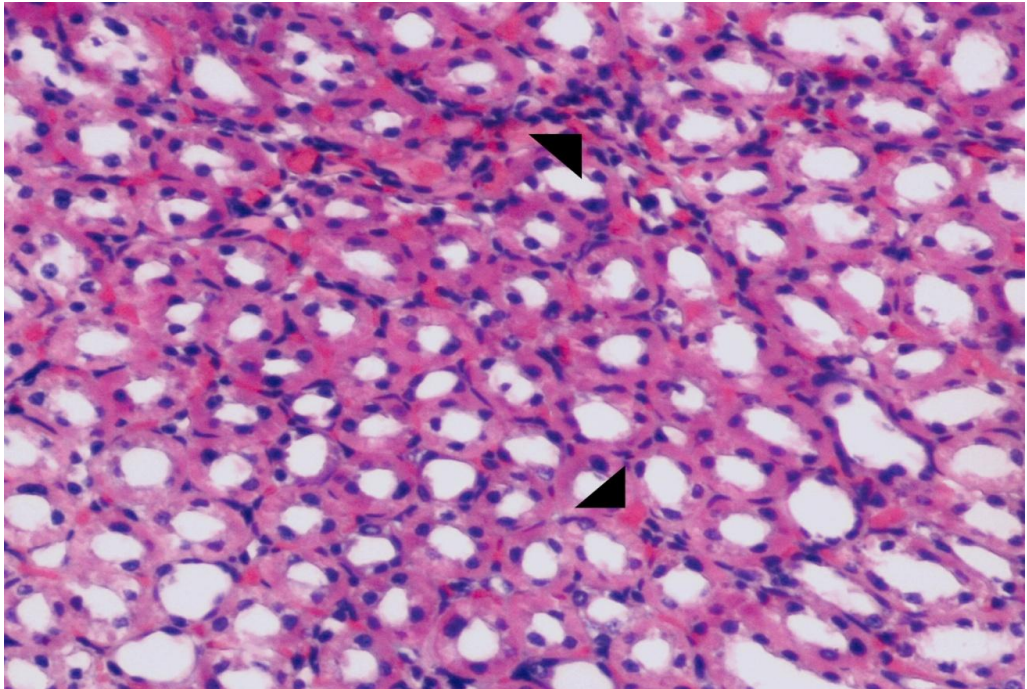


Şekil 4.24. STZ+250 mg/kg CISE grubunda diyabet grubuna kıyasla azalan glukojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görümlü tübüller ve konjesyon dikkat çekmektedir.

*Siyah oklar: Glukojenik vakuolizasyon, Beyaz ok: Konjesyon (H&E x200)

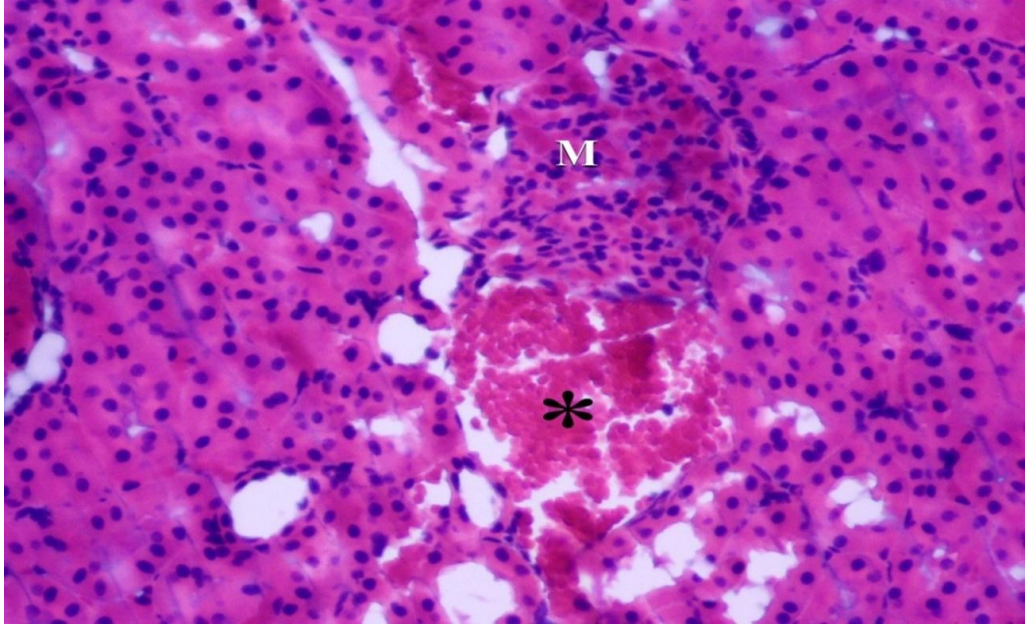


Şekil 4.25. STZ+250 mg/mkg CISE grubuna ait böbrek dokusunda glomerülusta mezenşimal matriks artışı ve ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, arterioskleröz ve dilatasyonlar görülmektedir. Ancak diyabet grubuna kıyasla konjesyonun azaldığı gözlenmektedir.
M: Mezenşimal matriks artışı, Ok: Arterioskleröz, Asteriks: Dilatasyon (H&E x200).

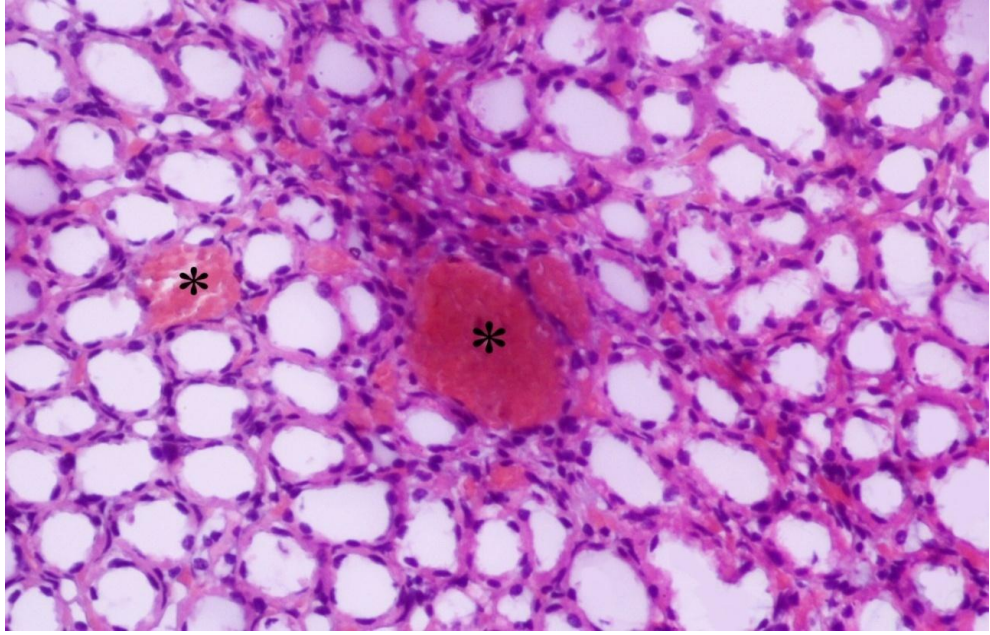


Şekil 4.26. STZ+250 mg/kg CISE grubuna ait böbrek medulla bölgesinde diyabet grubuna kıyasla azalan lenfosit infiltrasyonu görülmektedir.
Okbaşı: Lenfosit infiltrasyonu (H&E x200).

250 ve 500 mg/kg PFSE kontrollere ait böbrek dokusu üzerinde herhangi bir patolojik etkiye sahip değildi. Orta düzeydeki antioksidan özelliğine rağmen liken her iki dozda da diyabetli hayvanların böbrekleri üzerinde olumsuz bir etki göstermedi. Nitekim, tedavi amacıyla PFSE'nin uygulandığı gruplarda, diyabet gruplarında olduğu gibi glomerülusta mezenşimal matriks artışı, Bowman mesafesinde daralmanın (Şekil 4.27), glikojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübüllerin (Şekil 4.30), nodüler glomerüloskleröz (Kimmelstiel-Wilson nodülü)'ün (Şekil 4.29) ve interstisyel fibrözis'in (Şekil 4.30) devam ettiği ancak çok belirgin olmamakla birlikte konjesyon (Şekil 4.28 ve 4.29) ve tübüler dilatasyonun (Şekil 4.29) azaldığı gözlemlendi.

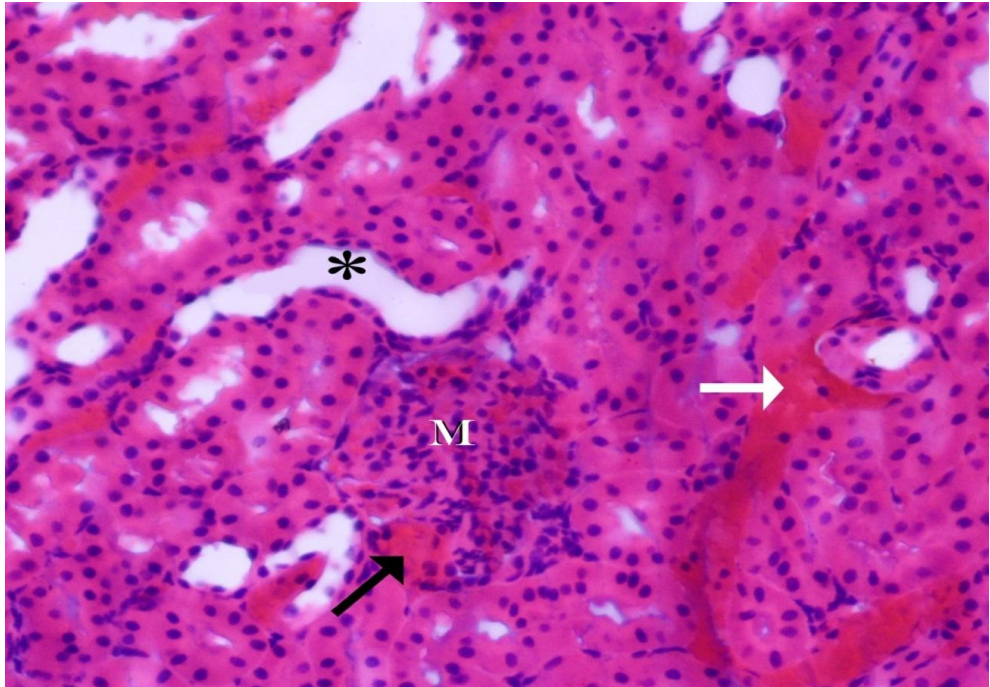


Şekil 4.27. STZ+250 mg/kg PFSE grubuna ait böbrek dokusunda kontrol grubuna kıyasla mezenşimal matriks artışı ve ayırt edilemeyen Bowman mesafesi görülmektedir.
 *M: Mezenşimal matriks artışı, Asteriks: Konjesyon (H&E x200).



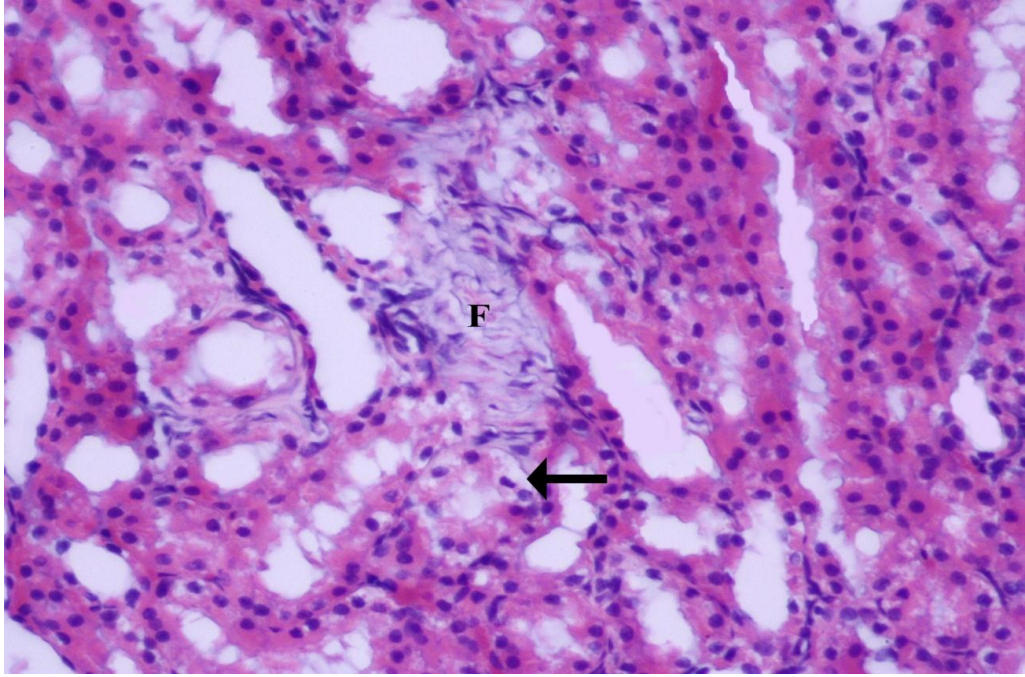
Şekil 4.28. STZ+250 mg/kg PFSE grubunun medulla bölgesinde diyabet grubuna kıyasla azalan konjesyon görülmektedir.

*Asteriks: Konjesyon (H&E x200).



Şekil 4.29. STZ+250 mg/kg PFSE grubunda kontrolle karşılaştırıldığında glomerülusta mezenşimal matriks artışı ve ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, glomerülusta nodüler glomerüloskleröz (Kimmelstiel-Wilson nodülü) görülmektedir. Ayrıca diyabet grubuna kıyasla azalan konjesyon ve tübüler dilatasyon da gözlenmektedir.

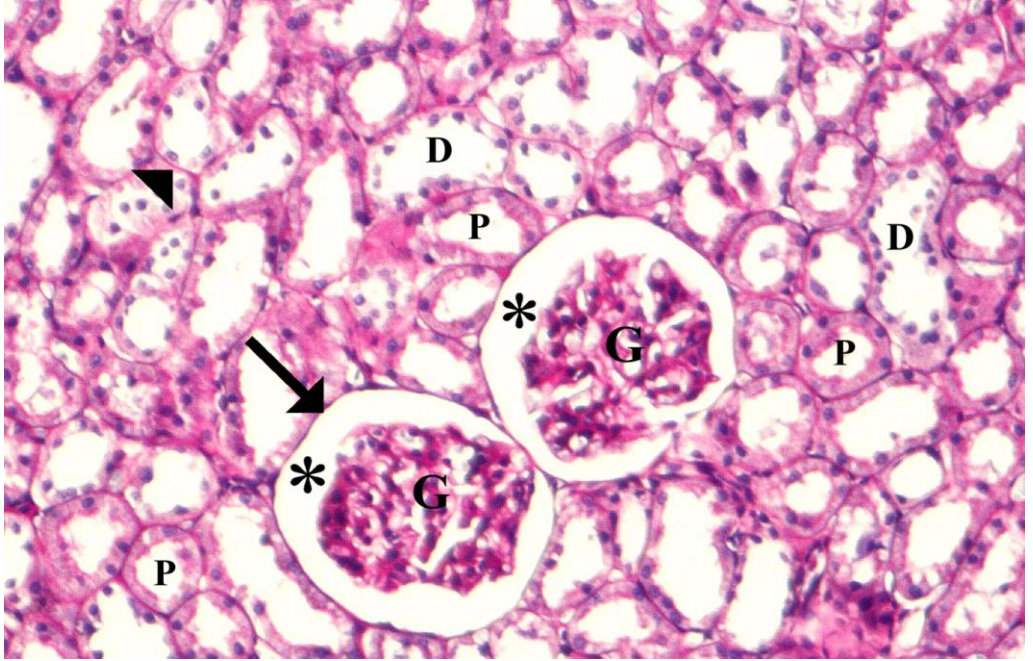
*M: Mezenşimal matriks, Asteriks: Tübüler dilatasyon, Siyah ok: Nodüler glomerüloskleröz, Beyaz ok: Konjesyon (H&E x200).



Şekil 4.30. STZ+250 mg/kg PFSE grubunda kontrolle karşılaştırıldığında interstisyel fibrözis, glikojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübül (Armani-Ebstein lezyonları) ve tübüler dejenerasyon görülmektedir.

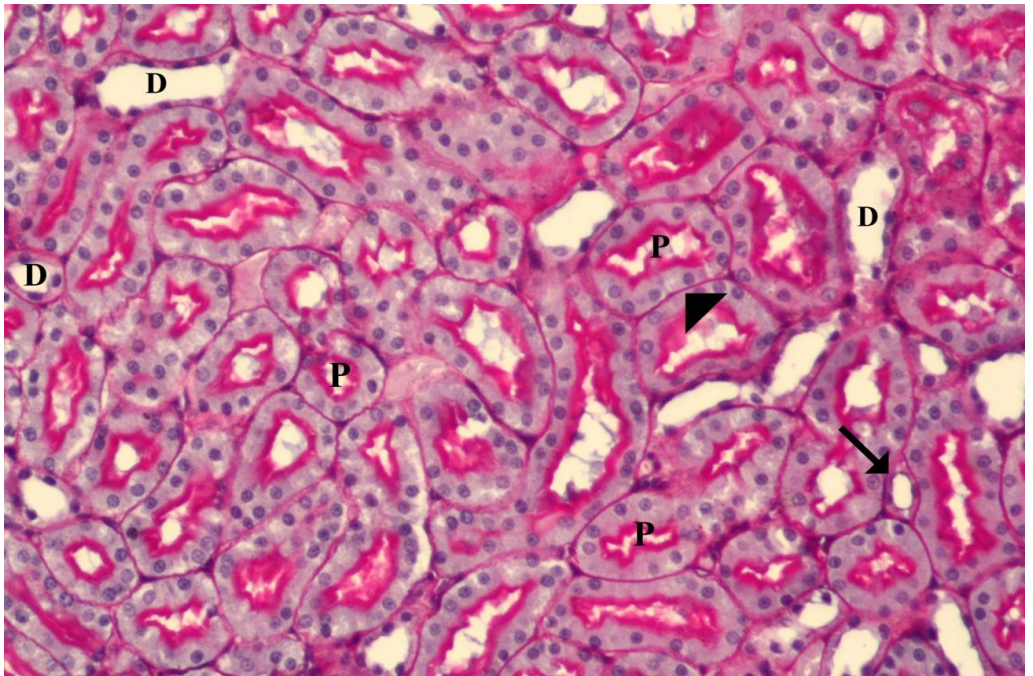
*Ok: Glikojenik vakuolizasyon, F: Fibrözis (H&E x200).

Böbrek tübül hücrelerindeki glikojen içeriğini, glomerulus ve tübül bazal membranını belirleyebilmek amacıyla PAS boyama metodu kullanıldı. Bu metotla kontrol grubuna ait böbrek kesitlerinin glikojen içeriklerine bağlı olarak homojen ve koyu boyanma görülürken (Şekil 4.31 ve 4.32), diyabet grubundaki böbrek tübül hücrelerinde glikojen içeriklerinin azalmasına bağlı olarak daha açık boyandığı (Şekil 4.33 ve 4.37) ve ayrıca kontrol gruplarında normal görünümde olan tübül bazal membranının ve glomerulus parietal yaprağının (Şekil 4.31 ve 4.32) diyabet gruplarında kalınlaştığı görüldü (Şekil 4.33, 4.36, 4.39, 4.42 ve 4.43). Bu bulguların yanı sıra H&E metodunda olduğu gibi diyabet grubunda, glomerulusta mezenşimal matriks artışı (Şekil 4.34, 4.36, 4.39 ve 4.43), konjesyon (Şekil 4.37, 4.40 ve 4.43), interstisyel fibrözis (Şekil 4.33, 4.34 ve 4.35), arterioskleroz (Şekil 4.36, 4.42 ve 4.43), tübül lümeninde protein birikimi (Şekil 4.38 ve 4.41), lenfosit infiltrasyonu (Şekil 4.41 ve 4.42), tübül bazal membran kalınlaşması (Şekil 4.38 ve 4.43) tübüler dilatasyon ve atrofi (Şekil 4.36, 4.40 ve 4.42) bazı tübüllerde hipertrofi (Şekil 4.41) bulgularına rastlandı.



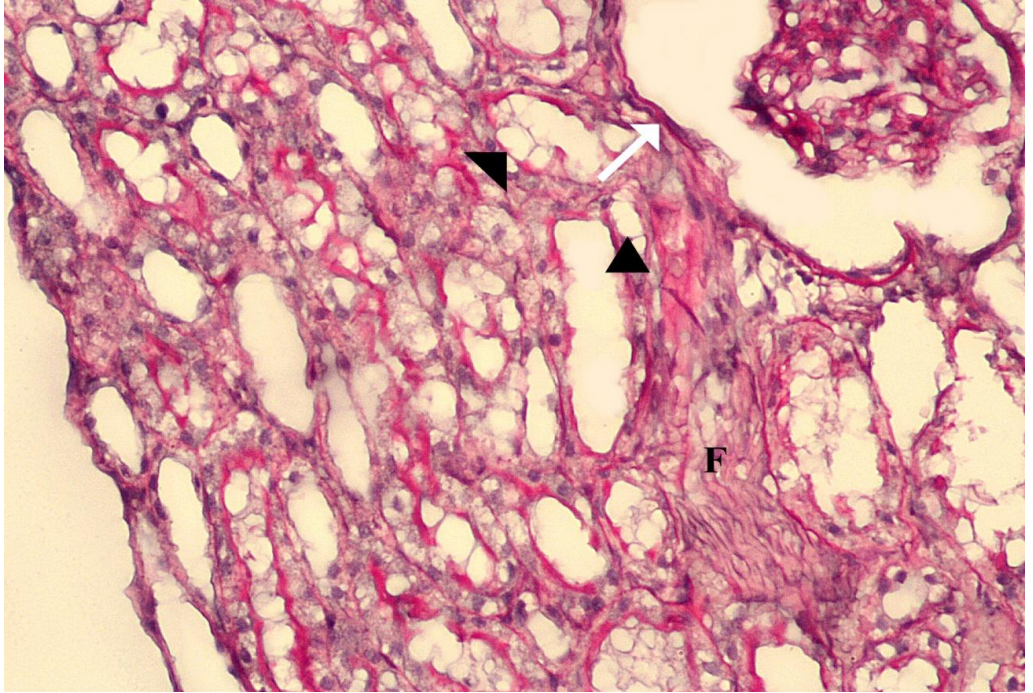
Şekil 4.31. Kontrol grubu normal böbrek histolojisi.

*G: Glomerulus, P: Proksimal tübül, D: Distal tübül, Ok: Bowman kapsülünün parietal yaprağı, Okbaşı: Tübul bazal membranı, Asteriks: Bowman mesafesi (PAS x200).

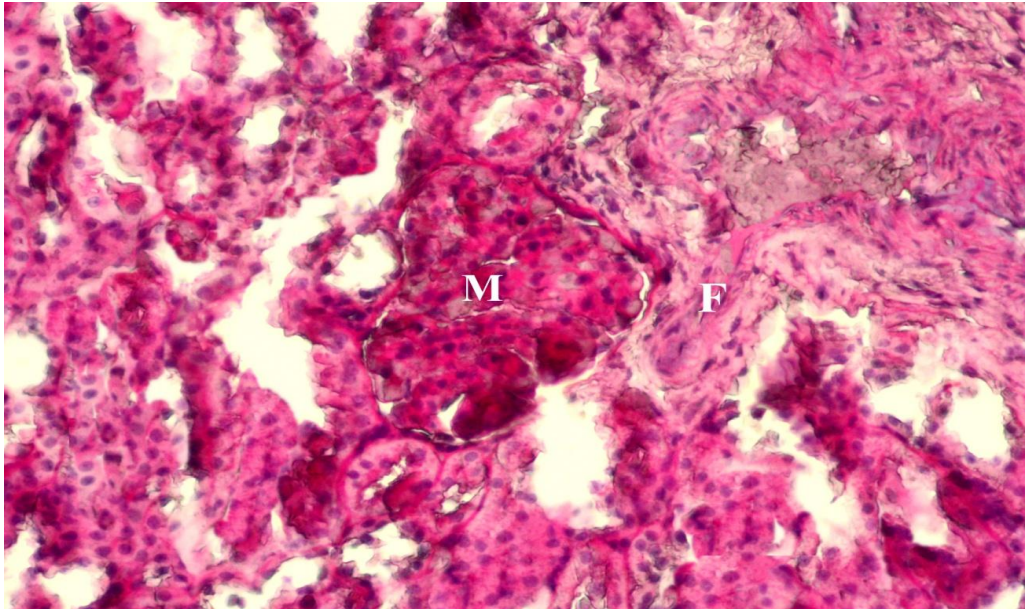


Şekil 4.32. Kontrol grubunda böbrek medulla bölgesi normal yapıda proksimal ve distal tübüller, arteriolar, tübül epiteli fırçasmsı kenarları ve tübül bazal membranı görülmektedir.

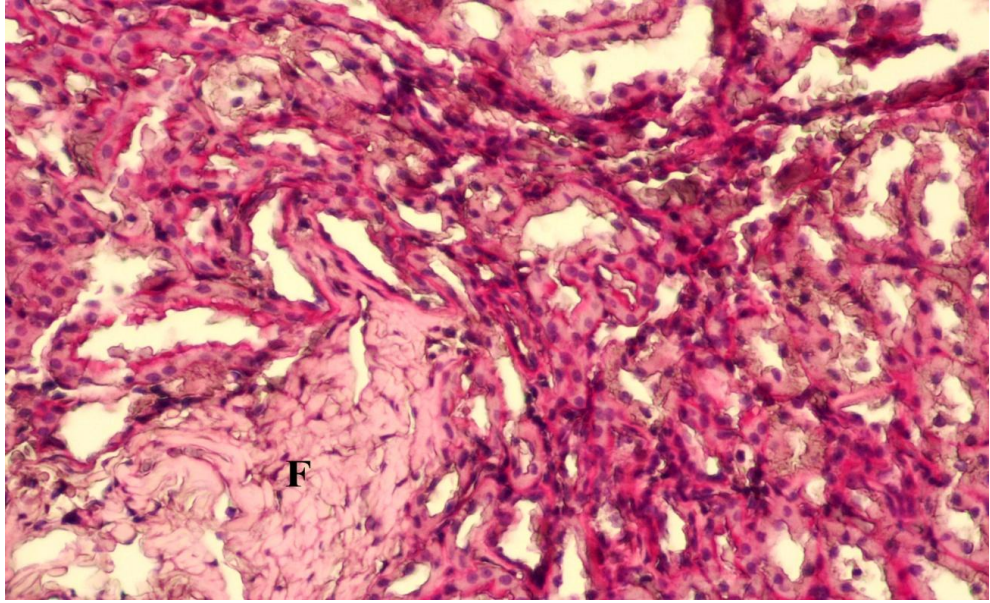
*P: Proksimal tübül, D: Distal tübül, Siyah ok: Arteriolar, Okbaşı: Tübul bazal membranı (PAS x200).



Şekil 4.33. STZ grubunda kontrolle kıyaslandığında interstisyel bağdoku artışı ve interstisyel fibrözis, tübül epitelinde ödem ve Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması görülmektedir.
*F: Fibrözis Okbaşı: Glikojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübül (Armani-Ebstein lezyonları), Beyaz ok: Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması (PAS x200).

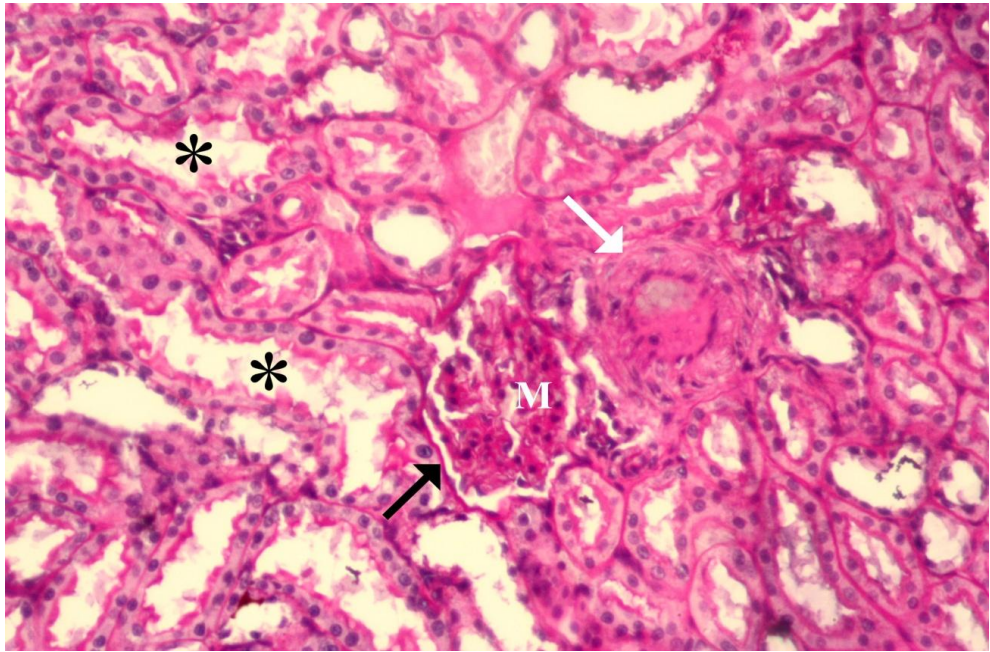


Şekil 4.34. STZ grubunda glomerülusta mezenşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi ve interstisyel fibrözis belirgin bir şekilde görülmektedir.
*F: Fibrözis, M: Mezenşimal matriks artışı (PAS x200).



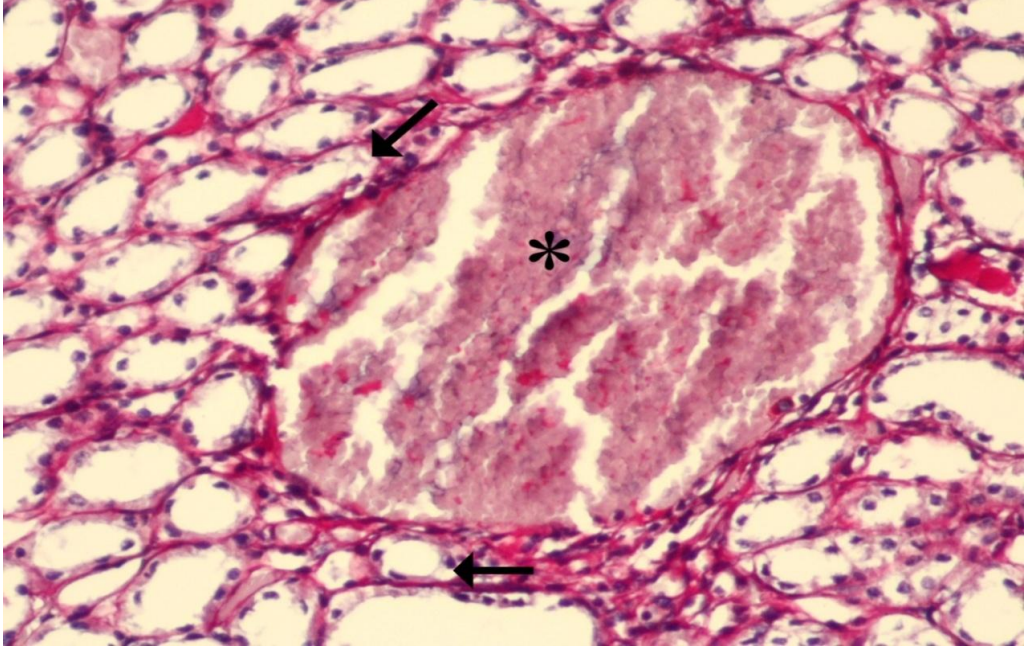
Şekil 4.35. STZ grubunda interstisyel fibrözis'in belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir.

F: Fibrözis (PAS x200).

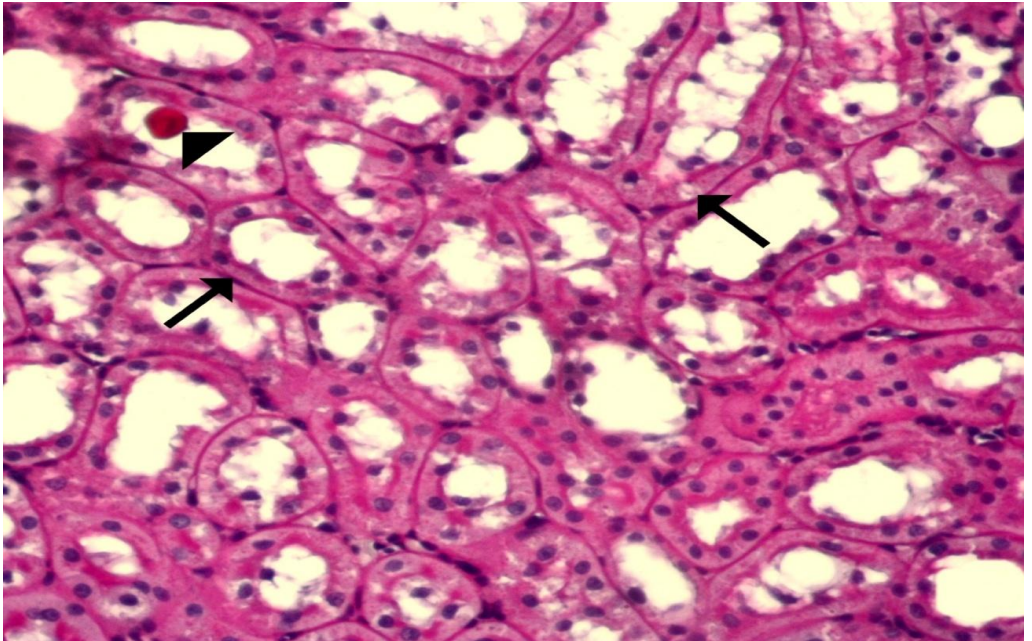


Şekil 4.36. STZ grubunda glomerülusta mezenşimal matriks artışı, çapı artmış damarda skleröz, Bowman kapsülünün parietal yaprağında kalınlaşma, tübüllerde dilatasyon görülmektedir. Ayrıca tübüllerde ve Bowman kapsülünde dejenerasyonun arttığı gözlenmektedir.

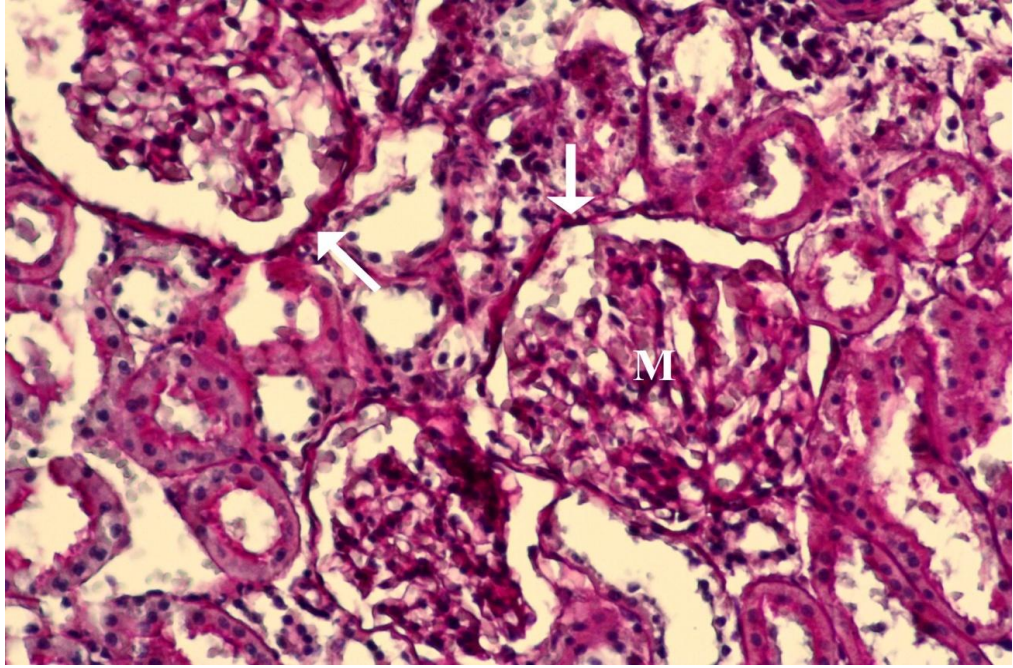
*M: Mezenşimal matriks artışı, Asteriks: Tübüllerde dilatasyon, Beyaz ok: Skleröz, Siyah ok: Bowman kapsülünün parietal yaprağında kalınlaşma (PAS x200).



Şekil 4.37. STZ grubu böbrek medulla kısmında çok belirgin bir konjesyon ve ayrıca glikojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görümlü tübül (Armani-Ebstein lezyonları) görülmektedir. *Asteriks: Konjesyon, Ok: Glikojen birikimi (PAS x200).

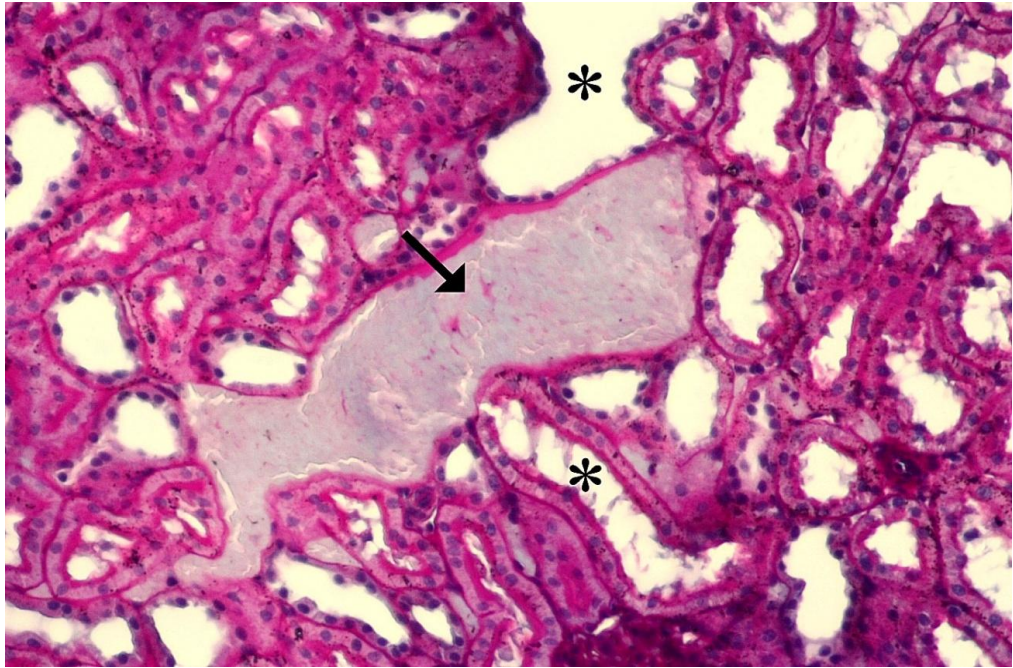


Şekil 4.34. STZ grubu böbrek medulla kısmında tübül lümeninde protein birikimi ve tübül bazal membran kalınlaşması görülmektedir. *Okbaşı: Protein, Oklar: Kalınlaşmış tübül bazal membranı (PAS x200).



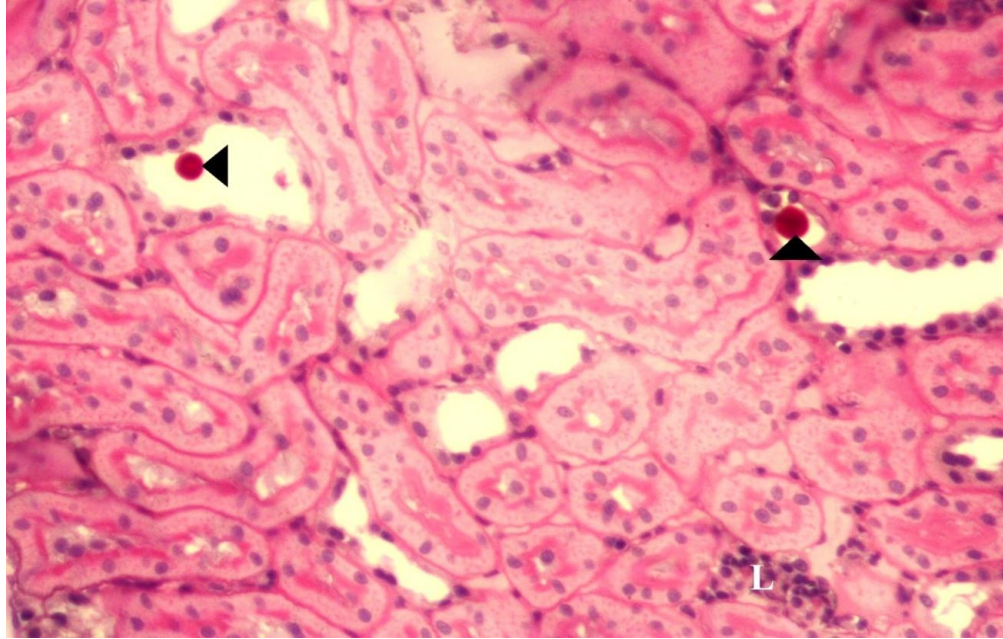
Şekil 4.35. STZ grubunda glomerülüslerde mezenşimal matriks artışı, Bowman kapsülü parietal yaprağında kalınlaşmanın arttığı ve tübüler atrofi görülmektedir.

*Oklar: Kalınlaşmış Bowman kapsülü parietal yaprağı, M: Mezenşimal matriks artışı (PAS x200).



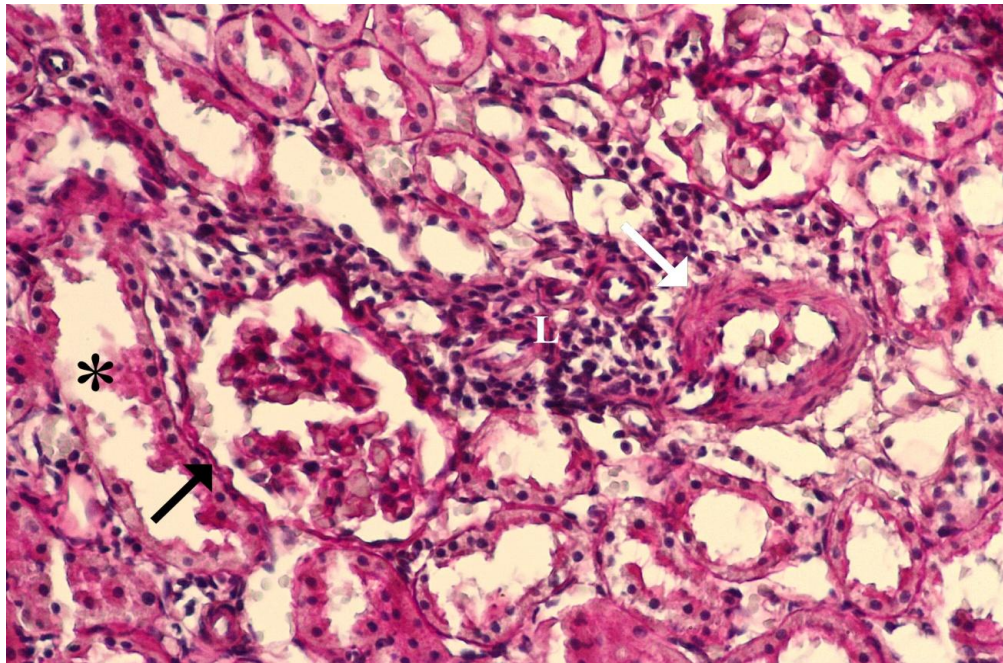
Şekil 4.40. STZ grubunun böbrek medulla bölgesinde kontrole kıyasla tübül lümeninde belirgin bir hiyalinleşmiş atık birikimi görülmektedir ve ayrıca tübüler dilatasyonlar dikkat çekmektedir.

*Ok: Hiyalin atık, Asteriks: Tübüler dilatasyon (PAS x200).



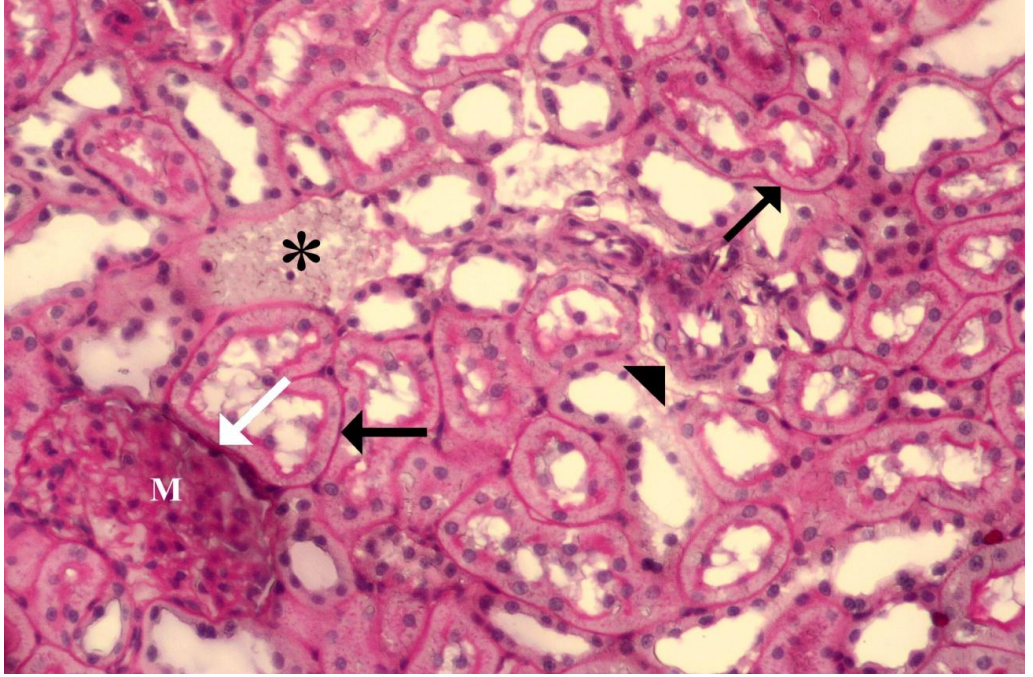
Şekil 4.41. STZ grubuna ait böbrek medulla bölgesinde tübül lümeninde protein birikimi, lenfosit infiltrasyonu ve tübüllerde hipertrofi görülmektedir.

*L: lenfosit infiltrasyonu, Okbaşı: Protein (PAS x200).



Şekil 4.42. STZ grubunda çapı artmış damarda skleröz, lenfosit infiltrasyonu, Bowman kapsülünün parietal yaprağında kalınlaşma ve tübüler dilatasyon ve atrofi görülmektedir. Ayrıca tübüllerde ve Bowman kapsülünde dejenerasyonun arttığı gözlenmektedir.

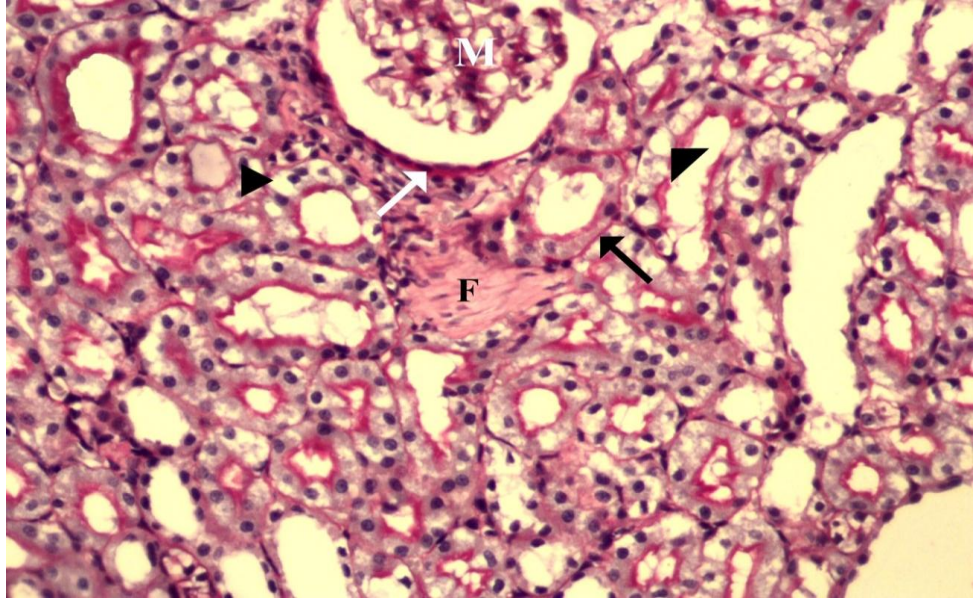
*Asteriks: Lenfosit infiltrasyonu, Siyah ok: Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması, Beyaz ok: Skleröz (PAS x200).



Şekil 4.43. STZ grubuna ait böbrek dokusunda glomerülusta mezenşimal matriks artışı ve ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, Bowman kapsülü parietal yaprağında kalınlaşma, tübül bazal membranında kalınlaşma, konjesyon ve arterioskleröz görülmektedir.

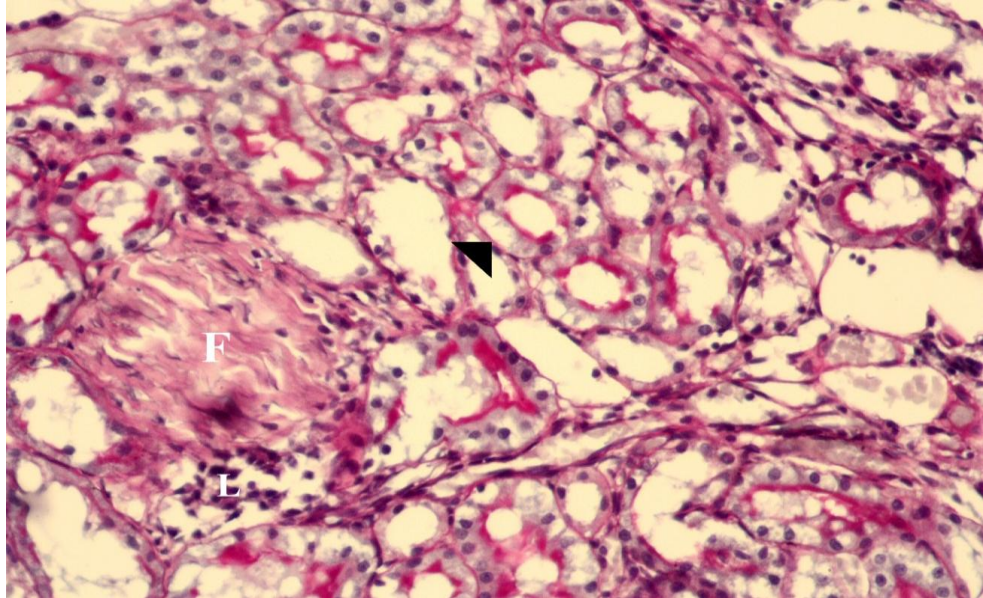
*M: Mezenşimal matriks artışı, Okbaşı: Arterioskleröz, Asteriks: Konjesyon, Beyaz ok: Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması, Siyah ok: Tübül bazal membran kalınlaşması (PAS x200).

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 250 ve 500 mg/kg CISE uygulanan grupların böbrek dokusunda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Diyabetli hayvanlara 250 mg/kg CISE uygulandığında ise diyabet grubunda olduğu gibi mezenşimal matriks genişlemesi, Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması, tübül bazal membranı kalınlaşması, interstisyel fibrözis, tübüllerde glikojen birikimi, lenfosit infiltrasyonu, tübüler dilatasyon, Bowman kapsülünde dejenerasyon bulgularına rastlandı. Ancak bu grupta azda olsaglomerulus mezenşimal matrikste, interstisyel fibröziste, tübüler dilatasyon ve atrofide, glikojenik vakuolizasyonda azalmalar gözlendi (Şekil 4.44-48). Benzer bulgular CISE'nin artan dozunda (500 mg/kg) da söz konusuydu.



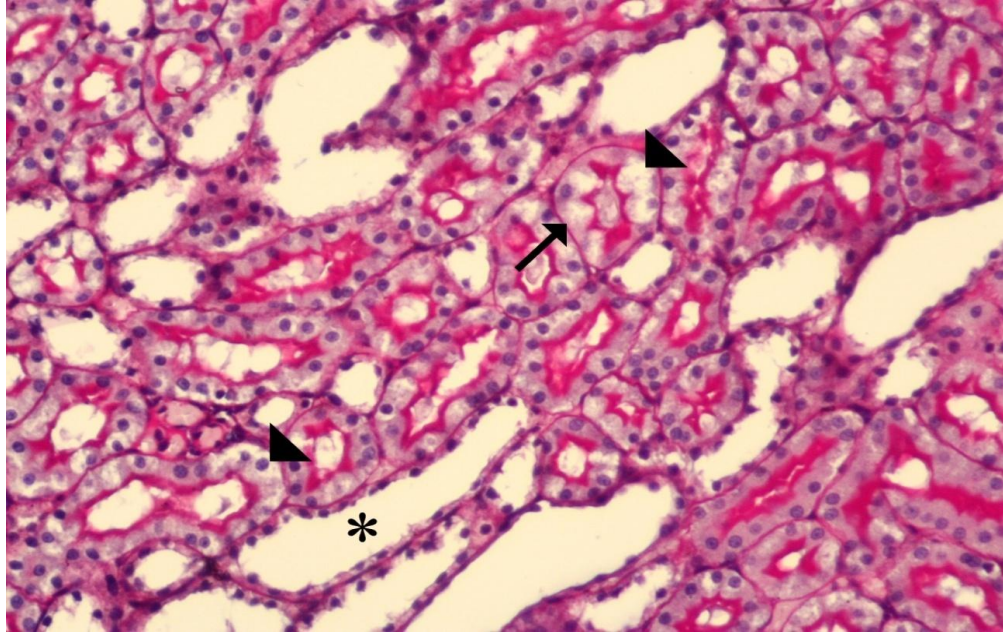
Şekil 4.44. STZ+250 mg/kg CISE grubunda, diyabet grubuna kıyasla glomerulus mezenşimal matrikste, interstisyel fibröziste, tübüllerdeki glikojen birikiminde (Armani-Ebstein lezyonları) azalmalar görülmektedir. Fakat Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması devam etmektedir.

*Beyaz ok: Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması, Siyah ok: Kalınlaşmış tübül bazal membranı, M: Mezenşimal matriks artışı, F: Fibrözis, Okbaşı: Glikojenik vakuolizasyon (PAS x200).



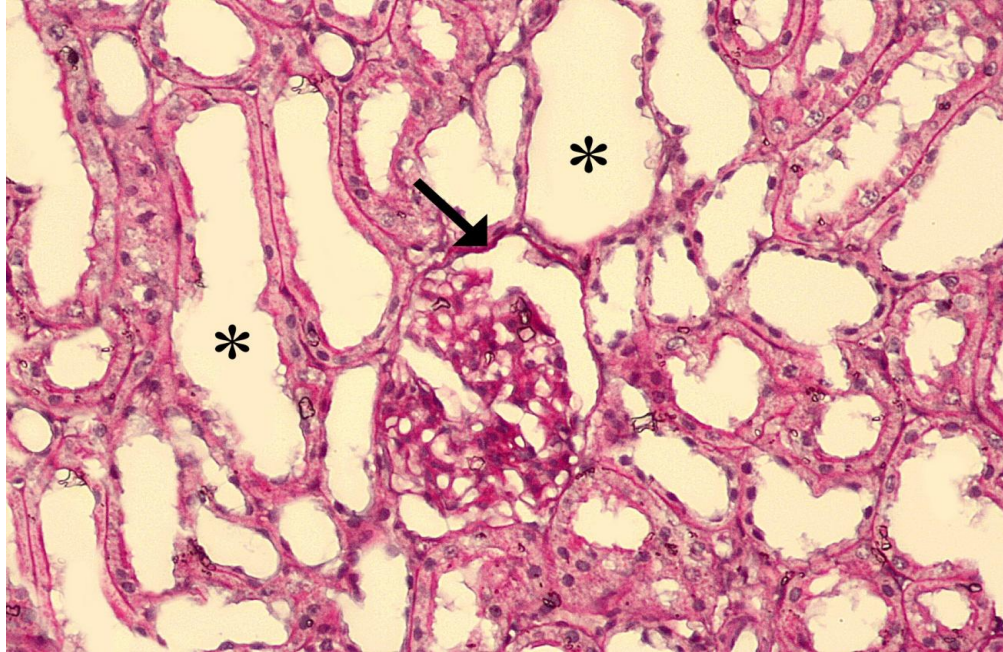
Şekil 4.45. STZ+250 mg/kg CISE grubuna ait böbrek dokusunda diyabet grubuna kıyasla azalan interstisyel fibrözis, lenfosit infiltrasyonu ve glikojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübüller (Armani-Ebstein lezyonları) görülmektedir.

*F: İnterstisyel fibrözis, Okbaşı: Glikojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübül, L: Lenfosit infiltrasyonu (PAS x200).



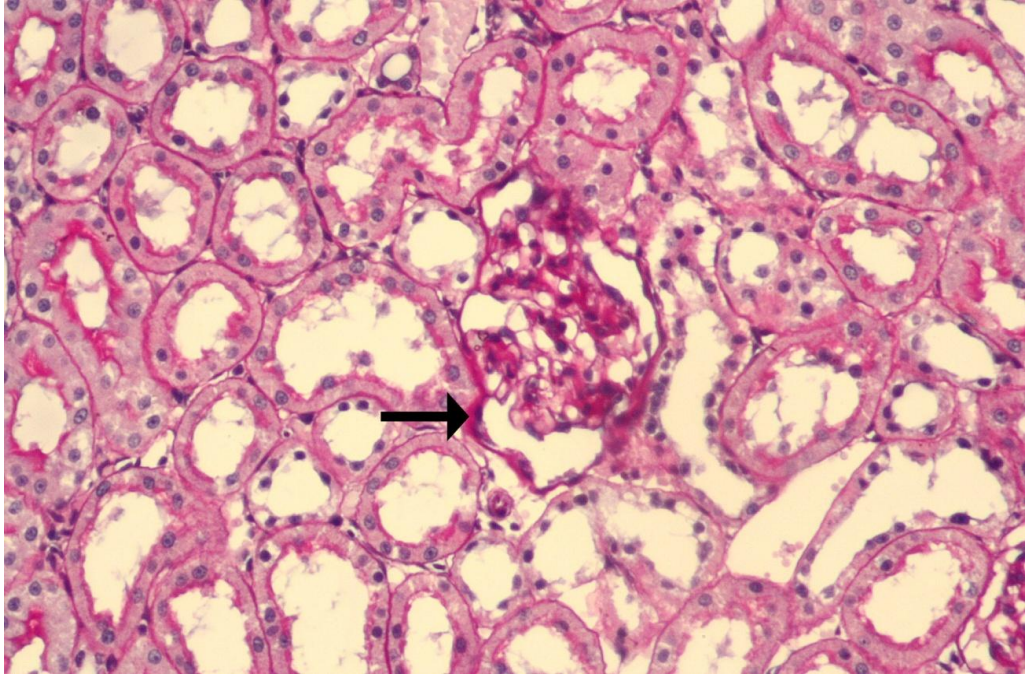
Şekil 4.46. STZ+250 mg/kg CISE grubuna ait böbrek medulla bölgesinde diyabete kıyasla bazı tübüllerde azalan glukojenik vakuolizasyonu gösteren şeffaf görünümlü tübüller (Armani-Ebstein lezyonları) ve tübül dilatasyon görülmektedir.

*Asteriks: Tübül dilatasyon, Okbaşı: Glukojenik vakuolizasyon, Ok: Kalınlaşmış tübül bazal membranı (PAS x200).



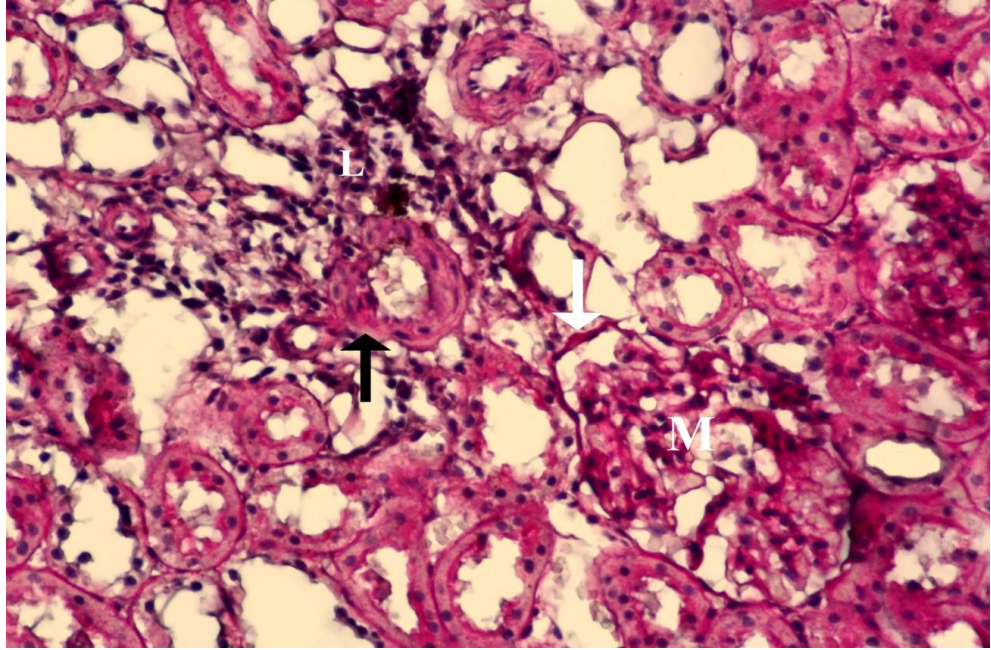
Şekil 4.47. STZ+250 mg/ml CISE grubunda Bowman kapsülünün parietal yaprağı kalınlaşması ve bazı tübüllerde atrofi, dilatasyon görülmektedir.

*Asteriks: Tübül dilatasyon, Siyah ok: Bowman kapsülünün parietal yaprağı kalınlaşması, (PAS x200).



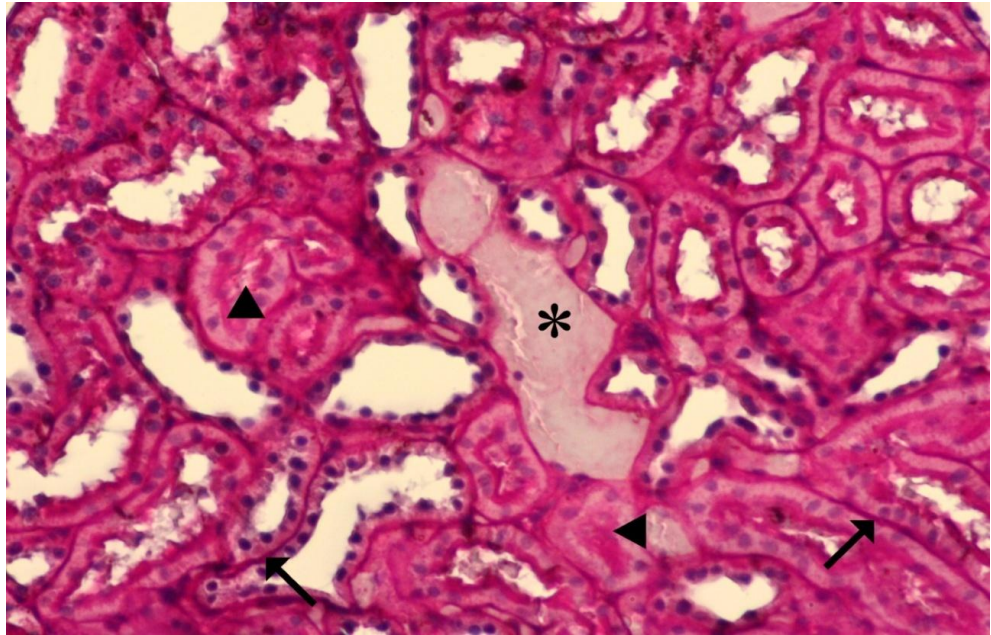
Şekil 4.48. STZ+250 mg/ml CISE grubunda diyabet grubuyla karşılaştırıldığında tübüler dilatasyon ve atrofide azalmalar görülmektedir. Fakat glomerulus Bowman kapsülünde dejenerasyon ve bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması devam etmektedir.
*Siyah ok: Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması (PAS x200).

STZ ile diyabet oluşturulmamış gruplara 250 ve 500 mg/kg PFSE uygulanması da CISE uygulaması gibi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında böbrek dokusu üzerinde herhangi bir patolojik bulguya neden olmadı. Diyabetli hayvanlara 250 mg/kg PFSE uygulandığında ise diyabet grubunda olduğu gibi glomerül mezenşimal matriks artışı, damar çapında artış ve skleröz, Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması, lenfosit infiltrasyonu, tübül içinde hiyalinleşmiş atık, tübül bazal membranında kalınlaşma, bazı tübüllerde hipertrofi ve tübül lümenlerinde daralma, bazı tübül epitellerinin fırçamsı kenarlarında ayrılma ve bozulmalar gözlemlendi (Şekil 4.49-52). Benzer bulgular PFSE'nin artan dozunda (500 mg/kg) da söz konusuydu.



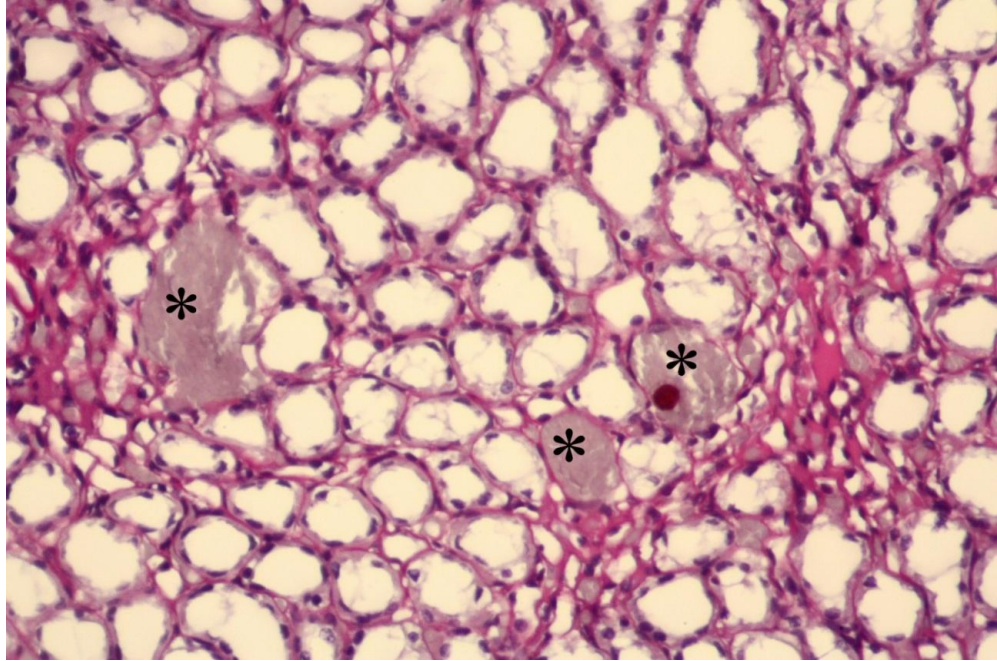
Şekil 4.49. STZ+250 mg/kg PFSE grubuna ait böbrek dokusunda kontrolle karşılaştırıldığında glomerül mezenşimal matriks artışı, damar çapında artış ve skleröz, Bowman kapsülü parietal yaprağı kalınlaşması, lenfosit infiltrasyonu görülmektedir.

*Siyah ok: Arterioskleröz, L: Lenfosit infiltrasyonu, M: Mezenşimal matriks artışı, Beyaz ok: Kalınlaşmış Bowman kapsülü parietal yaprağı (PAS x200).



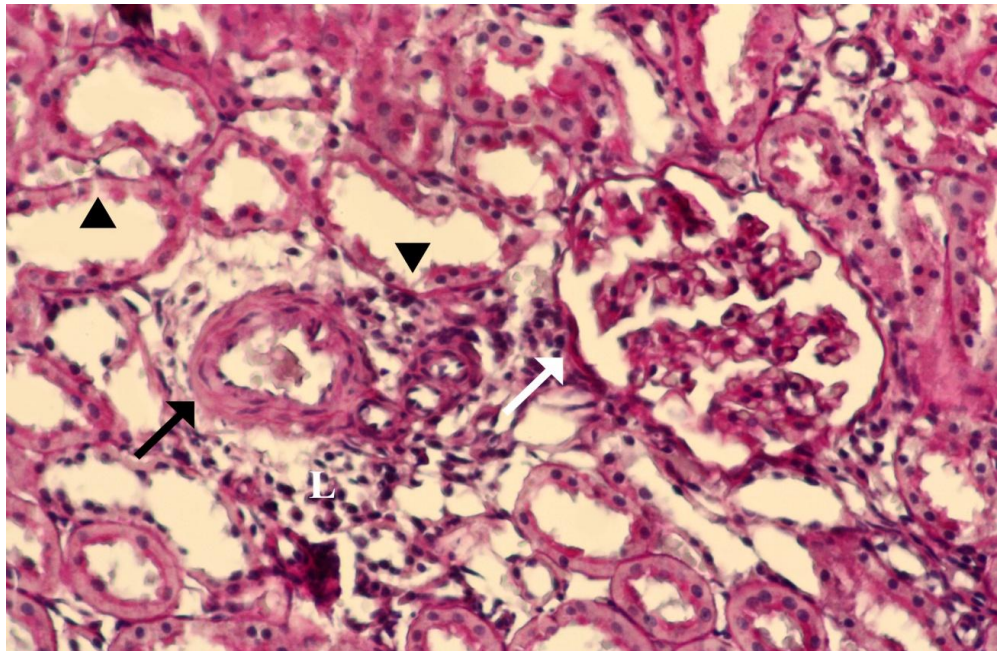
Şekil 4.50. STZ+250 mg/kg PFSE grubunda tübül lümeninde hiyalinleşmiş atık birikimi, tübül bazal membranında kalınlaşma, bazı tübüllerde hipertrofi ve tübül lümenlerinde daralma görülmektedir.

*Asteriks: Hiyalin atık, Okbaşı: Daralmış tübül lümeni, Oklar: Tübül bazal membranı (PAS x200).



Şekil 4.51. STZ+250 mg/kg PFSE grubunun böbrek medulla bölgesinde tübül lümeninde hiyalinleşmiş atık birikimi görülmektedir.

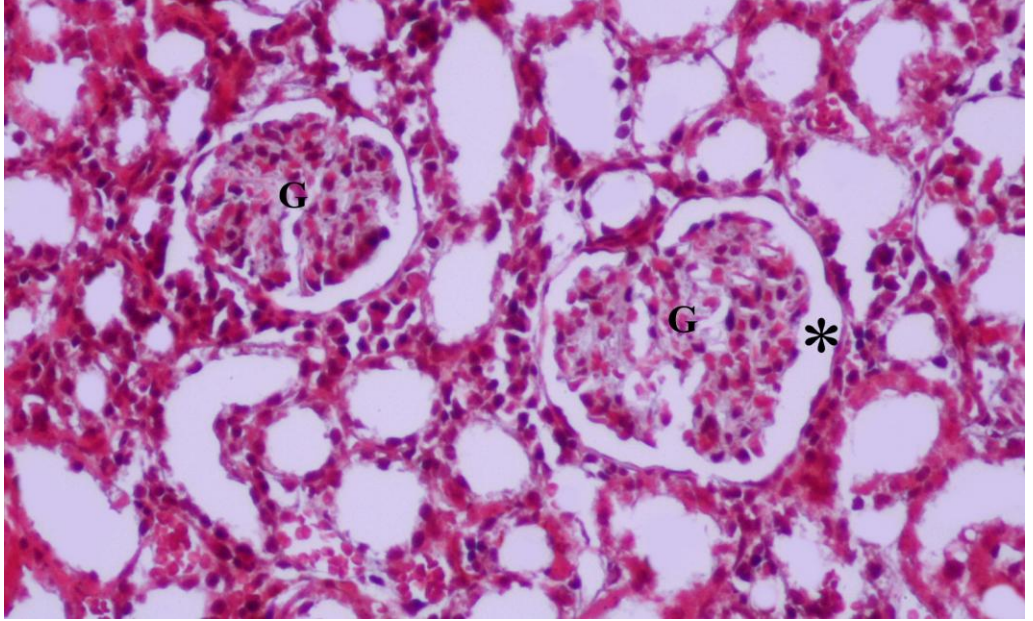
*Asteriks: Hiyalin atık (PAS x200).



Şekil 4.52. STZ+250 mg/kg PFSE grubunda kontrole kıyasla damar çapında artma ve skleröz, Bowman kapsülü parietal yaprağında kalınlaşma, lenfosit infiltrasyonu ve bazı tübül epitellerinin fırçamsı kenarlarında ayrılma ve bozulmalar görülmektedir.

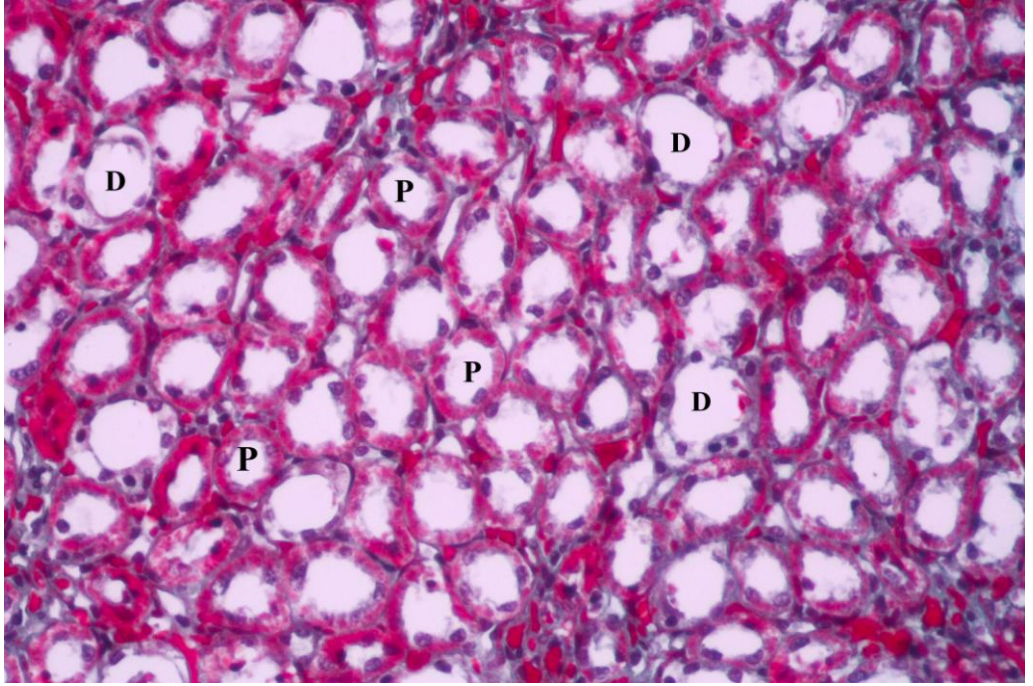
*Siyah ok: Arterioskleröz, Siyah ok: Kalınlaşmış Bowman kapsülü parietal yaprağı, L: Lenfosit infiltrasyonu, Okbaşı: Fırçamsı kenarlarda bozulmalar (PAS x200).

Böbrek dokusundaki kollagen lif miktarını ve düzenini tespit edebilmek amacıyla da mason boyama metodu kullanıldı. Kontrol kesitlerde normal histolojik yapı gözlenirken (Şekil 4.53 ve 4.54) diyabet grubundaki böbreklerde interstisyel dokuda, damar etrafında ve glomerülüslerin içinde arttığı gözlemlendi (Şekil 4.55-60).



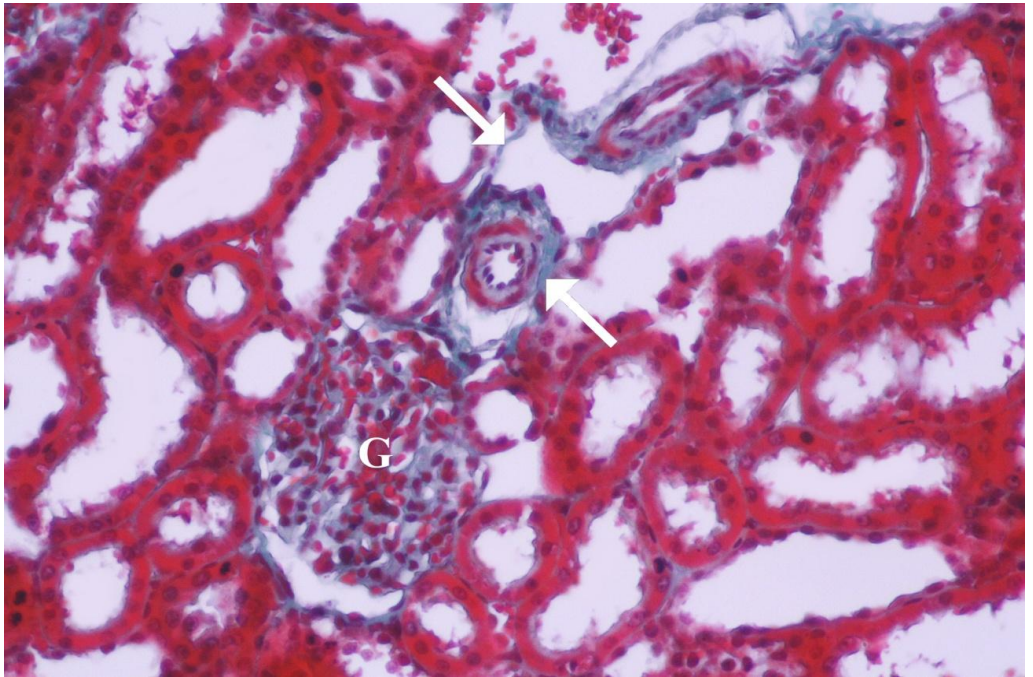
Şekil 4.53. Kontrol grubu normal böbrek histolojisi.

*G: Glomerülüs, Asteriks: Bowman mesafesi (Masson x200).



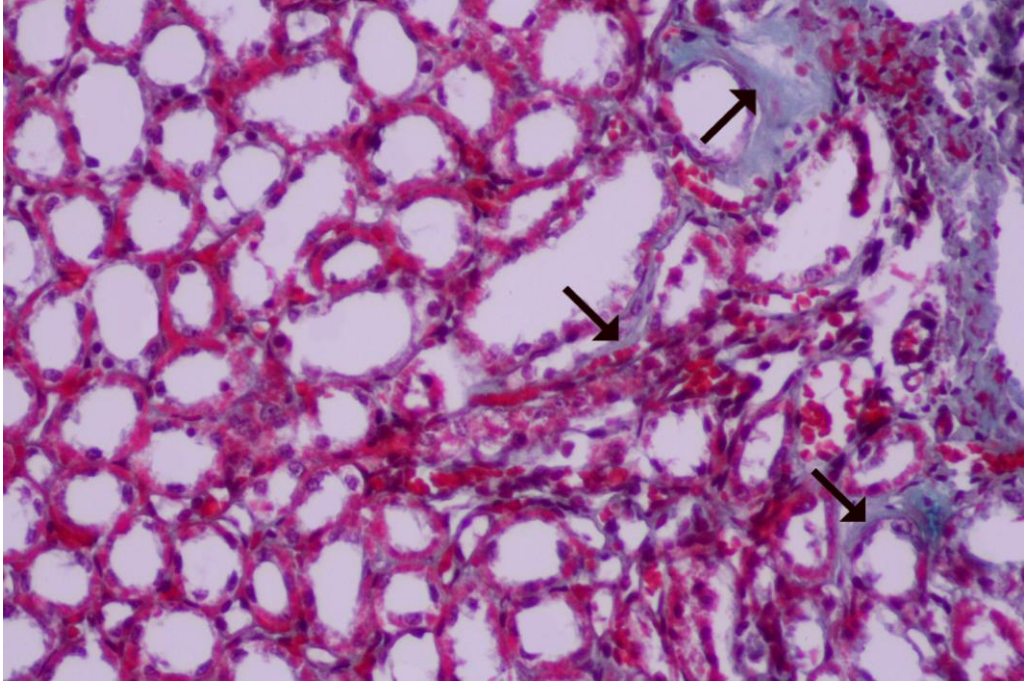
Şekil 4.54. Kontrol grubu böbrek medulla bölgesi normal histolojisi.

*D: Distal tübül, P: Proksimal tübül (Masson x200).



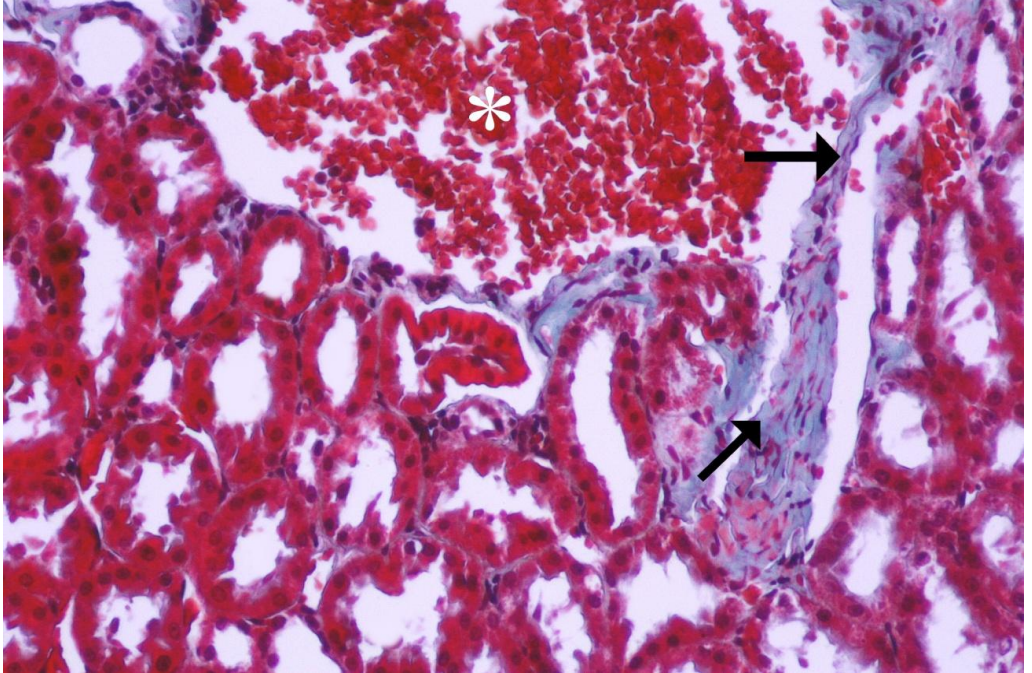
Şekil 4.55. STZ grubu böbrek dokusunda kontrole kıyasla glomerülüs içinde ve damar etrafında kollogen lif miktarında artış görülmektedir.

*Oklar: Kollogen lif, G: Glomerülüs (Masson x200).



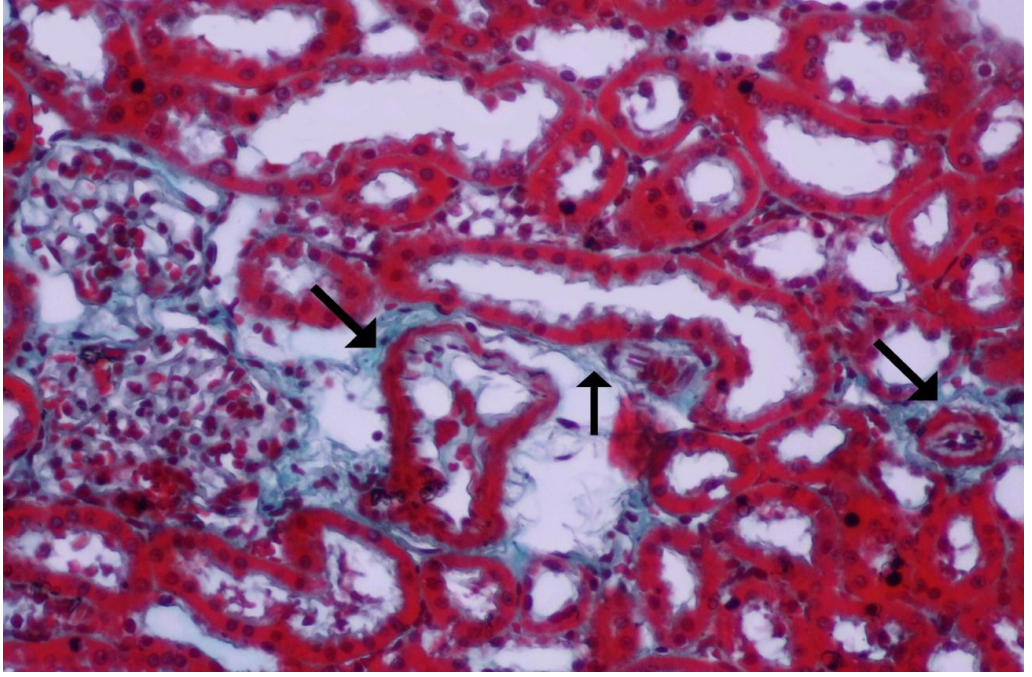
Şekil 4.56. STZ grubu böbrek medulla bölgesinde kollagen lif miktarında artış görülmektedir.

*Oklar: Kollagen lif (Masson x200).



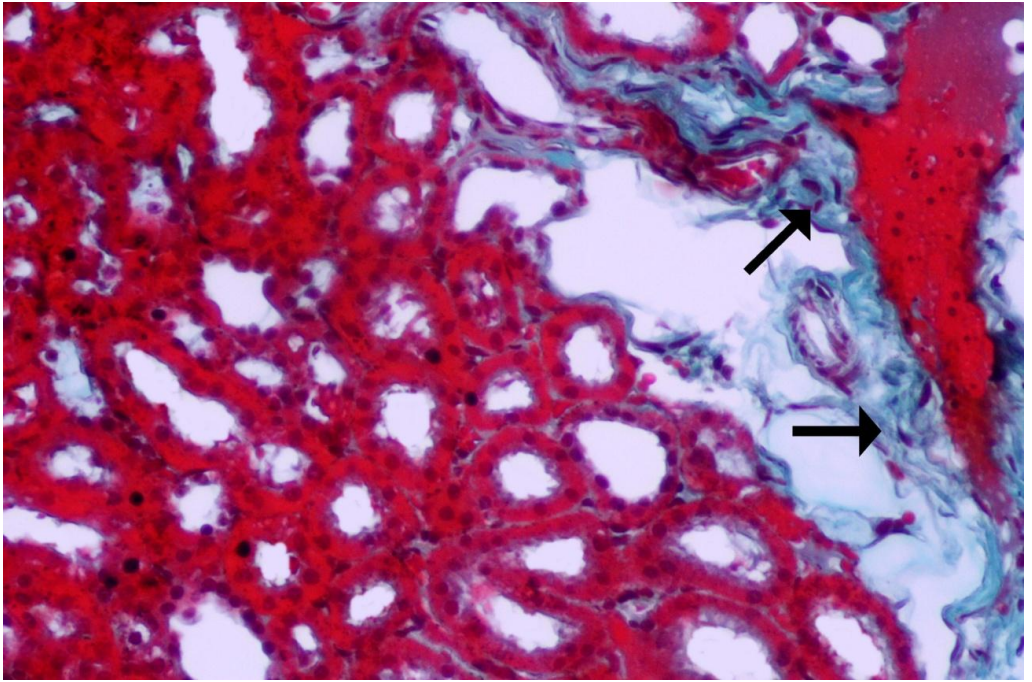
Şekil 4.57. STZ grubunun böbrek dokusunda kontrole kıyasla kollagen lif miktarında artış ve eritrositler görülmektedir.

*Oklar: Kollagen lif, Asteriks: Eritrosit (Masson x200).



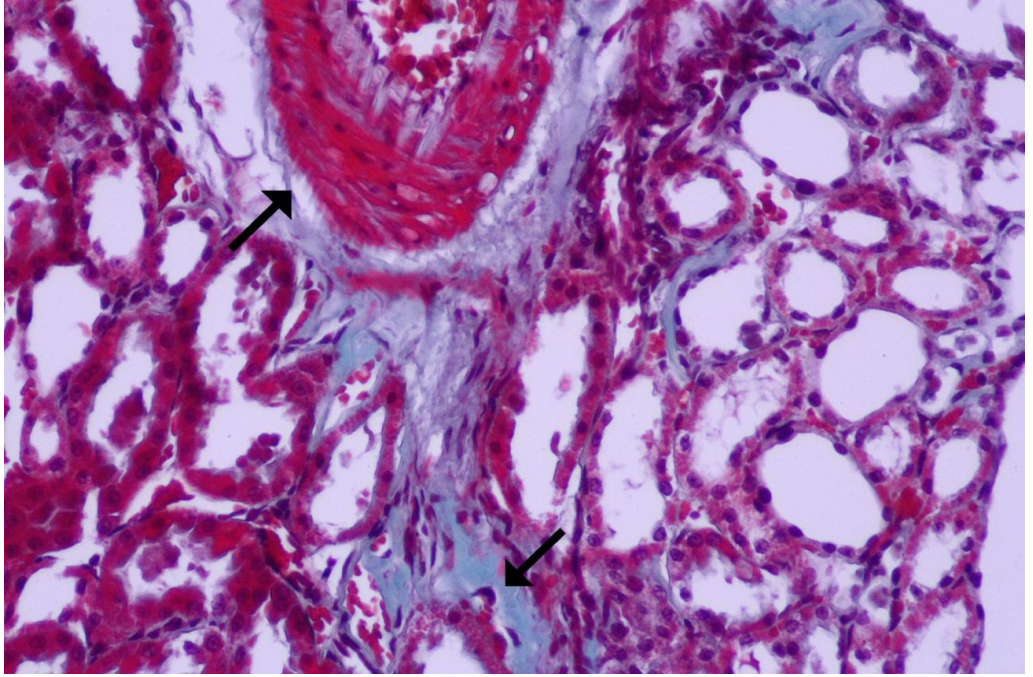
Şekil 4.58. STZ grubu böbrek dokusunda kontrollere kıyasla glomerulus içinde ve damar etrafında kollagen lif miktarında artış görülmektedir.

*Oklar: Kollagen lif (Masson x200).



Şekil 4.59. STZ grubunun böbrek dokusunda kontrole kıyasla kollagen lif miktarında artış görülmektedir.

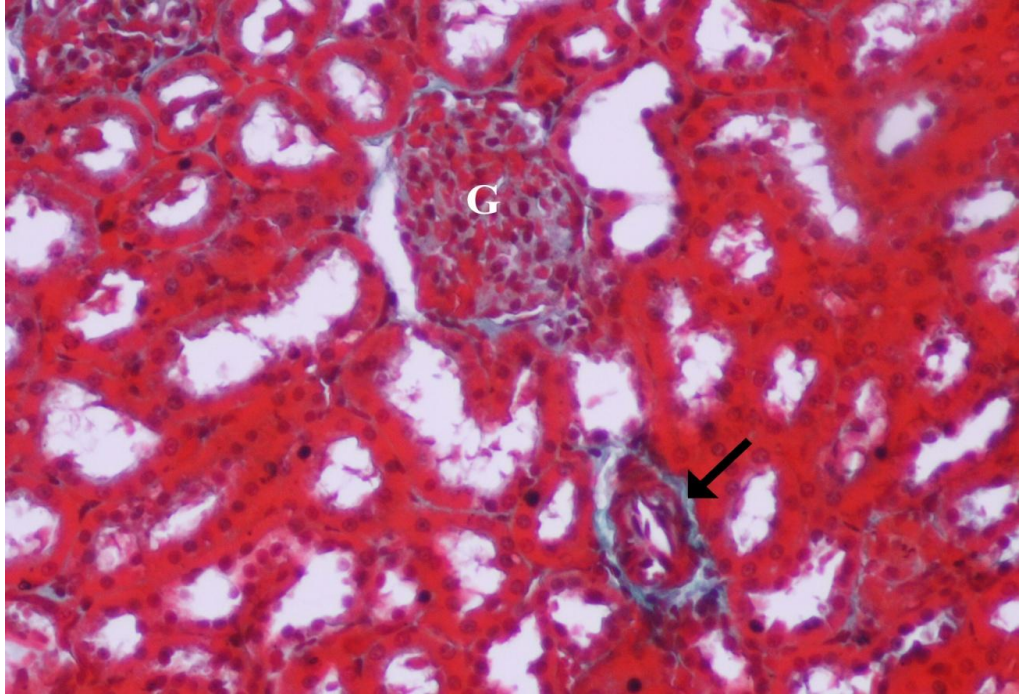
*Oklar: Kollagen lif (Masson x200).



Şekil 4.60. STZ grubunun böbrek dokusunda kontrole kıyasla kollagen lif miktarında artış görülmektedir.

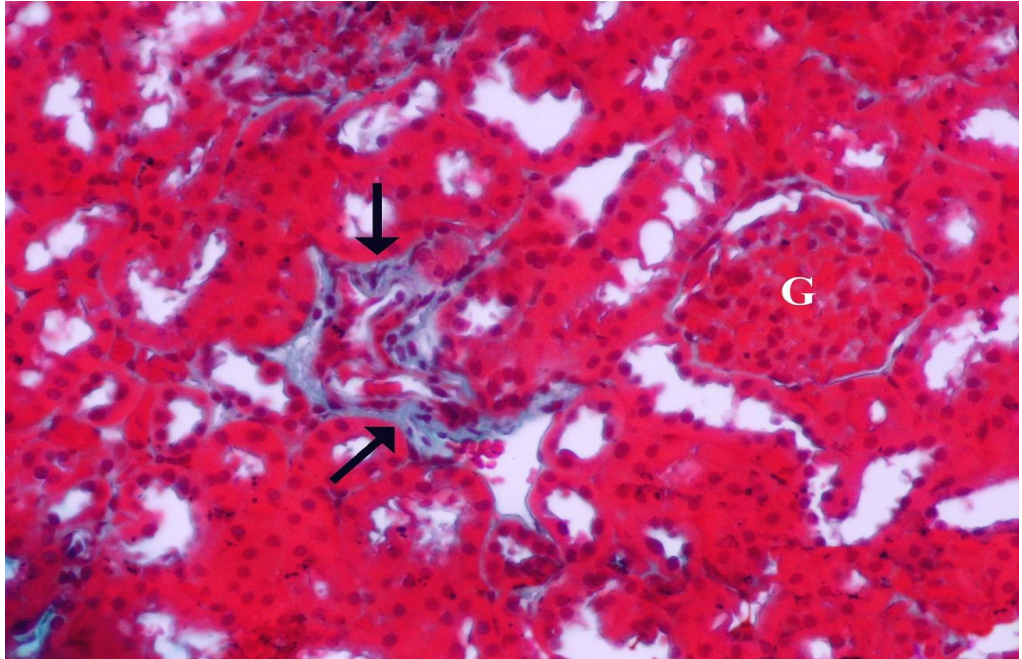
*Oklar: Kollagen lif (Masson x200).

CISE'nin uygulanan dozları kontrollerin böbrek dokusu üzerinde herhangi bir patolojik etkiye sahip değildi. Diyabetli hayvanlar üzerinde likenin 250 mg/kg'lık dozu uygulandığında diyabettekine kıyasla böbrek dokusunda glomerülüslerin içinde, seyrekte olsa bazı damarların etrafında ve interstisiyel dokuda kollajen lif miktarının azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.61-64). 500 mg/kg CISE'nin diyabet üzerindeki etkileri de düşük dozdakine benzerdi.



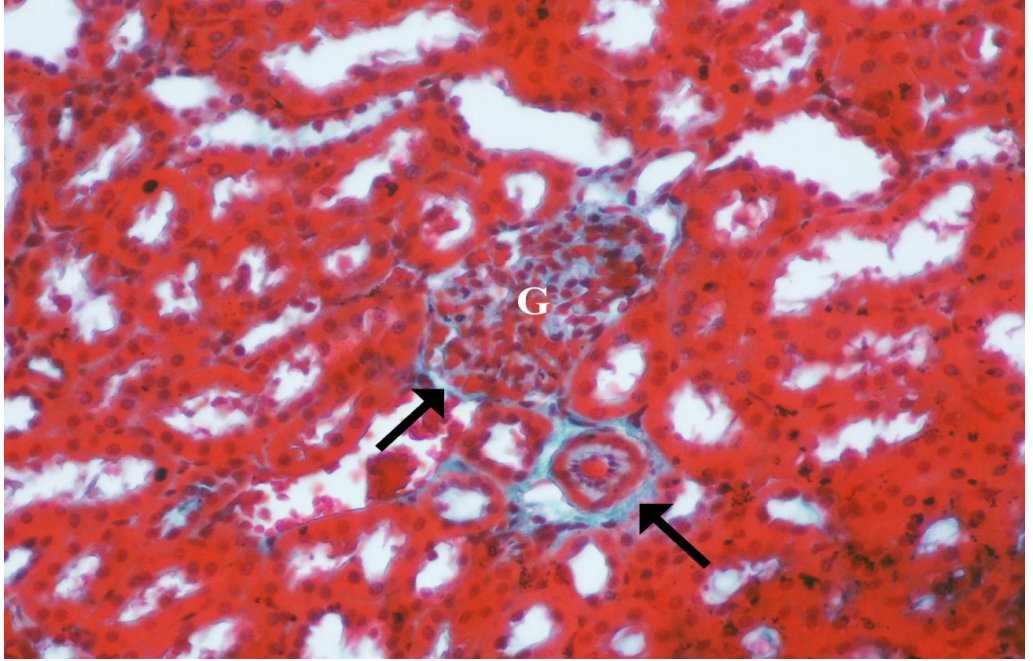
Şekil 4.61. STZ+250 mg/kg CISE grubunun böbrek dokusunda diyabetle karşılaştırıldığında glomerulus içinde ve damar etrafında kollagen lif miktarında azalma görülmektedir.

*G: Glomerulus, Ok: Kollagen lif (Masson x200).



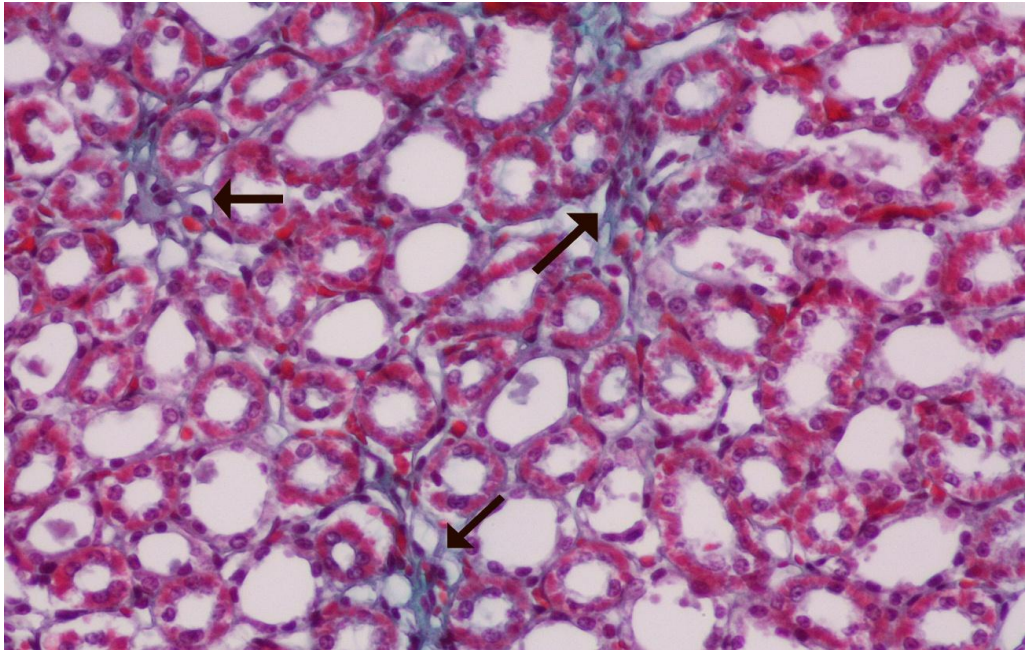
Şekil 4.62. STZ+250 mg/kg CISE grubunun böbrek dokusunda diyabetle karşılaştırıldığında kollagen lif miktarında azalma görülmektedir.

*G: Glomerulus, Oklar: Kollagen lif (Masson x200).



Şekil 4.63. STZ+250 mg/kg CISE grubu böbrek dokusunda diyabet grubuyla karşılaştırıldığında glomerulus ve damar etrafında kollagen lif miktarında azalma görülmektedir.

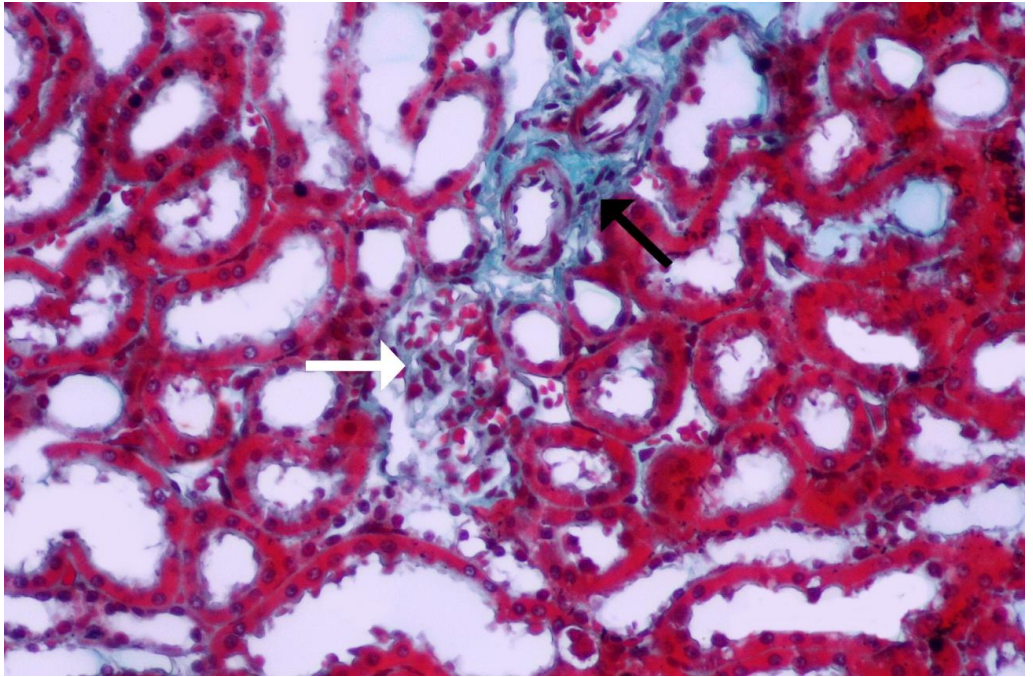
*Oklar: Kollagen lif, G: Glomerulus (Masson x200).



Şekil 4.64. STZ+250 mg/kg CISE grubu böbrek dokusunda diyabet grubuyla karşılaştırıldığında interstisiyel dokuda kollagen lif miktarında azalma görülmektedir.

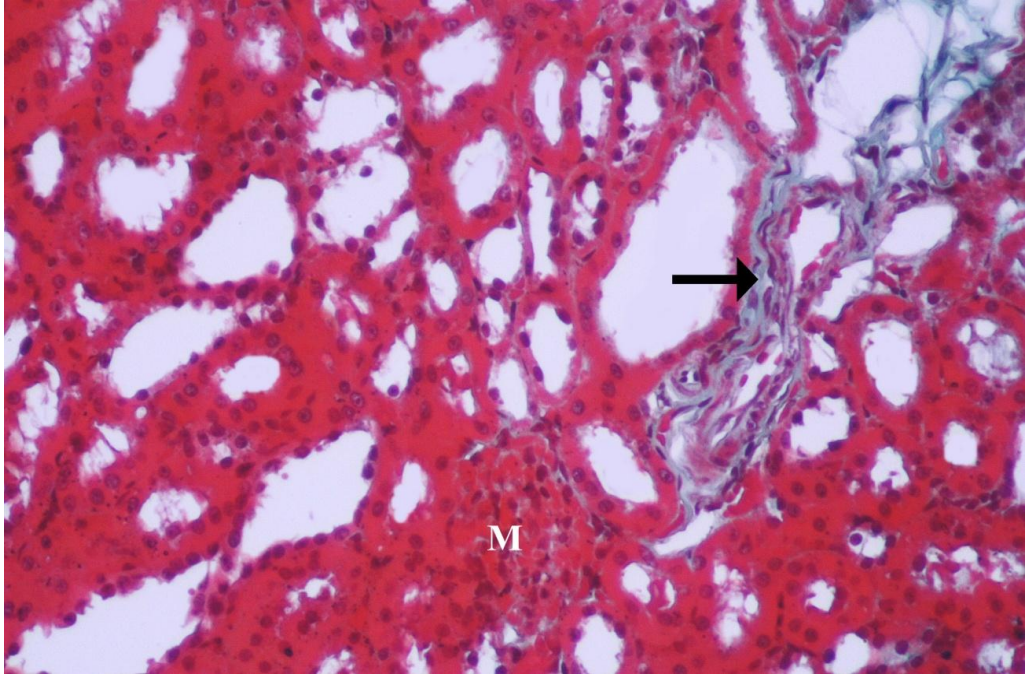
*Oklar: Kollagen lif (Masson x200).

Kontrollerle karşılaştırıldığında 250 mg/kg PFSE sıçan böbrek dokusu üzerinde herhangi bir patolojik etkiye sahip değildi. PFSE diyabetli hayvanlara uygulandığında her iki dozda da hayvanların böbrekleri üzerinde olumlu veya olumsuz herhangi bir etki oluşturmadi. Nitekim, diyabetteki gibi arteriollerin etrafında, glomerulus içinde ve interstisyel dokuda yoğun kollagen lif ağı dikkat çekiciydi (Şekil 4.65 ve 4.66).



Şekil 4.65. STZ+250 mg/kg PFSE grubunun böbrek dokusunda kontrollerle karşılaştırıldığında glomerulus içinde ve damar etrafında kollagen lif görülmektedir.

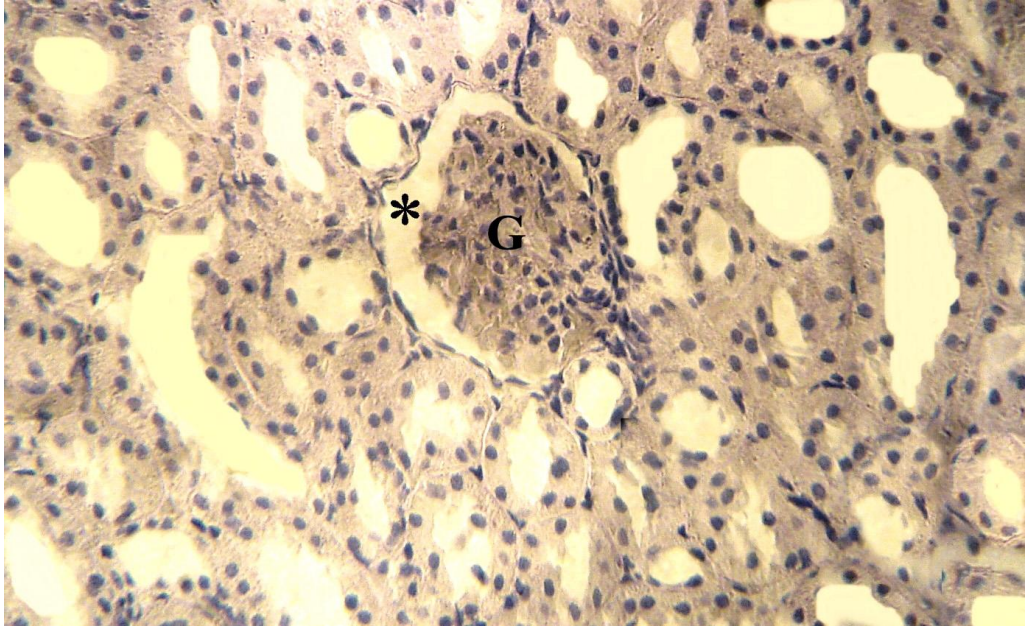
*Beyaz ok: Glomerulus içindeki kollagen lif, Siyah ok: Damar etrafındaki kollagen lif (Masson x200).



Şekil 4.66. STZ+250 mg/kg PFSE grubu böbrek dokusunda kollagen lif ve glomerulus mezenşimal matriksinde artış görülmektedir.

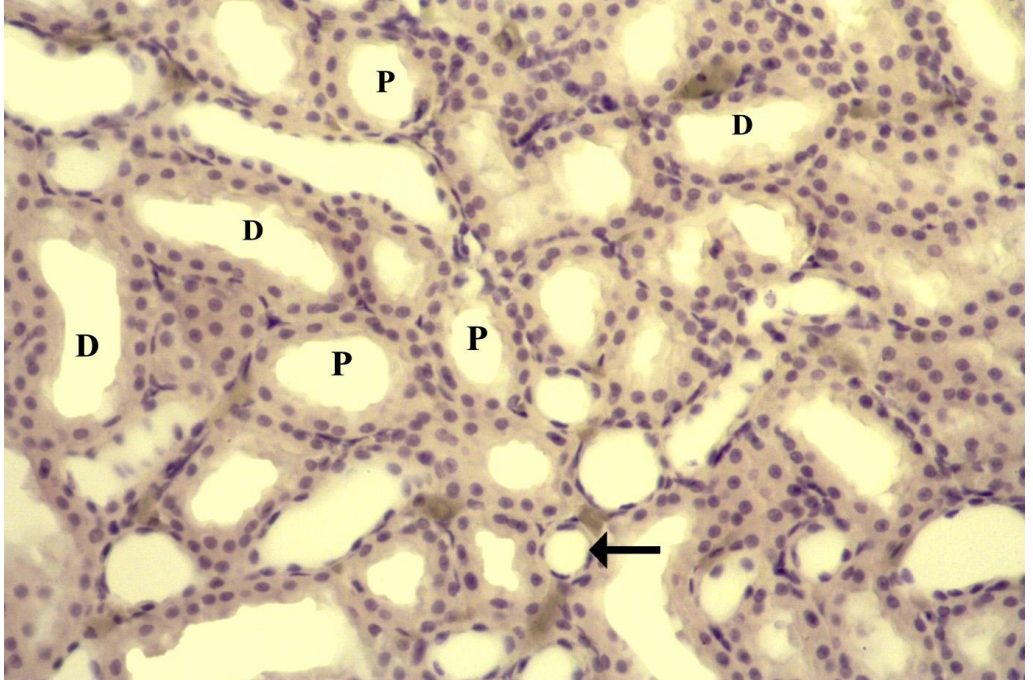
*Ok: Kollagen lif, M: Mezenşimal matriks artışı (Masson x200).

Böbrek dokusundaki amiloid proteininin birikimini belirleyebilmek amacıyla da amiloid boyama metodu uygulandı. Kontrol grubunda normal histolojik yapı söz konusuken (Şekil 4.67 ve 4.68) diyabet grubunda kontrollere kıyasla artan glomerulus içinde ve interstisyel dokuda amiloid birikimi dikkat çekiciydi (Şekil 4.69-73).



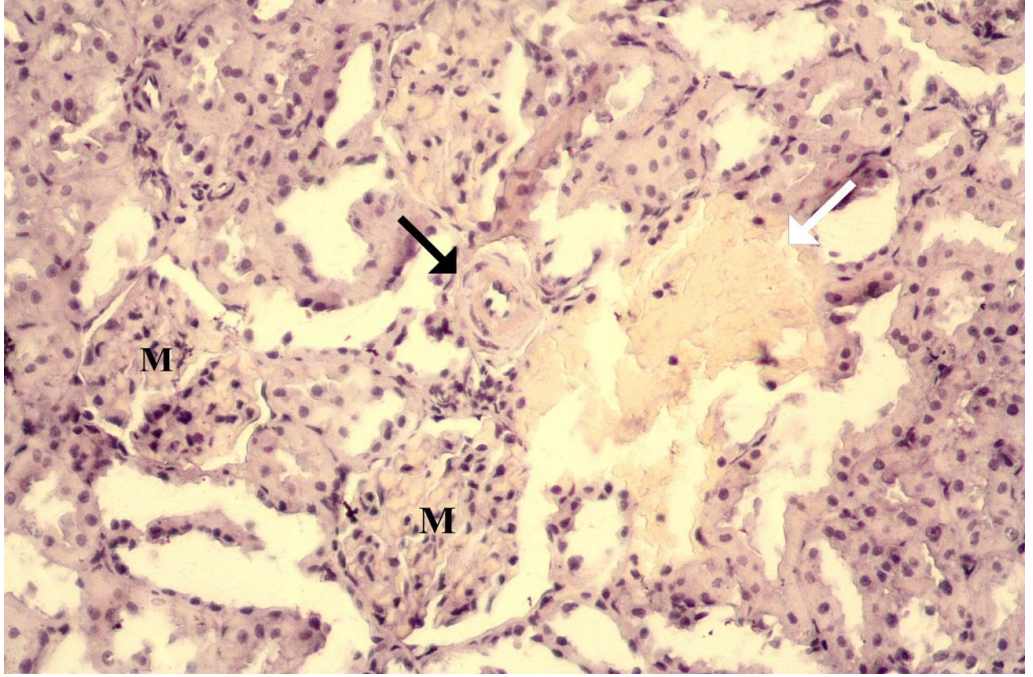
Şekil 4.67. Kontrol grubu normal böbrek histolojisi.

*G: Glomerulus, Asteriks: Bowman mesafesi (Amyloid x200).



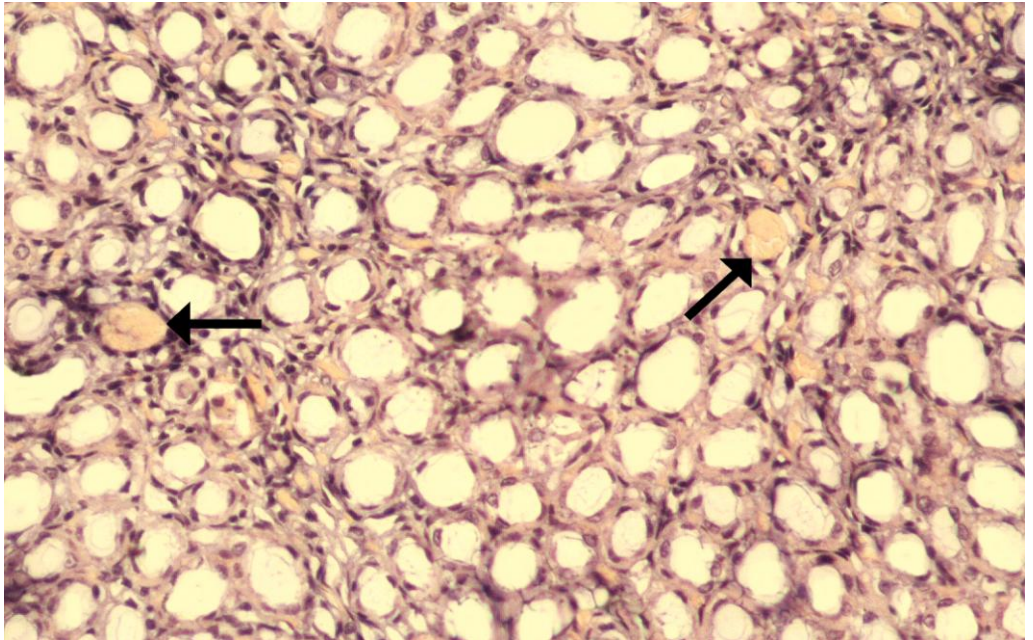
Şekil 4.68. Kontrol grubu böbrek medulla bölgesi normal histolojisi.

*P: Proksimal tübül, D: Distal tübül, Ok: Arteriol (Amyloid x200).



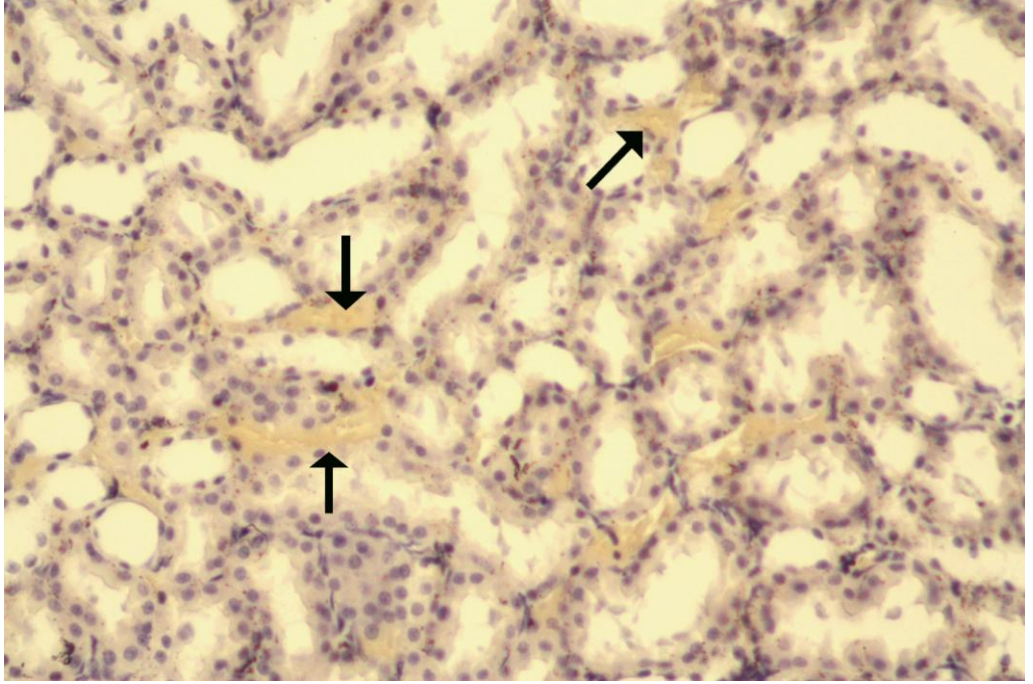
Şekil 4.69. STZ grubunun böbrek dokusunda amiloid birikimi, glomerülusta mezenşimal matriks artışı ve arterioskleröz görülmektedir.

*M:Mezenşimal matriks artışı, Siyah ok: Arterioskleröz, Beyaz ok: Amiloid (Amyloid x200).

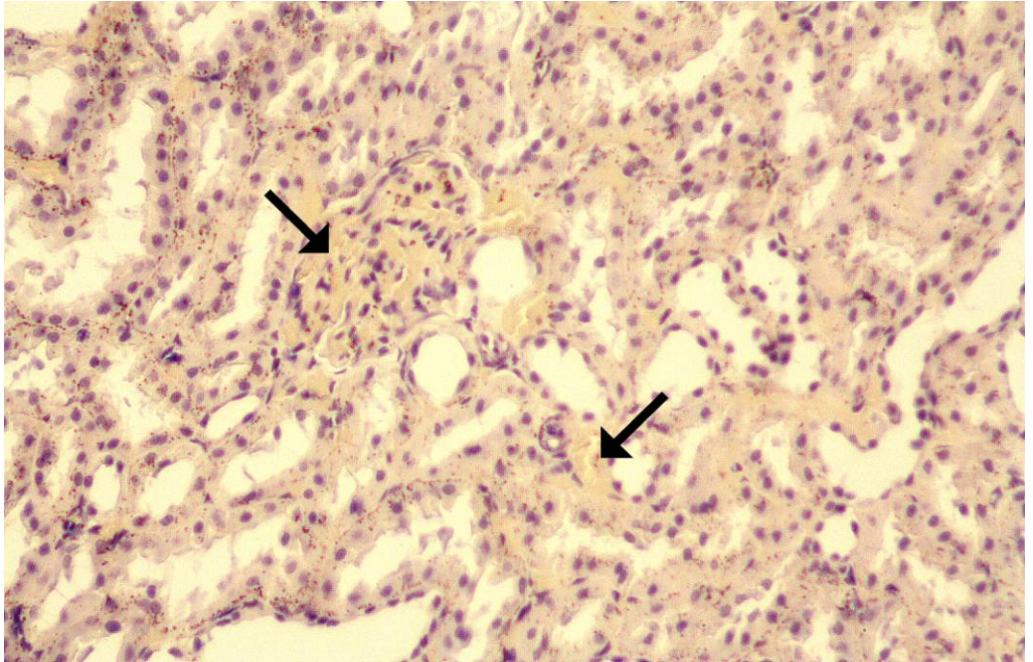


Şekil 4.70. STZ grubuna ait böbrek medulla dokusunda amiloid proteini birikimi görülmektedir.

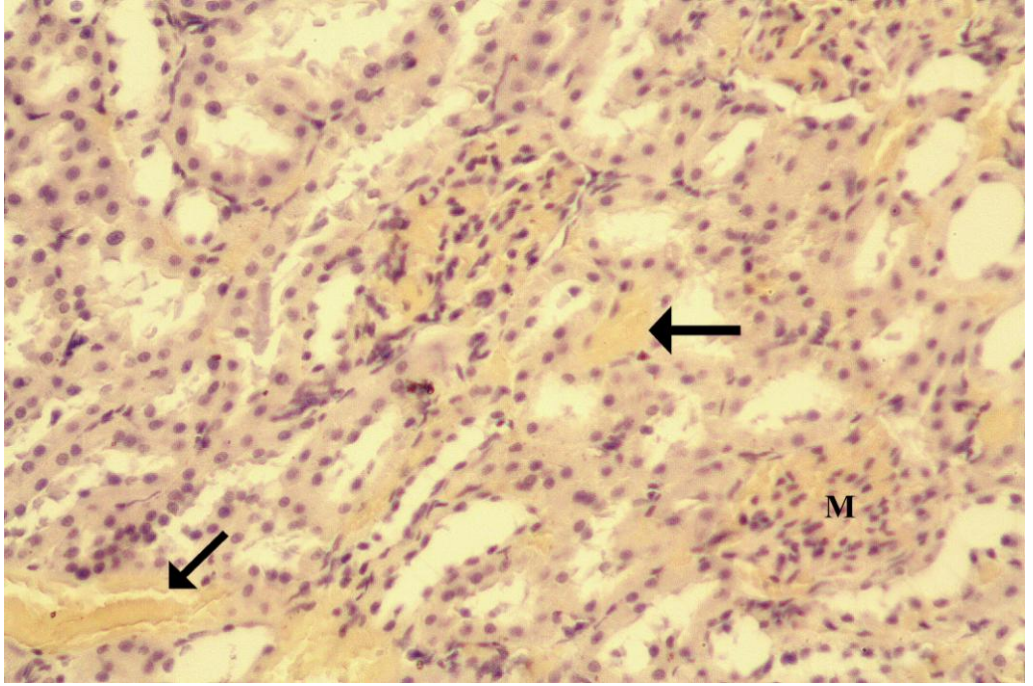
*Oklar; Amiloid (Amyloid x200).



Şekil 4.71. STZ grubunda kontrole kıyasla amiloid birikimi görülmektedir.
*Oklar: Amiloid (Amyloid x200).



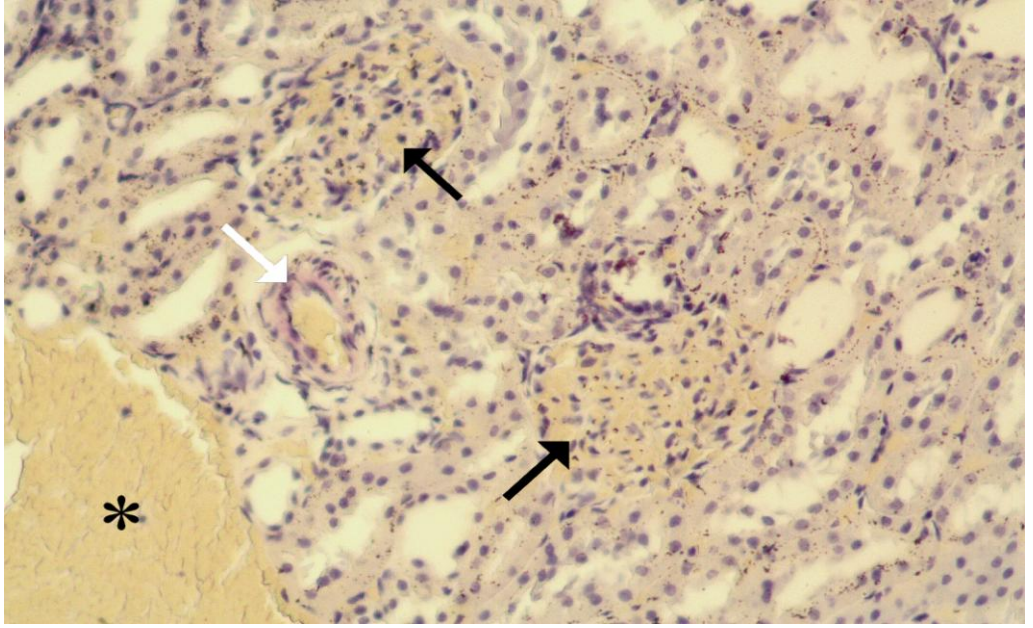
Şekil 4.72. STZ grubunun böbrek dokusunda glomerülüs içinde ve interstisyel dokuda amiloid birikimi ayrıca mezenşim artışı ve Bowman mesafesinde daralma görülmektedir.
*Oklar: Amiloid birikimi (Amyloid x200).



Şekil 4.73. STZ grubunun böbrek dokusunda glomerülüs içinde ve interstisyel dokuda amiloid birikimi ayrıca mezenşim artışı ve Bowman mesafesinde daralma görülmektedir.

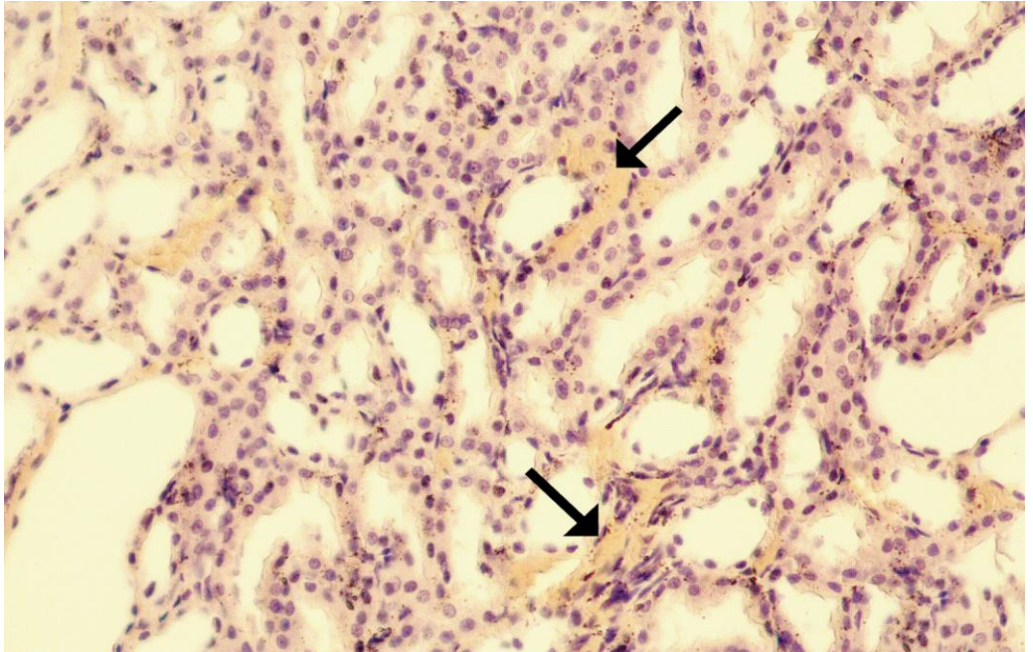
*Oklar: Amiloid birikimi, M: Mezenşim artışı (Amyloid x200).

Diğer taraftan dokuya 250 mg/kg CISE uygulandığında diyabette gözlenen patolojik bulgular önemsiz bir şekilde azaltıldı. Diyabet grubundaki gibi böbrek dokusunda amiloid birikimleri bilhassa glomerülüs içinde ve interstisyel dokuda tespit edildi (Şekil 4.74 ve 4.75). Benzer bulgular CISE'nin (500 mg/kg) artan dozunda da söz konusuydu. Ayrıca mezenşimal genişleme, arterioskleröz ve konjesyonunda devam ettiği gözlemlendi.



Şekil 4.74. STZ+250 mg/kg CISE grubunda glomerülüslerde kontrole kıyasla belirgin bir şekilde amiloid birikimi ayrıca arterioskleröz, konjesyon ve mezenşimal matriks artışı görülmektedir.

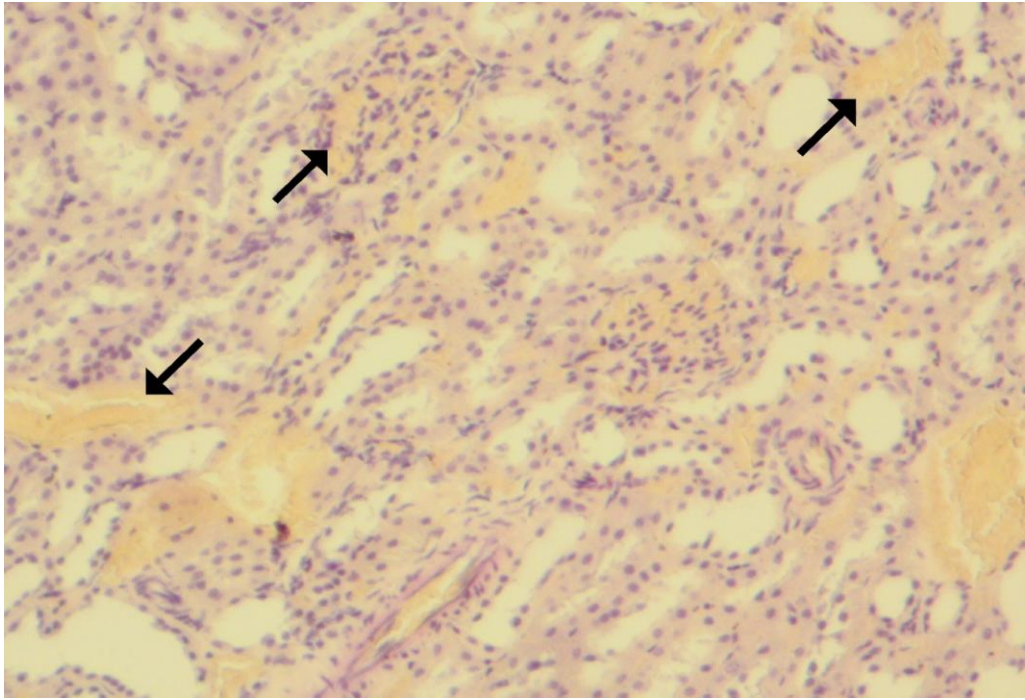
*Siyah oklar: Amiloid birikimi, Beyaz ok: Arterioskleröz, Asteriks: Konjesyon (Amyloid x200).



Şekil 4.75. STZ+250 mg/kg CISE grubunun böbrek medulla dokusunda amiloid birikimi görülmektedir.

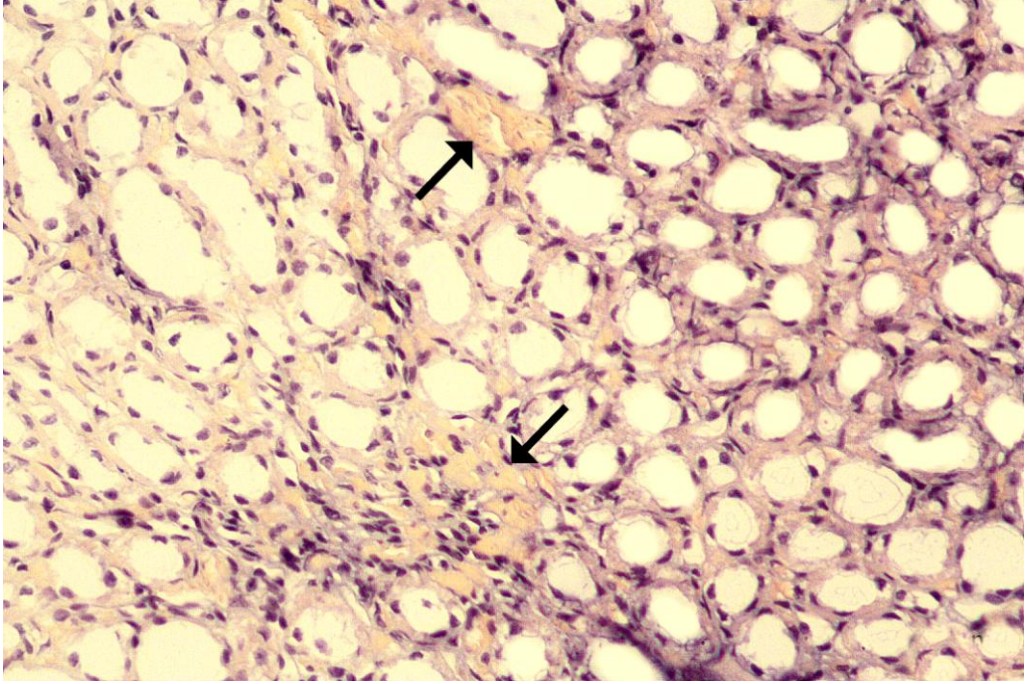
*Oklar: Amiloid birikimi (Amyloid x200).

Kontrollerle karşılaştırıldığında 250 ve 500 mg/kg PFSE kontrol böbrek dokusu üzerinde herhangi bir patolojik etki göstermedi. Orta düzeydeki antioksidan özelliğine rağmen likenin çalışılan dozları diyabetli hayvanların böbrekleri üzerinde de herhangi bir olumlu veya olumsuz etkiye sahip değildi. Nitekim diyabettekine benzer bir şekilde böbrek dokusunda yoğun amiloid birikimi dikkat çekiciydi (Şekil 4.76, 4.77 ve 4.78).



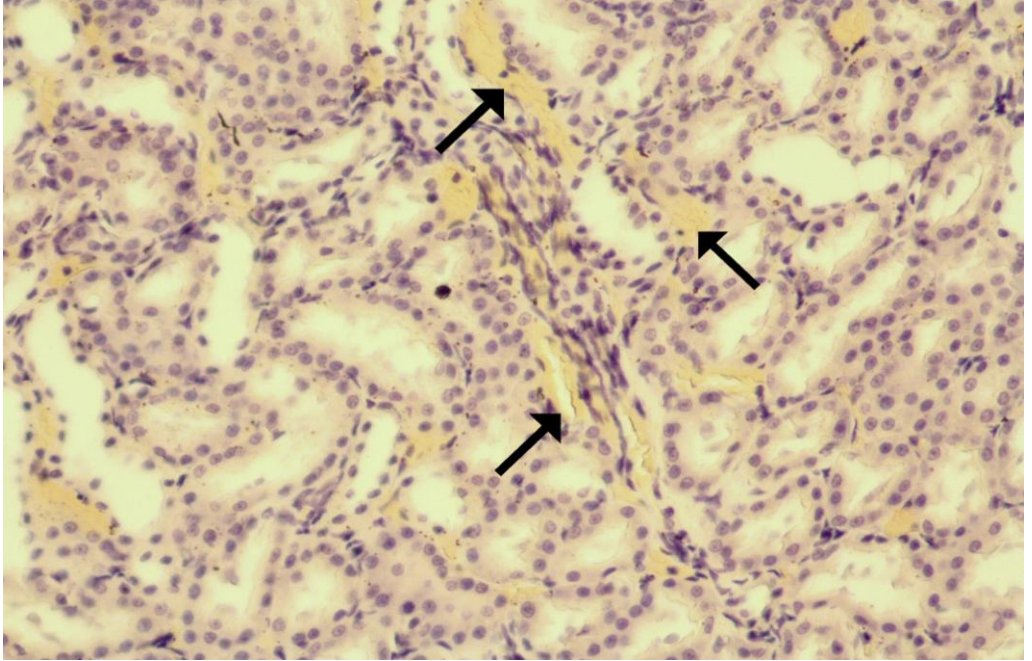
Şekil 4.76. STZ+250 mg/kg PFSE grubunda böbrek dokusunda kontrole kıyasla glomerülusta mezenşimal matriks artışı, amiloid birikimi ve arterioskleröz görülmektedir.

M: Mezenşimal matriks artışı, Siyah ok: Amiloid, Beyaz ok: Arterioskleröz (Amyloid x200).



Şekil 4.77. STZ+250 mg/kg PFSE grubunun böbrek medulla bölgesinde kontrole kıyasla amiloid birikimi görülmektedir.

*Oklar: Amiloid (Amyloid x200).



Şekil 4.78. STZ+250 mg/kg PFSE grubuna ait böbrek medulla dokusunda amiloid birikimi görülmektedir.

*Oklar: Amiloid birikimi (Amyloid x200).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

DM hastalığı kardiyovasküler bozukluklar, nefropati, retinopati ve nöropati gibi komplikasyonlara yol açması nedeniyle önemli bir metabolik bozukluk olarak tanımlanmıştır (Memişoğulları 2005). Diyabetin en önemli hedef organlarından birisi olan böbreklerde görülen DN (Kumar *et al.* 2000), DM'nin oldukça ciddi bir komplikasyonudur (Memişoğulları 2005). Günümüzde endüstriyel yaşam ve beslenme şekli ile birlikte, DM'nin ve buna bağlı olarak DN'nin gelişimi hızla artmaktadır (Erek vd. 2007). 2010 yılında dünya genelinde 20-79 yaş aralığında 285 milyon kişide DM görülmüştür. Bu oran, dünya nüfusunun yüzde 6,6'sına denk gelmektedir. 2030 yılında ise bu oranın 438 milyona çıkması beklenmektedir. Ülkemizde de 2010 yılında 3,679000 insanın diyabet hastası olduğu bildirilmiştir. 20-79 yaş grubunun oranı ise %7,4 tür. Bu oranın 2030 yılında %9,4'e yükseleceği düşünülmektedir (Anonim 2011h). DM'li hastaların oranındaki hızlı artışa bağlı olarak diyabet tedavisi için dünya genelinde oldukça ciddi paralar harcanmaktadır. Hastalığın tedavisi için yapılan bu harcamalar dikkate alındığında ekonomik anlamda da DM'nin dünyada ve ülkemizde oluşturduğu sorunun büyüklüğü anlaşılmaktadır. Bu nedenle diyabetin tedavisi için birçok araştırma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir.

Bu çalışmada, sıçanların böbrekleri üzerinde iki farklı liken türünün (*Pseudevernia furfuracea* ve *Cetraria islandica*) artan dozlardaki etkileri incelenmiş ve DM oluşturulmuş hayvanlarda gelişen DN üzerinde liken diyetlerinin herhangi bir olumlu veya olumsuz etkiye sahip olup olmadıkları ilk kez araştırılmıştır. Gerek kimyasal gerek bitkisel tedavi yöntemleri hızlı bir şekilde diyabet ve komplikasyonları için alternatif çalışmalar olarak literatürde yer almaya başlamıştır (Lane *et al.* 1993; Farzami *et al.* 2003). Diyabetin tedavisi için Hindistan dutu (Andallu and Varadacharyulu 2003), Böğürtlen (Jouad *et al.* 2002), nar (Althunibat *et al.* 2010), Hint Hurması (Maiti *et al.* 2004), Isırgan otu (Farzami *et al.* 2003), papatya (Cemek *et al.* 2008), Karaman kimyonu ve gebre otu (Eddouks *et al.* 2004), Madagaskar menekşesi ve Zencefil (Kar *et al.* 2003), Meryem otu (Esmaeili and Yazdanparast 2004), Soğan ve sarımsak (El-Demerdash *et al.* 2004) gibi farklı bitkilerle yapılmış çalışmalara rastlanmıştır. Yapılan

literatür taraması sonucunda likenlerin pek çok hastalığın tedavisinde kullanıldığı ancak diyabet üzerindeki etkinlikleri ile ilgili herhangi bir çalışmanın bulunmadığı anlaşılmıştır. Diyabet üzerinde bitkisel ilaçların etkileri in vivo şartlarda ve çoğunlukla da sıçanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda öncelikle bu deneklerin pankreas adacıklarında yer alan ve insülin üreten β hücreleri selektif olarak tahrip edilmiş sonraki aşamada ise farklı bitki ekstreleri tek tek veya kombine halde verilerek deneklerden alınan kan örneklerinde glukoz değerleri ölçülerek preparatların antihiperglisemik özellikleri ile birlikte farklı dokular üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Mevcut çalışmada STZ sıçanlarda diyabet oluşturmak için kullanılmış ve DN morfolojik, biyokimyasal ve histolojik çalışılmaların ışığında değerlendirilmiştir. Deney hayvanlarında diyabet oluşturmak için kullanılan STZ'nin antitümoral ve antikanserojenik özelliklere sahip toksik ajanların başında geldiği belirtilmiş ve bu maddenin pankreasın langerhans adacıklarında β hücrelerini direkt bir şekilde etkilemek suretiyle toksik etkiler oluşturduğu kaydedilmiştir (Bell and Hye 1983; Szkudelski 2001). STZ'nin sitotoksik etkisi, NAD seviyelerinin azaltılması ve intrasellüler serbest radikallerin oluşturulması ile gerçekleşmiştir (Schneidl *et al.* 1994). Pankreastaki β hücrelerinde NAD seviyesinin düşük olması STZ'nin kolayca hasar oluşturabilmesine yol açmıştır (Gispen and Biessel 2000).

STZ indüklenerek yapılan deneysel diyabet çalışmalarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında diyabetli hayvanların vücut ağırlıklarının önemli ölçüde azaldığı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Carney *et al.* 1979; Bondada and Aksoy vd 2003; Çam vd 2003; Varadacharyulu 2003; Li 2007). Bu araştırmada da benzer bir şekilde STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra yapılan ölçümlerde diyabet grubu hayvanların vücut ağırlıklarının kontrol grubundakilere kıyasla önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. Kilo kaybının çalışmanın 7. ve 14. gününde yapılan ölçümlerde de devam ettiği ve aynı zamanda diyabetli hayvanlarda yem tüketiminin belirgin bir şekilde arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1 ve Şekil 4.3). DM'nin önemli fizyopatolojik olgularından sayılan polifaji, hücrelerin glukozu yeterince kullanamamasından dolayı hastaların çok yemek yemeleri fakat kilo alamamaları aksine kilo kaybetmeleri şeklinde

tanımlanmıştır (Sindhu *et al.* 2004). Ayrıca, idrarla glukoz atılımına bağlı olarak oluşan kalori ve elektrolit kaybı, dehidrasyon ve insülin yetersizliğinden kaynaklanan yağ ve protein katabolizmasındaki artış da DM’de meydana gelen kilo kaybının diğer nedenlerinden sayılmıştır (Yılmaz 1999; Sperling 2002; Rosenbloom and Silverstein 2003; Haller *et al.* 2005). DM’nin neden olduğu kalori kaybını karşılamak için uygulanan oral kalori alımının artırılmasının plazma glukozunu daha da yükseltip glukozüriyi tetiklediği belirtilmiştir. Sonuçta, endojen protein ve yağ depolarının serbest hale geçmesi kilo kaybının önlenememesine neden olmuştur (Gannog 1995). Aynı zamanda, bu çalışmada kontrollerle karşılaştırıldığında diyabetli hayvanlarda su tüketiminin de belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.2). Arulselvan and Subramanian (2007), yaptıkları çalışma ile diyabetli hayvanlarda su tüketiminin kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Bu artışın nedeni şu şekilde açıklanabilmektedir; glukozun hücre içine alınımı ve kullanımındaki azalmaya bağlı olarak ortaya çıkan hiperglisemi canlıda renal glukoz eşığının aşılmasına ve glukozüriye neden olmaktadır. İdrarla şeker atılımı beraberinde suyu da sürükleyeceğinden ozmotikdiürez ve poliüri tablosu oluşmakta, poliüri hipotalamustaki susama merkezini uyarmakta ve volüm noksanlığına bağlı olarak da polidipsi gözlenmektedir (Noyan 1993; Çelik ve Bal 2002).

Bu araştırmanın sonuçlarına göre, PFSE ve CISE’nin artan dozları kontrol grubu hayvanların ne vücut ağırlıkları ne de tükettikleri su miktarları üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye sahip olmamıştır. Diyabetli hayvanlar üzerinde ise *C. islandica* liken türünün tedavi edici etkisi yeterli bir şekilde gerçekleşmemiştir. Nitekim bu likenin uygulanmasıyla DM’nin proteolitik ve lipolitik etkileri yeterince düzeltilememiş ve hayvanların vücut ağırlıkları ile su ve yem tüketimlerinde sadece önemsiz bir iyileşme gözlenmiştir (Şekil 4.1-3). Diğer taraftan, PFSE’nin artan dozlarda bile ne diyabetli sıçanların canlı ağırlıkları üzerinde ne de tükettikleri su miktarları üzerinde herhangi bir şekilde etkili olmadığı yapılan çalışmalardan anlaşılmıştır.

DM, pankreasta insülin üreten β hücrelerinin harabiyeti sonucu oluşan hiperglisemik bir durum olarak tanımlanmıştır (Ho *et al.* 2001). Mevcut çalışmada, 3., 10. ve 17. günde

diyabetli sıçanların kanlarındaki şeker seviyeleri ölçülmüş ve kontrollere kıyasla belirgin artışlar tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). STZ enjeksiyonu sonucunda β hücre harabiyetine bağlı olarak 48 saat sonra deney hayvanlarına ait kan örneklerinde kan şekerinin yükseldiği bildirilmiştir (Hu *et al.* 1996; Chattopadhyay *et al.* 1997). Althunibat *et al.* (2010), yaptıkları çalışmada 55 mg/kg STZ verdikleri sıçanlarda kan şeker düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla önemli derecede arttığını ve 0,6 mg/mL vanadate uygulamasının kan şekeri seviyesini önemli ölçüde düşürdüğünü, *Punica granatum* ekstresinin ise değiştirmedeğini tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada *Achyranthes bidentata*'nın polisakkaritleri diyabetik Sprague-Dawley cinsi sıçanların diyetine katılmış ve sonuçta kan şekeri seviyesinin azaldığı rapor edilmiştir (Xue *et al.* 2009). Manna *et al.* (2009), yaptıkları bir çalışmada, STZ ile Swiss albino sıçanlarda diyabet modeli geliştirmişler ve deneklerin kan şekeri seviyesinin kontrollere kıyasla önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir. Diyabetli hayvanlara arjulonik asit uyguladıklarında ise kan şeker seviyesinin düştüğünü ve diyabet üzerinde faydalı etkilerinin bulunabileceğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada araştırmacılar, kontrol grubunda ilk gün, 3., 10. ve 17. günde kan glukoz değerlerini ölçmüşler ve istatistiksel yönden önemli bir değişiklik bulamamışlar ($p>0,05$), STZ grubunda ise maddenin pankreasta yarattığı tahribata bağlı olarak insülin sentezinin azaldığını ve sonuçta da kandaki şeker seviyesinin önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir ($p<0,05$). Mevcut çalışmada, kullanılan liken diyetleri tek başlarına kandaki şekeri seviyesini etkilememiş, STZ+CISE'nin oral uygulaması ise 10. ve 17. günde ölçülen kan glukoz seviyesini önemsiz bir şekilde düşürmeyi başarmıştır. Üstelik CISE'nin artan dozlarında da bu etki değişmemiş ve bu durum istatistiksel bakımdan önemli bir anlam ifade etmemiştir. ($p>0,05$, Çizelge 4.2). Bir diğer liken türü olan PFSE'nin diyabetli sıçanlara verilmesi ile de kan şeker seviyelerinin diyabetli sıçanlardakinden farklı olmadığı ve likenin hastalık üzerinde herhangi bir olumsuz veya olumlu etkisinin bulunmadığı anlaşılmıştır ($p>0,05$ ve Çizelge 4.2).

Bu çalışmada, diyabetle teşvik edilmiş hiperglisemiye bağlı olarak oksidatif stresin gelişip gelişmediğini tespit edebilmek amacıyla diyabetli hayvanların böbreklerinde MDA seviyeleri ölçülmüş ve kontrollerle karşılaştırıldığında MDA düzeyinin önemli

derecede artış gösterdiği anlaşılmıştır ($p \leq 0,05$) (Çizelge 4.3). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda artan serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun birçok hastalığın patogeneğinde rol oynadığı gösterilmiştir. Oksidatif stresin özellikle diyabet, yaşlanma, üremi, kardiyovasküler hastalıklar, malnütrisyon ve kanser gibi hastalık durumlarında önemi vurgulanmıştır (Altan 2006). Böylece, DM, miyokard enfeksiyonu gibi kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, maligniteler ve yaşlanma dahil bir çok hastalığın oksidatif stres ile ilişkili olarak tetiklendiği belirlenmiştir (Tuomilehto *et al.* 1988; American Diabetes Association National 2002; Satman vd 2002; Memişoğulları vd 2003; Gotoh *et al.* 2005; Memişoğulları 2005; Nan *et al.* 2007). Yapılan çalışmalarda deneysel olarak diyabet oluşturan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda glukozun kanda biriktiği bu yüzden lipidlerin metabolize edildiği vebu durumun diyabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde önemli role sahip olduğu rapor edilmiştir (Goldbourt *et al.* 1980; Pitkanen *et al.* 1992; Cho *et al.* 2002; Manna *et al.* 2009). Bunun yanı sıra, artan oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin, diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olabileceği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Herman *et al.* 1976, Madianov *et al.* 2000). En önemlisi de diyabet sebebiyle gelişen oksidatif stresin böbreklerde nefropatiye neden olduğu yönündeki araştırma bulguları olmuştur (Volkovova *et al.* 1993; Kakkar *et al.* 1997; Craven *et al.* 1997; Vannucchi *et al.* 1999; Xiao *et al.* 2009; Sefiet *al.* 2012; Srinivasan and Pari 2012). DM sonucunda metabolize edilemeyen glukozun kanda biriktiği, enerji üretiminin lipidlerle sağlanması sonucunda ise zararlı serbest radikallerin arttığı belirtilmiştir (Cho *et al.* 2002). Bu nedenle, birçok araştırmacı diyabet çalışmalarında artan lipid peroksidasyon ürünlerinin miktarını zincir reaksiyonlarının son ürünü olan Malondialdehit (MDA) seviyesini ölçerek değerlendirmiştir (Mekinova *et al.* 1995; Tamer vd 1997; Arulselvan and Subramanian 2007; Li 2007; Cemek *et al.* 2008). MDA'nın proteinlerle birleşerek yüksek moleküllü proteinler oluşturduğu, disülfid köprülerinin oluşumu, deaminasyon ve nonenzimatik glukozilasyona sebep olduğu görülmüştür (Boscia *et al.* 2000). MDA miktarının lipid peroksidasyonunun derecesini gösterdiği belirtilmiş (Halliwell 1994), Jang *et al.* (2000), yaptıkları bir çalışma ile diyabet oluşturulmuş sıçanların böbrek ve karaciğer mitokondrilerinde MDA seviyesinin önemli derecede arttığını tespit etmişlerdir. Benzer bulgular diyabetik sıçanların böbreklerinde farklı araştırmacılar

tarafından da kaydedilmiştir (Mukherjee *et al.* 1994; Zhang *et al.* 2000). Faure *et al.* (1993) ve Vantighem *et al.* (2000) ise MDA düzeyinin DM'li hastalarda oksidatif stresle bağlantılı olarak arttığını göstermişlerdir.

Diyabetin patogeneğinde ve komplikasyonlarının oluşmasında SR'lerin önemli rol oynadığının bilinmesi, bu hastalığın oluşumunu ve ilerlemesini önleyici oral antidiyabetik, insülin ve çeşitli ajanların yanı sıra antioksidan etkili maddeler ve vitaminlerin kullanılabileceği düşüncesinin yaygınlaşmasına neden olmuştur (Ceriello *et al.* 1988). Bu kapsamda Althunibat *et al.* (2010) yaptıkları çalışmada, STZ enjeksiyonu sonucunda diyabetik sıçanların böbrek, karaciğer ve plazmalarında MDA seviyelerinin anlamlı bir şekilde arttığını ve bu artışın *P. granatum*'a ait kabuk ekstresinin verilmesi ile önlendiğini rapor etmişlerdir. Diğer bir çalışmada Li (2007), tek doz STZ'nin sıçanların kan, böbrek ve karaciğer dokusunda MDA seviyelerini kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artırdığını belirtmiş ve bu artışın uygulanan *Lycium barbarum*'a ait polisakkaritlerle doza bağlı bir şekilde azaltıldığını kaydetmiştir. Bu çalışmada ise iki farklı liken türünün hem tek başlarına hem de diyabetli sıçanların böbrekleri üzerindeki oksidatif etkileri doza bağlı olarak değerlendirilmiş ve CISE ile PFSE'nin çalışılan doz aralığında kontrollere ait böbrek dokularında MDA seviyelerini etkilemediği görülmüştür (Şekil 4.8 ve 4.11). Bunun sonucunda likenlerin tek başlarına oksidatif stresi teşvik etmedikleri anlaşılmıştır. Diğer taraftan, diyabetli gruplara tedavi amacıyla 250 mg/kg CISE uygulandığında belirgin olmayan bir MDA düşüşü gözlenmiş ($p>0,05$), çalışılan parametreler uygulanan likenin artan dozuna (500 mg/kg) rağmen herhangi bir değişiklik göstermemiştir. 250 mg/kg PFSE ise kontrollere ait böbrek dokusunda MDA seviyesinde herhangi bir değişikliğe yol açmamış benzer durum diyabetli hayvanların böbreklerinde de söz konusu olmuştur (Şekil 4.11). Bu durum 500 mg/kg PFSE dozunda da devam etmiştir. Sonuçta, bu araştırmanın sonuçları ile CISE diyabetik gruplarda oksidatif stres üzerinde zayıf bir şekilde etkili olurken PFSE'nin etkisiz kaldığı anlaşılmıştır.

Mevcut çalışmanın sonuçlarına göre diyabetli hayvanlarda SOD aktivitesi ve GSH düzeyi kontrollere kıyasla önemli bir şekilde azalmış ve bu durum istatistiksel bakımdan

anlamli bulunmuştur ($p<0,05$). Sağlıklı bireylerin doku hücrelerinde serbest radikallerin ve antioksidanların denge halinde bulunduğu, bu dengenin bozulması sonucunda biyolojik makromoleküllerde postsentetik modifikasyonların olduğu ve bu durumdan özellikle de ekstrasellüler proteinlerin etkilendiği bildirilmiştir. Bu proteinlerce zengin olan yapılarıdaki değişikliklerin nefropati, katarakt ve ateroskleroz'a yol açtığı kaydedilmiştir (Hagglof *et al.* 1983; Baynes 1991). Diyabet hastalığında antioksidan aktivitenin azaldığı ve oksidatif stres durumunun geliştiği tespit edilmiştir (Hagglof *et al.* 1983; Belce ve Kökoğlu 1994; Dierckx *et al.* 2003; Memişoğulları vd 2003; Memişoğulları ve Bakan 2004; Memişoğulları 2005). Wu *et al.* (1999), diyabet geliştirilen sıçanlarla yaptıkları çalışmada böbrek dokusunda SOD aktivitesinin 8. ve 16. Haftalarda anlamlı şekilde azaldığını rapor etmişlerdir. Benzer bir şekilde Montilla *et al.* (2005) diyabet grubu hayvanların hem beyin hem de böbrek dokularında lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığını buna karşılık SOD aktivitesi ve GSH miktarının azaldığını kaydetmişlerdir. Benzer bulgular farklı araştırmacılar tarafından da diyabetik nefropatili sıçanların böbrek dokusunda rapor edilmiştir (Cao *et al.* 2004; Morsy *et al.* 2010; Luo *et al.* 2010; Mansouri *et al.* 2011; Ramachandran *et al.* 2011; Sadi vd 2011). Alloxan ile diyabet geliştirilmiş sıçan böbrek dokusunda da kontrollere kıyasla SOD aktivitesinde ve GSH miktarında önemli azalmalar tespit edilmiş (Udayakumar *et al.* 2010) ancak bir çalışmada diyabetli sıçanların böbrek dokusunda GSH seviyesinin arttığı belirtilmiştir (Zúrová-Nedelcevoá *et al.* 2006). Diğer taraftan, STZ'nin diyabetojenik etkilerine karşı SOD enziminin koruyucu rolü tespit edilmiş (Hagglof *et al.* 1983; Wolff 1993; Belce ve Kökoğlu 1994) ayrıca hücresel sistemin lipid peroksidasyonuna karşı GSH ile korunduğu beyan edilmiştir (Nicotera and Orrenius 1986). Böylece, diyabetik bireylerde koruyucu olarak kullanılacak maddelerin antioksidan kapasitelerini değerlendiren birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birisinde insülin tedavisinden sonra SOD düzeyinde artış, GSH-Px aktivitesinde ise azalma olduğu belirtilmiştir (Seghrouchni *et al.* 2002). Diyabetik sıçanların farklı dokularında da (karaciğer, böbrek, kalp ve aort) artmış olan MDA seviyesinin *Morus alba* yaprak ekstresi ile azaldığı rapor edilmiştir (Naowaboot *et al.* 2009). *Apocynum venetum* ekstresinin diyabetli hayvanlarda MDA seviyesini azalttığı, SOD ve GSH aktivitelerini artırarak böbrekteki oksidatif stresi engellediği rapor edilmiştir (Chen *et al.* 2010). Bir başka çalışmada, diyabetik sıçanlara nar suyu ekstresi verilmiş SOD ve

GSH seviyesinde önemli artışlar kaydedilmiştir (Mohan *et al.* 2010). Benzer bir şekilde, diyabetik sıçanların böbrek dokularında *Ocimum sanctum* (Muralikrishnan *et al.* 2011) ve Proanthocyanidin ekstrelerinin (Mansouri *et al.* 2011) lipid peroksidasyonu ve antioksidan kapasite üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği çalışmalarda SOD aktivitesinde artışlar söz konusu edilmiştir. Karuna *et al.* (2011), streptozotocin ile diyabet oluşturulmuş sıçanların böbrek dokusunda LPO ve oksidan proteinlerin arttığını gözlemişler tedavi amacıyla diyabet grubuna *Phyllanthus amarus* sulu ekstraktı uyguladıklarında ise LPO ve oksidan proteinlerde önemli bir düşüş aksine GSH miktarında önemli bir artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Xue *et al.* (2011), diyabetik sıçanların böbrek fonksiyonu ve morfolojisi üzerine *Trigonella foenum graecum* çekirdeği ekstresinin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmalarında diyabet grubunda SOD ve CAT aktivitelerinde azalma MDA miktarında artma gözlemişler, *Trigonella foenum graecum* çekirdeği ekstresinin uygulandığı grupta ise antioksidan aktivitenin arttığını rapor etmişlerdir. Diğer taraftan, alloksan uygulanarak diyabet yapılmış sıçanların böbreklerinde LPO seviyesinin arttığı SOD aktivitesinin azaldığı tespit edilmiş, *Eucalyptus globulus* ekstresi uygulandığında ise LPO seviyesinin azaldığı ve SOD aktivitesinin arttığı gözlenmiştir (Ahlem *et al.* 2009). Benzer bir şekilde, Tripathi and Chandra (2010), alloksan ile diyabet oluşturulmuş sıçanların kalp, böbrek ve karaciğerlerinde SOD, lipid peroksidasyonu ve glutatyon seviyelerini ölçmüşler, kalp ve böbrek gibi hayati organları korumada azalan bu parametrelerin antioksidan potansiyele sahip *M. charantia* ve *T. foenum graecum* ekstreleri ile korunabileceği kanaatine varmışlardır. Mevdut çalışmada, CISE'nin antioksidan kapasitesini belirleyebilmek amacıyla SOD ve GSH seviyesi ölçülmüş ve 250 ve 500 mg/kg dozlarında CISE'nin tek başına verildiği gruplarda SOD ve GSH düzeyinin kontrol gruplarına kıyasla belirgin bir şekilde artırdığı saptanmıştır ($p<0,05$). Böylece, CISE'nin antioksidan kapasitesinin yüksek olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.6 ve 4.7). CISE'nin doğal ve potansiyel bir antioksidan madde olduğu daha önce yapılan çalışmalarla da belirlenmiştir (Gülçin *et al.* 2002; Kosanic and Ranković 2011). Diyabetik hayvanlara tedavi amacıyla 250 mg/kg CISE verildiğinde SOD aktivitesinin ve GSH miktarının kontrollerdekine kıyasla arttığı gözlenmiş (Şekil 4.6 ve 4.7) ancak sonuçlar istatistiki bakımdan herhangi bir anlam ifade etmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.3). Benzer durum 500 mg/kg CISE dozunda da söz konusu olmuştur. Böylece,

diyabetle teşvik edilmiş olan oksidatif stresin CISE'nin uygulamasıyla önlenemediği anlaşılmıştır. Diğer taraftan, 250 ve 500 mg/kg PFSE uygulaması ile böbrek dokusunda PFSE'nin orta düzeydeki antioksidan etkisi SOD ve GSH aktivitesinin artışı ile gözlenmiştir (Şekil 4.9 ve 4.10), PFSE'nin doza bağlı etkileri değerlendirildiğinde ise diyabetli grupların böbrekleri üzerinde herhangi bir iyileştirme yapamadığı anlaşılmıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.3). Bu çalışmadakine benzer bir şekilde in vitro ortamda dalikenin antioksidan özelliği tespit edilmiş (Odabaşoğlu *et al.* 2004; Kosanic and Ranković 2011) ancak bu özellik mevcut çalışmada böbrekteki oksidatif stres durumunun önüne geçememiştir.

Böbrekler diyabetin en önemli hedef organlarından birisi olarak kabul edilmiş ve DN sonucu böbrekte meydana gelen yapısal değişiklikler, organın bütün bölümlerini kapsamakla birlikte en karakteristik hasarlar glomerüllerde gözlenmiştir (Osterby *et al.* 1999). Böbrek dokusundaki değişiklikler Tip 1 ve Tip 2 diyabet hastalarında belirgin bir farklılık göstermemiştir. Her iki tipte de DN ile glomerüler ve interstisyel lezyonların dikkat çekici bir şekilde geliştiği rapor edilmiştir (Dal la *et al.* 2000; White *et al.* 2007). Mevcut araştırmada kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında diyabetli grupların glomerülüslerindeki başlıca lezyonlar; glomerül bazal membran (GBM) kalınlaşması, mezenşimal matriks artışı, Bowman mesafesinde daralma, Bowman kapsülü parietal yaprağında kalınlaşma, diffüz glomerüloskleröz, nodüler glomerüloskleröz (Kimmelstiel-Wilson nodülü) olarak tespit edilmiş ve aynı zamanda böbrek dokusunda tübüllerin fırçamsı kenarlarında dejenerasyonlar, tübüller dilatasyon, atrofi, hipertrofi, tübül bazal membranlarında kalınlaşma, arterioskleröz ile interstisyel fibrözis gibi patolojik bulgular gözlenmiştir. Bu tip patolojik bulgular DN'de farklı araştırmacıların çalışmalarında da kaydedilmiştir. İlk karakteristik değişikliklerin glomerüllerde hacim artışıyla başladığı bunu takiben çeşitli glomerüler lezyonların geliştiği tespit edilmiştir (Gilbert and Cooper *et al.* 1999; Gürel 2004). Glomerüler lezyonların en önemlileri arasında kapiller bazal membran kalınlaşmaları, diffüz glomerüloskleröz ve nodüler glomerüloskleröz sayılmıştır. Bunun yanı sıra mezenşimal hücre proliferasyonu ve beraberinde mezanşimal matrikste diffüz artış gözlenmiştir (Kumar *et al.* 2000; De Cavanagh *et al.* 2001). Diğer önemli bulgular olarak glomerül ve tübüllerde hipertrofi,

tübüler vakuolizasyon, tübüler dilatasyon, glomerül ve tübül bazal membranlarında kalınlaşma, arteriolar hiyalinozis ve glomerüllerde hücre artışı rapor edilmiştir (Cortes *et al.* 1987; Tucker *et al.* 1991; New *et al.* 1996; Dönmez 2008). Yine diyabetin böbrekler üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Chacko *et al.* (2010) ve Saito *et al.* (2011), DN sonucunda glomerüler ve tübüler bozuklukların yanı sıra tübülointerstisyel fibröziste artışın olduğunu rapor etmişlerdir. Schwartz *et al.* (1998), çalışmalarında diyabetli hastalarda Kimmelstiel-Wilson nodüllü diyabetik glomerüloskleröz, Sharma *et al.* (2003), diyabetik fare modellerinde diyabetik hastalarda olduğu gibi renal hipertrofi ve diğer araştırmacıların kaydettiklerine benzer patolojik bulguların varlığını gözlemişlerdir. Bu çalışmada sıçan böbrek tübüllerinde atrofi, hipertrofi ve dilatasyonlar ile birlikte proksimal tübüllerin fırçamsı kenarlarında dejenerasyonlar dikkat çekmiş benzer bulgular farklı araştırmacılar tarafından da STZ veya alloxan uygulaması sonucunda diyabetik sıçanlarda kaydedilmiştir (Evan *et al.* 1984; Özcan vd 1992). Gürel (2004) ve Siddiquia *et al.* (2010) araştırmalarında STZ ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda bu patolojik bulguların yanı sıra tübüllerde proteinüri tespit etmişler bu durum mevcut çalışmada da gözlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada, diyabetik hayvanlarda literatür bulgularıyla paralellik sağlayacak şekilde Bowman kapsülü parietal yaprağında kalınlaşma görülmüştür (Öztürk vd 2005). DN patogenezinde hipergliseminin rolü deneysel hayvan modelleri ve insanlarla yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Coimbra *et al.* 2000; Nangaku *et al.* 2005). Peritübüler mikrosirkülasyon ve bunu takip eden tübüler hasarların hiperglisemi sonucunda geliştiği ve bunun da oksidatif stres ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Wolf *et al.* 1991). Tübüler hücrelerin diyabet nedeniyle artan glukozun hedef hücreleri olduğu belirtilmiş ve bu durum araştırmacılar tarafından şu şekilde açıklanmıştır. Glukoz emiliminin insülinin bağımsız olarak gerçekleşmesi bu substratın plazmadaki seviyesini artırmakta (Bleyer *et al.* 1994) buna bağlı olarak glomerüler filtrattaki aşırı glukoz düzeyi proksimal tübüllerden glukozun emiliminin artmasına ve gelişen hiperglisemi sonucunda da söz konusu tübüllerde intrasellüler glukoz birikimine yol açmaktadır (Phillips *et al.* 1997; Jones *et al.* 1999). Böylece, tübüllerdeki glikojen birikiminin hücre ölümüne kadar giden hücresel hasarlara rehberlik ettiği (Dunlop 2000) ve oksidatif stres ürünleriyle birlikte dokuda belirgin bir yapısal değişikliğe sebep olduğu belirtilmiştir (Xiao *et al.* 2009). Bunların sonucunda, DN ile birlikte böbrek tübül hücrelerinde histolojik

değişikliklerin meydana geldiği gözlenmiştir. Mevcut araştırmada, Doğan vd (2011) kaydettiklerine benzer şekilde diyabetin bir sonucu olarak tübüllerde glikojenik vokualizasyonların geliştiği ve şeffaf görünümlü tübüllerin (Armanni-Ebstein lezyonları) varlığıyla birlikte bu duruma diğer histopatolojik bulguların da eşlik ettiği görülmüştür. Kontrol altına alınamayan glukozürili hastalarda, tübül epitelinde glukozun reabsorbe edilerek glikojen olarak depolandığı tespit edilmiştir (Kumar *et al.* 2000). Günümüzde Armanni- Ebstein lezyonlarının bir hastalık belirtisi olmaktan çok tübüler sıvıda yüksek yoğunluktaki glukozun geri emilimi sonucu glikojen birikiminin bir işareti olduğu saptanmıştır (Büyükdevrim vd 2005). Mevcut çalışmada literatürde belirtilen patolojik bulgulara ilaveten böbrek dokusunda lenfosit infiltrasyonu ve konjesyon tespit edilmiştir. Diyabetik sıçan böbreklerinde glomerüler hipertrofi ve ultrafiltrasyonun bir sonucu olarak konjesyonun ve aynı zamanda nefropatinin gelişme ve ilerlemesine bağlı olarak da inflamasyon prosesinin olduğu gösterilmiştir (Zurnadzhi *et al.* 1987; Marion and Carlson 1989; Moon *et al.* 2012). Mevcut araştırmada, 250 mg/kg CISE'nin antioksidan özelliği diyabet grubu hayvanların böbrek dokusunda glikojenik vakuolizasyonu, konjesyonu ve lenfosit infiltrasyonunu azda olsa düzeltmiştir. Ancak glomerülusta mezenşimal matriks artışı, ayırt edilemeyen Bowman mesafesi, bazı tübüllerde dilatasyonun ve atrofinin devam ettiği gözlenmiştir. Ayrıca seyrekte olsa arterioskleroze rastlanmıştır. CISE'nin diyabetli gruplardaki bu zayıf koruyucu etkisi artan dozuna rağmen değişiklik göstermemiştir. Diğer çalışma materyali olan PFSE ise orta düzeyde antioksidan kapasiteye sahip olmasına rağmen STZ'nin böbrek dokusu üzerindeki histopatolojik etkilerini düzeltememiş sadece çok belirgin olmamakla birlikte böbrek dokusunda meydana gelen konjesyonda zayıf bir azalmaya neden olmuştur ve bu durum artan dozunda da değişmemiştir.

Sonuç olarak, STZ ile Tip 1 diyabet oluşturulmuş sıçanların böbreklerinde biyokimyasal parametreler ve histolojik çalışılmaların ışığında literatürde kaydedilene benzer bulgular gözlenmiştir. Diğer taraftan, *C. islandica* ve *P. furfuracea* liken türlerine ait sulu ekstraktların tek başlarına böbrekler üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye sahip olmadıkları değişmeyen MDA değerleri ve patolojik çalışmalarla tespit edilmiştir. Diyabetik hayvanlara tedavi amacıyla uygulanan CISE'nin enerji ve su metabolizmasını

olumlu yönde etkilediği ancak hayvanların canlı ağırlıklarını yeterli düzeyde koruyamadığı, kandaki şeker seviyesini diyabetli gruplarda anlamsız bir şekilde düşürdüğü ve böbrek dokusundaki SOD, GSH ve MDA düzeyleri üzerinde de benzer bir etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. Aynı zamanda çalışılan liken türünün böbreğin patolojik hasarları üzerinde çok zayıf bir şekilde tedavi edici olduğu görülmüş ve elde edilen sonuçlar doza bağlı olarak değişmemiştir. *P. furfuracea* liken türünün ise CISE'ye kıyasla yukarıdaki parametreler üzerinde daha az etkisinin olduğu ve bu durumun da likenin orta düzeydeki antioksidan özelliğinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Nitekim bu araştırmanın sonuçlarına göre CISE diyabetik grupların böbrek dokusunda oksidatif stres üzerinde zayıf bir şekilde etkili olurken PFSE etkisiz kalmıştır. Böylece, halk arasında yaygın bir şekilde kullanılan bu liken türlerinin hem sağlıklı hem de diyabetli bireyler tarafından güvenilir bir şekilde tüketilebileceği, bu likenlerden CISE'nin diyabetli hayvanlar ve böbrekleri üzerinde yeterince tedavi edici özelliğinin olmamasına rağmen uygulanan dozlarda diyetle ilavesinin fayda sağlayacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Ahlem, S., Khaled, H., Wafa, M., Sofiane, B., Mohamed, D., Jean-Claude, M., Abdelfattah, el F., 2009. Oral administration of Eucalyptus globulus extract reduces the alloxan-induced oxidative stress in rats. *Chem Biol Interact.*, 14, 181 (1), 71-6.
- Akkuş, I., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya. s. 1-95.
- Akkuş, I., Kalak, S., Vural, H., Çağlayan, O., Menekşe, E., Can, G., Durmuş, B., 1996. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin c levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*, 244, 221-227.
- Akpan, J.O., 1989. Reduction in blood and urine glucose levels in streptozotocin and alloxan diabetes by phenazine methosulfate. *Acta Diabetol Lat*, 26 (3), 195-201.
- Akpolat, T., Utaş, C., Süleymanlar, G., 1996. Nefroloji El Kitabı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1-23.
- Aksoy, N., Vural, H., Sabuncu, T., *et al.* 2003. Effects of melatonin on oxidative antioxidative status of tissues in streptozotocin-induced diabetic rats, *Cell Biochemistry and Function*, 21, 121-125.
- Alarcón de la Lastra, C., Nieto, A., Martín, M.J., Cabré, F., Herrerías, J.M., Motilva, V., 2002. Gastric toxicity of racemic ketoprofen and its enantiomers in rat: oxygen radical generation and COX-expression. *Inflammation Research*, 51 (2), 51-57.
- Alemzadeh, R., Wyatt, D.T., 2004. Diabetes Mellitus. In: Behrman R.E, Kliegman R.M, Jenson H.B (eds), *Nelson Textbook of Pediatrics*, 17 edition. Ennsylvania, Elsevier Saunders, 1947-1972.
- Allen, A.C., 1962. The Kidney's medical and surgical diseases. Grune and Scratton.
- Altan, N., Sepici-Dincel, A., Koca, C., 2006. Diabetes mellitus ve oksidatif Stres. *Turk J Biochem*, 31 (2), 51-56.
- Altan, N., Yiğit, Ş., Elmalı, E., Malhatun, E., Rota, S., Kılıç, N., 1997. Effects of the Sulfonylurea Glyburide on Superoxide Dismutase in Streptozotocine-Induced Diabetic Rat Muscle. *General Pharmacology*, 28(5), 795-796.
- Althunibat, O.Y., Al-Mustafa A.H., Tarawneh, K., Khleifat, K.M., Ridzwan, B.H., Qaralleh, H., 2010. Protective role of *Punica granatum* L. peel extract against oxidative damage in experimental diabetic rats. *Process Biochemistry*, 45 (4), 581-585.
- Altınparmak, M.R., Apaydın, S., 2001 Diabetik nefropati. İn: Yenigün M, Altuntaş Y, editörler. Her yönüyle diabetes mellitus. 2inci baskı, Nobel tıp kitabevi, İstanbul, 337- 402.
- American Diabetes Association (ADA), 2002. National diabetes fact sheet. <http://www.diabetes.org/diabetes-statistics.jsp>
- American Diabetes Association (ADA), 2006. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 29 (1), 43-48.
- Andallu, B., Varadacharyulu, N.Ch., 2003. Antioxidant role of mulberry (*Morus indica* L. cv. Anantha) leaves in streptozotocin-diabeticrats. *Clinica Chimica Acta*, 338, 3-10.

- Anonim, 2011a. <http://www.realmagick.com/pancreas-anatomy/> (erişim tarihi 06.12.2011).
- Anonim, 2011b. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Diyabet> (erişim tarihi 06.09.2011).
- Anonim, 2011c. <http://www.biriyilik.com/saglik/bobrek-yapisi-48694.html> (erişim tarihi 24.07.2011).
- Anonim, 2011d. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf> (erişim tarihi 08.09.2011).
- Anonim, 2011e. http://www.sekerhastaligi.info/tip1_diyabet.htm (Erişim tarihi 21.06.2011).
- Anonim, 2011f. http://www.sekerhastaligi.info/tip2_diyabet.htm (Erişim tarihi 21.06.2011).
- Anonim, 2011g. <http://www.canlibilimi.com/bobrek-nedir-bobrekler-hakkinda.asp> (erişim tarihi 24.07.2011).
- Anonim, 2011h. <http://www.haberturk.com/saglik/haber/670720-her-10-saniyede-1-kisi-ondan-oluyor> (erişim tarihi 07.12.2011).
- Aras, B., 2008. Streptozosin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda Pirolidyum dithiyokarbamat'ın böbrek dokusu üzerine koruyucu etkisi. Uzmanlık Tezi, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, İstanbul.
- Arulselvan, P., Subramanian, S.P., 2007. Beneficial effects of *Murraya koenigii* leaves on antioxidant defense system and ultra structural changes of pancreatic b cells in experimental diabetes in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 165 (2), 155-164.
- Aslan, A., 1995. Erzurum-Kars-Artvin Arasında Yer Alan Bölge Likenleri Üzerine Taksonomik İncelemeler. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Aslan, A., 2000. Lichens from the Regions of Artvin, Erzurum, and Kars, Turkey. *Israel Journal of Plant Sciences*, 48, 143-155.
- Aslan, A., Güllüce, M., Sökmen, M., Adıgüzel, A., Şahin, F. ve Özkan, H., 2006. Antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Evernia divaricata*, *Evernia prunastri* and *Neofuscella pulla*. *Pharmaceutical Biology*, 44, (4), 247-252.
- Aslan, A., Yazici, K., Karagöz, Y., 2002. Lichen flora of the Murgul district Artvin, Turkey. *Israel J Plant Sci*, 50 (1), 77-81.
- Aughsteen, A.A., 2000. An ultrastructural study on the effect of streptozotocin on the islets of Langerhans in mice. *J Electron Microsc (Tokyo)*, 49 (5), 681-690.
- Avcı, A., 2001. Diyabet oluşturulmuş ratlarda böbrek antioksidan savunma sistemi ve e vitamininin etkileri. Uzmanlık Tezi, Ankara Üni. Tıp Fakültesi, Ankara.
- Ayalp, P., 2008. Tip 2 Diabetes Mellitus'lu hastalarda kendi kendine kan glukozu ölçüm sıklığı ile hemoglobina1c arasındaki ilişki. Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği, İstanbul.
- Ayas, B.K., 2007. Deneysel olarak ülser olusturulan ratlarda *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. isimli likenden elde edilen metanol ekstratlarının antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Aydın, M., 2008. Ratlarda diyabetik nöropati de rol oynayan oksidatif hasarın önlenmesinde likopenin etkinliği. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Vet) Anabilim Dalı, Hatay.

- Bağrıaçık, N., 1997a. Diabetes Mellitus: tanımı, tarihçesi, sınıflaması ve sıklığı. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Diabetes Mellitus Sempozyumu, 9-18, 18 - 19 Aralık, İstanbul.
- Bağrıaçık, N., 1997b. Diabetes Mellitus: Tanımı, Tarihçesi, Sınıflaması ve Sıklığı. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Diabetes Mellitus Sempozyum, 18 - 19 Aralık, İstanbul, 9-18.
- Bağrıaçık, N., 1999. Diabet ve Metabolizma Hastalıkları, Türk Diabet ve Obezite Vakfı Yayınları, 1, 57-73, 120-143.
- Bancroft, J.D. and Stevens, A., 1982. Theory and practice of histological techniques. Churchill livingstone, edinburgh (2nd ed.), 662.
- Bast, A., Haenen, G.R.M.M., Cees, J.A.D., 1997. Oxidants and antioxidants: State of the art. The American Journal of Medicine, 91, 13.
- Başaga, H.S., 1990. Biochemical aspect of free radicals. Biochem. Cell Biol, 68, 989-998.
- Başaran, A., 2005. Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı, Güneş & Nobel Tıp Kitapevleri, Genişletilmiş 7. Baskı.
- Başkurt Aladağ, N., 2008. Tip 2 Diabetes Mellituslu hastalarda Mikroalbuminüri ve serum ürik asit Seviyeleri Arasındaki İlişki. İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Haydarpaşa numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5. İç hastalıkları Kliniği, İstanbul.
- Baynes, J.W., 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Diabetes, 40, 405.
- Belce, A., Kökoğlu, E., 1994. Superoksid Dismutaz ve Diyabet. Klinik Gelişim, 7, 2979-81.
- Bell, R.H., Hye, R.J., 1983. Animal Models of Diabetes Mellitus: Physiology and Pathology. Journal of surgical Research, 35 (5), 433-460.
- Bhogavan, N.V., 2001. Medical Biochemistry, Harcourt Academic Press, 4. Edition, 197-202.
- Bierhaus, A., Chevion, S., Chevion, M., Hofmann, M., Quehenberger, P., 1997. Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappa B is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. Diabetes, 46 (9), 1481-1490.
- Blasiak, J., Arabski, M., Krupa, R., Wozniak, K., Zadrozny, M., Kasznicki, J., Zurawska, M. and Drzewoski, J., 2004. DNA damage and repair in type 2 diabetes mellitus. Mutation Research, 554, 297-304.
- Bleyer, A.J., Fumo, P., Snipes, E.R., Goldfarb, S., Simmons, D.A., Ziyadeh, F.N., 1994. Polyol pathway mediates high glucose-induced collagen synthesis in proximal tubule. Kidney Int., 45, 659-666.
- Bohle, A., Wehrmann, M., Bogenschutz, O., Batz, C., Muller, G.A., 1991. The pathogenesis of chronic renal failure in diabetic nephropathy: investigation of 488 cases of diabetic glomerulosclerosis. Pathol Res Prac, 187, 251-259.
- Bondada, A., Varadacharyulu, N.C., 2003. Antioxidant role of mulberry (*Morus indica* L. cv. Anantha) leaves in streptozotocin-diabetic rats. Clinica Chimica Acta, 338 (1-2), 3-10.
- Bone, A.J., Gwillam, D.J., 1998. Animal models of insulin-dependent diabetes mellitus. Textbook Diabetes, 16, 8.

- Boner, G., Cao, Z., and Cooper, M.E., 2002. Combination Antihypertensive Therapy in the Treatment of Diabetic Nephropathy. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 4 (3), 313-321.
- Bonnefont-Rousselot, D., 2002. Glucose and reactive oxygen species. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 5 (5), 561-568.
- Boscia, F., Grattagliano, I., Vendemiale, G., Micelli-Ferrari, T., Altomare, E., 2000. Protein oxidation and lens opacity in humans. *Invest. Opht. Vis. Sci.*, 41, 2461-2465.
- Boustie, J., Grube, M., 2005. Lichens a promising source of bioactive secondary metabolites. *Plant Genetic Resources*, 3(2), 273-287.
- Brodo, I.M., Sharnoff, S.D., Sharnoff, S., 2001. *Lichens of North America*. Yale University Press, First published, 795 pp, London.
- Brownlee, M., 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414 (6865), 813-820.
- Bulger, R.E., 1979. *Kidney Morphology*. Strauss and Wellis, Diseases of kidney. Little&Brown Company.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R., 2005. *Klinik Kimyada Temel İlkeler*, Palme Yayıncılık, Besinci Baskıdan Çeviri. Ankara. 839-853.
- Büyükdevrim, S.A., Büyükbeşe, M.A., Davutoğlu, M., 2005. Diabetik nefropati. *Klinik moleküler patogenezi klasik ve moleküler tedavi*. Turgut yayıncılık, İstanbul, 84-89, 114-128, 119-136, 136-342, 481-485, 432-529.
- Büyükdevrim, S.A., Yılmaz, M.T., Satman, İ., Dinççağ, N., Karşıdağ, K., Adluntaş Y., 1996. *Diabetolojiye giriş, Laboratuvar ve klinik tanı kriterlerinin standardizasyonu*.
- Candan, S., 2002. *Nikel ve oksidatif stres*. Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara.
- Cansaran Duman, D., 2008. *Liken ve moleküler biyoloji*. Türkiye Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 65 (1), 43-50.
- Carlos, J., Jose, C., Robert, O., Kelley, A., 1998. *Lange Medical Book*. Çevirieditörleri, Aytekin, Y., Solakoğlu, S., 2006. *Temel Histoloji*. Ankara: Nobel Tıp Kitapları, 328-347, 420-423 s.
- Carney, S.L., Wong, N.L., Dirks, J.H., 1979. Acute effects of streptozotocin diabetes on rat renal function. *J Lab Clin Med*, 93, 950-961.
- Casselman, K.D., 2001. *Lichen dyes: The new source book*. Dover Publications, Mineola.
- Catani, M.V., Savini, I., Rossi, A., Melino, G., Avigliano, L., 2005. Biological role of vitamin C in keratinocytes. *Nutr Rev*, 63(3), 81-90.
- Cavalier-Smith, T., 1998. A revised six-kingdom system of life. *Systema Naturae*, 73, 203-266.
- Cemek, M., Kağa, S., Şimsek, N., Büyükokuroğlu, M.E., Konuk, M., 2008. Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Matricaria chamomilla* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *J NatMed*, 62, 284-293.
- Ceriello, A., Giugliano, D., Quatro, A., Dello Russo, P., Torella, R., 1988. A preliminary note on inhibiting effect of alpha-tocopherol vit. E on protein glycation. *Diabetes Metab*, 14 (1), 40-42.
- Chacko, B.K., Reily, C., Srivastava, A., Johnson, M.S., Ye, Y., Ulasova, E., Agarwal, A., Zinn, K.R., Murphy, M.P., Kalyanaraman, B., Darley-Usmar, V., 2010.

- Prevention of diabetic nephropathy in Ins2(+/-)(AkitaJ) mice by the mitochondria-targeted therapy MitoQ. *Biochem J.*, 15, 432 (1), 9-19.
- Champe, P.C., Harvey, R.A., 1997. Lippincott's illustrated review. Türkçe: Tokulligil A, Dirican M, Ulukaya E. Lippincott's Illustrated Reviews serisinden biyokimya, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 300–350.
- Chappey, O., Dosquet, C., Wautier, M.P., Wautier, J.L., 1997. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *Eur J Clin Invest*, 27(2), 97-108.
- Chattopadhyay, S., Ramanathan, M., Das, L., Bhattacharya, S.K., 1997. Animal models in experimental diabetes mellitus. *Indian J Exp Biol*, 35, 1141-5.
- Chen, H.Y., Wang, J.H., Geng, M., Wu, X.Q., Yan, L., Huang, K., Shao, L.M., Yang, X.B., Huang, Z.M., 2010. Protective effect of extract of *Apocynum venetum* on kidneys of streptozotocin-induced diabetic rats. *Yao Xue Xue Bao*. Jan, 45 (1), 26-30.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C., 2005. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*, 39, 841- 852.
- Cho, S.Y., Park, J.Y., Park, E.M., Choi, M.S., Lee, M.K., Jeon, S.M., Jang, M.K., Kim, M.J., Park, Y.B., 2002. Alternation of hepatic antioxidation enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementantation of dandelion water extract. *Clin Chim Acta*, 317, 109-117.
- Cochran, C.G., 1991. Cellular injury by oxidants. *Am J Med*, 92, 235-305.
- Coimbra, T.M., Janssen, U., Grone, H.J., Ostendorf, T., Kunter, U. and Schmidt, H., *et al.*, 2000. Early events leading to renal injury in obese Zucker (fatty) rats with type II diabetes. *Kidney Int*, 57, 167–182.
- Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroğlu, M., Lunec, J., 2003. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. *FASEB J.*, 17 (110) 1195-214.
- Cortes, P., Dumler, F., Goldman, J., Levin, N.W., 1987. Relationship between renal function and metabolic terations in early streptozocin induced diabetes in rats. *Diabetes*, 36 (1), 80-7.
- Covington, D.S., Xue, H., Pizzini, R., Lally, K.P., Andrassy, R.J., 1993. Streptozotocin and alloxan are comparable agents in the diabetic model of impaired wound healing. *Diabetes Res*, 23 (2), 47-53.
- Craven, P.A., De Rubertis, F.R., Kagan, V.E., Melhem, M., Studer, R.K., 1997. Effect of supplementantation with vitamin C or a albuminuria glomerular TGF-beta and glomerular size in diabetes. *J Am Soc Nephrol*, 8 (9), 1405-14.
- Cross, C.E., Halliwell, B., Allen, A., 1984. Antioxidant protection: a function of tracheobronchial and gastro-intestinal mucus. *Lancet*, 1328–1329.
- Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.L., McCord, J.M., Harman, D., 1987. Oxygene radicals and human disease. *Ann. Intern. Med.*, 107, 526-545.
- Crouch, R.K., Gandy, S.E., Kimsey, G., Galbraith, R.A., Galbraith, G.M.C., Buse, M.G., 1981. The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. *Diabetes*, 30, 235- 241.
- Çağlar, Ş., 1986. *Klinik Nefroloji*, Medial Yayınları, Ankara. 4-7, 256-268.
- Çam, M., Yavuz, Ö., Güven, A., Ercan, F., Bukan, N., Üstündağ, N., 2003. Protective effects of melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats, *J Pineal Res*, 35, 212-220.

- Çelik, S., Bal, R., 2002. Köpek ve Kedilerde Diabetes Mellitus: Böbrek Fonksiyon Bozuklukları ve. İdrar Taşı Oluşumu ile İlişkisi. Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med, 21, 43-48.
- Çınaroğlu Saka, S., 2005. Diyabetik ve non diyabetik nefropatisi olan hastalarda Enalapril ve losartan tedavisinin proteinüri üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması. Genel pediatri uzmanlık tezi, Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, İstanbul.
- Çimen, A., 1994. Anatomi. Uludağ Üniversitesi Basım Evi 4. Bası. 436-9.
- Dal la Vestra, M., Saller, A., Bortoloso, E., Mauer, M., Fioretto, P., 2000. Structural involvement in type 1 and type 2 diabetic nephropathy. Diabetes Metab, 26 (4) 8-14.
- Das, K., Chainy, GBN., 2001. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defense system by thyroid hormone. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 1537(1), 1-13.
- Davies, M.J., Fu, S., Wang, H., 1999. Dean, R.T., Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. Free Radic. Biol. Med, 27 (11-12), 1151- 63.
- De Carvalho, E.A.B., Andrade, P.P., Silva, N.H., Pereira, E.C., Figueiredo, R.C.B.Q., 2005. Effect of usnic acid from the lichen cladonia substellata on trypanosoma cruzi in vitro: an ultrastructural study. Micron, 36, 155-161.
- De Cavanagh, E.M.V., Insera, F., Toblli, J., Stella, I., Fraga, C.G. and Ferder, L., 2001. Enalapril Attenuates Oxidative Stress in Diabetic Rats. Hypertension, 38, 1130-1136.
- Demir, R., 2006. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Palme Yayıncılık, 453-458, 521-527, Ankara.
- Diamond, J.M., Tormey, J.McD., 1966. Role of long extracellular channels in fluid transport across epitelis. Nature, 210, 817.
- Dierckx, N., Horvath, G., Van Gils, C., Vertommen, J., Van De Vliet, J., De Leeuw, I., Manuel-Y-Keenoy, B., 2003. Oxidative stress status in patients with diabetes mellitus. Eur J Clin Nutr, 57 (8), 999-1008.
- Dilsizoğlu, A., Kavuncuoğlu, Z., Oba, D., 2004. Likenlerin Eski ve Yeni Kullanım Alanları. Bilim ve Teknik, Haziran, 86-89.
- Dinçer, Y., Akçay, T., Alademir, Z., İlkoca, H., 2002. Effect of oxidative stress on glutathione pathway in red blood cells from patients with insulin-dependent diabetes melitus. Metabolism, 51(10), 1360-1362.
- Doğan, M.M., Dönder, E., Kuloğlu, T., Dabak, D.Ö., 2011. Deneysel diyabetin sıçan böbrek dokusunda meydana getirdiği değişiklikler üzerine Enalapril ve Losartan'ın etkilerinin incelenmesi. Fırat Tıp Dergisi, 16 (2), 46-50.
- Dönmez, S., 2008. Deneysel Diyabetik Nefropatide İrbesartan ve Antioksidan Tedavilerin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Edirne.
- Droge, K., Schulze-Osthoff, S., Mihm, D., Galter, H., Schenk, H.P., Eck, S., Roth Gmunder, H., 1994. Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. FASEB J., 1131-1138.
- Dunlop, M., 2000. Aldose reductase and the role of the polyol pathway in diabetic nephropathy. Kidney Int Suppl, 77, 3-12.

- Durna, Z., 2002. Diyabetin sınıflandırılması ve tanı kriterleri. Ed. S. Erdoğan, Diyabet hemşireliği temel bilgiler. Yüce reklam yayım dağıtım A.Ş, 11-19, İstanbul.
- Dülger, B., Gücin, F., ve Aslan, A., 1998. *Cetraria islandica* (L.) Ach. Likenin antimikrobiyal aktivitesi. Tübitak Tr. J. Biology, 22, 111-118.
- Eddouks, M., Lemhadri, A., Michel, J.B., 2004. Carawayandcaper: potential antihyperglycaemic plants in diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology, 94, 143-148.
- Eisenborth, J.S., Polonsky, K.S., Buse, J.B., 2003. Type 1 Diabetes Mellitus. Lorsen R, Kronenberg H, Melmed S, Polonsky KS. In: Williams Textbook of Endocrinology, 10th edition. Pennsylvania, Elsevier Science, 1485-508.
- El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Abou El-Naga N.I., 2005. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. Food and Chemical Toxicology, 43 (1), 57-63.
- Elix, J.A., Feige, G.B., Lumbsch, H.T., Mies, B., Wardlaw, J.H., Willis, A.C., 1995. The Structure Determination of Simonyellin- a New Lichen Naphthopyran. Australian Journal of Chemistry, 48, 2035-2039.
- Engin, A., Altan, N., 2000. Effects of obstructive jaundice on the antioxidative capacity of human red blood cells. Hematologia, 30 (2), 91-96.
- Engin, A., Altan, N., Işık, E., 2005. Erythrocyte glutathione levels in lithium-induced hypothyroidism. Drugs R D., 6 (1), 35-40.
- Engin, A., Bozkurt, B.S., Altan, N., Memiş, L., Bukan, N., 2003. Nitric oxide-mediated liver injury in presence of experimental bile duct obstruction. World Journal of Surgery, 27 (3), 253-5.
- Erbayraktar, Z., 2002. Deneysel Diabetes Mellitus'ta selenyum katkılı beslenmenin oksidan hasarı önleyici ve glukoz homeostazını düzenleyici etkisi. Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üni. Tıp Fak. Biyokimya AD, İzmir.
- Erdoğan, G., 1997. Diabetes Mellitusun tedavisi. Bilimsel Tıp yayınevi, 1. Baskı, Ankara.
- Erek, E., 1988. Nefroloji. Emek matbaası, 3.baskı, İstanbul, 55-255.
- Erek, E., Süleymanlar, G., Serdengeçti, K., 2007. Türkiye'de Nefroloji-Diyaliz ve Transplantasyon. İstanbul Türk Nefroloji Derneği Yayınları, 1-10.
- Ernst, S.A., 1975. Transport ATP'ase cytochemistry: Ultrastructural localisation of potassium dependent and potassium independent phosphatase activities in rat kidney cortex. J.Cell Biol., 66, 586.
- Ernst-Russell, M.A., Chai, C.L., Wardlaw, J.H., Elix, J.A., 2000. Euplectin and coneuplectin, new naphthopyrones from the lichen *Şavoparmelia euplecta*. Journal of Natural Products, 63, 1, 129-131.
- Ertugrul Karaçalı, Ö., 2006. Streptozotocin ile diabet oluşturulmuş sıçanlarda *Trigonella foneum graecum l.* ekstraktının böbrek üzerindeki etkisi. Yüksek lisans tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Şanlıurfa.
- Esmaili, M.A., Yazdanparast, R., 2004. Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. Journal of Ethnopharmacology, 95, 27-30.
- Evan, P.A., Mong, A.S., Connors, A.B., Aronoff, G.R., Luft, F.C., 1984. The effects of alloxan-induced diabetes on the kidney. The Anatomical Record, 208, 33-47.
- Evans, M.D., Cooke, M.S., 2004. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. Bioassays., 26 (5), 533-42.

- Farquar, A., MacDonald, M.K., 1972. Ireland JT. The role of fibrin deposition in diabetic glomerulosclerosis: A light, electron and immunofluorescence microscopy study. *J Clin Pathol*, 25, 657-667.
- Farzami, B., Ahmadvand, D., Vardasbi, S., Majin, F.J., Khaghani, S., 2003. Induction of insulin secretion by a component of *Urtica dioica* leaf extract in perfused islets of Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 89, 47-53.
- Faure, P., Corticelli, P., Richard, M.J., Arnaud, J., Coudray, C., Halimi, S., Favier, A., Roussel, A.M., 1993. Lipid peroxidation and trace element status in diabetic ketotic patients: influence of insulin therapy. *Clin Chem*, 39, 789-793.
- Fiallo-Scharer, R.V., Eisenbarth, G.S., 2004. Pathophysiology of insulin-dependent diabetes. In: Pescovitz OH, Eugster EA (eds). *Pediatric Endocrinology, Mechanism, Manifestations, and Management* (1st ed). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 411-426.
- Flechner, I., Maruta, K., Burkart, V., Kawai, K., Kolb, H., Kiesel, U., 1990. Effects of radical scavengers on the development of experimental diabetes. *Diabetes Res*, 13 (2), 67-73.
- Fox, C., and Doyel, D., 1981. Islet cell hyperplasia in long term streptozotocin rats, In *Streptozotocin fundamentals and therapy*. Elsevier North Holland Biomedical Press, New York, 263-274.
- Frei, B., 1994. *Natural Antioxidants in Human Health and Disease*, Academic press, San Diego.
- Friedman, E.A. 1996. Renal syndromes in diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 25, 293-24.
- Gannog, W.F., 1995. *Tıbbi Fizyoloji*. Çeviren Doğan A., Barış Kitap Evi.
- Garber, A.J., 1994. Diabetes Mellitus. Internal Medicine, editor: Stein JH, Mosby-Year Book, St. Louis, Missouri, 1391-92.
- Giardino, I., Edelstein, D., Brownlee, M., 1996. Bcl-2 expression or antioxidants prevent hyperglycemia-induced formation of intracellular advanced glycation end products in bovine endothelial cells. *J Clin Invest*, 97(6), 1422-1428.
- Giardino, I., Fard, A.K., Hatchel, D.L., Brownlee, M., 1998. Amino guanidine inhibits reactive oxygen species formation, lipid peroxidation and oxidant-induced apoptosis. *Diabetes*, 47 (7), 1114-1120.
- Gilbert, R.E., Cooper, M.E., 1999. The tubulointerstitium in progressive diabetic kidney disease: more than an aftermath of glomerular injury? *Kidney Int*, 56, 1627-1637.
- Gillery, P., Monboisse, J.C., Maquart, F.X., Borel, J.P., 1988. Glycation of proteins as a source of superoxide. *Diabet Metab*, 14 (1), 25 -30.
- Gispen, W.H., Biessel, G.J., 2000. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trend Neurosci*, 23(11), 542-549.
- Goldbourt, U., Medalie, J., Herman, J., Neufeld, H., 1980. Serum uric acid: correlation with biochemical, anthropometric, clinical and behavioral parameters in 10,000 Israeli men. *J Chron Dis*, 33, 435-443.
- Gotoh, M., Li, C., Yatoh, M., Iguchi, A., Hirooka, M., 2005. Serum uric acid concentrations in type 2 diabetes: Its significant relationship to serum 1,5 anhydroglucitol concentrations. *Endocr Regul*, 39, 119-125.

- Green, K., Brand, M.D., Murphy, M.P., 2004. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*, 53(1), 110-118.
- Guyton, A.C., 1978. *Fizyoloji Ders Kitabı*. Güven kitabevi yayınları, 5. Baskı, Ankara, 77-95.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., (Çeviri: H. Çavuşoğlu). 2001. *Tıbbi Fizyoloji*. İstanbul Nobel Kitabevi. 10. Baskı, İstanbul, 280-2.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, O.İ., Aslan, A., 2002. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*, 79, 325-329.
- Güllüce, M., Aslan, A., Sökmen, M., Şahin, F., Adıgüzel, A., Ağar, G. ve Sökmen, A., 2006. Screening the antioxidant and Antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine*, 13, 515-521.
- Güner, H., Aysel, V., Sukatar, A., 1992. Tohumuz Bitkiler Sistematiği II (Mantarlar ve Likenler). Ege Üniversitesi Basımevi, 5. Baskı, 2 (138), 139-142.
- Güneş, H.V., 2006. *Moleküler Hücre Biyolojisi*, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kaan Kitabevi, 2. Baskı.
- Gürel, E., 2004. Streptozotosin ile Diabetes Mellitus Oluşturulan Farelerin (Albino Balb/C) Böbreklerinde Nitrik Oksit Sentaz'ın Rolü. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Güven, S., Kuenzi, J.A., Matfin, G., 2002. *Diabetes Mellitus*. ED. CM Porth. *Pathophyshiology*. Lippincot Williams&Wilkins, 6th ed, Philadelphia, 925-952.
- Hagglof, B., Marklund, S.L., Holmgren, G., 1983. CuZn Superoxide dismutase, Mn Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in lymphocytes and erythrocytes in insulin dependent diabetic children. *Acta Endocrinologica*, 102, 235-9.
- Halifeoğlu, İ., Karataş, F., Çolak, R., Canatan H., Telo S., 2005. Tip 2 diyabetik hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidan ve antioksidan durum. *Fırat Tıp Dergisi*, 10 (3), 117-122.
- Hallaç, P., 1979, *Böbrek Fizyolojisi*, Erler Matbaası, İstanbul, 16-97.
- Haller, M.J., Atkinson, M.A., Schatz, D., 2005. Type 1 Diabetes Mellitus: etiology, presentation, and management. *Pediatr Clin North Am*, 52,1553-78.
- Halliwell, B, Gutteridge, J.M.C., 2000. *Free Radical in Biology and Medicine*. Third ed. Oxford, Oxford University Press, Oxford, 160-165.
- Halliwell, B., Auroma, O.L., 1991. DNA damage by oxygen derivated species. Its mechanism and measurment in mamalian systems. *FEBS Lett.*, 9 (281), 1-2, 9-19.
- Halliwell, B., Chirico, Z., 1993. Lipid Peroxidation, its mecanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr*, 57, 715-725.
- Halliwell, B., 1989. Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. *Acta Neurology Scandinavia*, 126, 23-33.
- Halliwell, B., 1995. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*, 49 (10), 1341-1348.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., Cross, C.E., 1992. Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119 (6), 598-620.

- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2001. Free radicals in biology and medicine. Third Edition, Oxford Science Publications, 22-24.
- Halliwell, B., 1994. Free radicals, antioxidants and human disease: Correlation, cause or consequence. *Lancet*, 334, 721-724.
- Hasanoğlu, E., Altan, N., Sindel, P., Ongun, C.Ö., Bali, M., Altıntaş, E., 1994. The Relationship between erythrocyte superoxide dismutase activity and plasma levels of some trace elements (Al,Cu,Zn) of dialysis patients. *General Pharmacology*, 25 (1), 107-110.
- Hatemi, H., 1996. Diabetes Mellitusun tarihçesi. *Aktüel Tıp Dergisi*, 7, 497-499.
- Hatemi, H., 1998. Diabetes Mellitus tarihçesi. *Diabetes Mellitus*, 357-359.
- Hawa, M.I., Picardi, A., Costanza, F., D'Avola, D., Beretta Anguissola, G., Guglielmi, C., *et al.* 2006. Frequency of diabetes and thyroid autoantibodies in patients with autoimmune endocrine disease from Cameroon. *Clin Immunol*, 118 (2-3), 229-32.
- Heptinstall, R.H., 1983. *Pathology of Kidney*. Little&Brown Company, Boston-Toronto.
- Herman, J.B., Medalie, J.H., Goldbourt, U., 1976. Diabetes, prediabetes and uricaemia. *Diabetologia*, 12, 47-52.
- Herman, W.H., 1990. Eye disease and nephropathy in NIDDM. *Diabetes care*, 13, 24-29.
- Ho, E., Quan, N., Tsai, Y., Lai, W., Bray, M.T., 2001. Chemically Induced Diabetes in CD1 Mice Dietary Zinc Supplementation Inhibits NF κ B Activation and Protects Against. *Experimental Biology and Medicine*, 226, 103-111.
- Hu, Y., Wang, Y., Wang, L., Zhang, H., Zhao, B., Zhang, A., Li, Y., 1996. Effects of nicotinamide on prevention and treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats. *Chin Med J*, 109 (11), 819-822.
- İlçim, A., Dığrak, M., Bağcı, E., 1998. Bazı Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, 22, 119-125.
- Jang, Y.Y., Song, J.H., Shin, Y.K., Han, E.S., Lee, C.S., 2000. Protective effect of bolding on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacol Res*, 42 (4), 361-371.
- Jones, S.C., Saunders, H.J., Pollock, C.A., 1999. High glucose increases growth and collagen synthesis in cultured human tubulointerstitial cells. *Diabet Med.*, 16, 932-938.
- Jouad, H., Maghrani, M., Eddouks, M., 2002. Hypoglycaemic effect of *Rubus fruticosus* L. and *Globularia alypum* L. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacology*, 81(3), 351-356.
- Kahn, C.R., Weir, G.C., King, G.L., Jacobson, A.M., Moses, A.C., Smith, R.J., 2005. *Joslin's Diabetes Mellitus*. Fourteenth edition, Boston, Lippincott Williams and Wilkins, 331-338.
- Kakkar, R., Mantha, S.V., Radhi, J., Prasad, K., Kalra, J., 1997. Antioxidant defense system in diabetic kidney. A time course study, *Life Sci*, 60 (9), 667-79.
- Kanter, M., Uysal, H., Karaca, T., Özdemir-Sagmangil, H., 2006. Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic β -cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Arch Toxicol*, 80, 362-369.
- Kar, A., Choudhary, B.K., Bandyopadhyay, N.G., 2003. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 84, 105-108.

- Karagöz, Y., 2010. Kemaliye (Erzincan) İlçesinde Yayılış Gösteren Bazı Liken Türlerinin Taksonomik Ve Ekolojik Özellikleri Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Karamanoğlu, K., 1971. Türkiye'nin önemli liken türleri. Ankara Ecz. Fak. Mec, 1, 53-75.
- Karuna, R., Bharathi, V.G., Reddy, S.S., Ramesh, B., Saralakumari, D., 2011. Protective effects of *Phyllanthus amarus* aqueous extract against renal oxidative stress in Streptozotocin -induced diabetic rats. Indian J Pharmacol., 43 (4), 414-8.
- Kayaalp, O., 1997. Endokrin Sistem Farmakolojisi. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Ankara, 3-2422.
- Kehrer, J.P., Smith, C.V., 1994. Free radicals in biology: Sources, reactivities and role in the aetiology of human disease. Feri B.(Ed) Natural antioxidants in human health and disease. Academic Press. San Diego, 25-62.
- Kim, K.S., 2002. Pancreatic islet cell replacement successes and opportunities. Ann NY Acad Sci, 961(1), 41-43.
- Kimmelsteil, P., Kim, O.J., Beres, J., 1962. Studies on renal biopsy specimen, with the aid of the electron microscope:I. Glomeruli in diabetes, Am J Clin Pathol, 38, 270-296.
- King, H., Aubert, R., Herman, W., 1998. Global burden of diabetes 1995-2025. Prevalance numerical estimates and projections. Diabetes Care, 21, 1414-31.
- Klosa, J., 1951. Über die Antibiotische Wirkung fer Flechtenstoffe, Physiol. Chem. 287, 195-203.
- Koçyiğit, Y., 1992. Kronik böbrek yetmezliğinde G-6-PD enzim aktivitesi ve glikozile HbA_{1c} düzeyleri. Doktora Tezi. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı. Diyarbakır.
- Kohl, C., Ravel, D., Girard, J., and Pegorier, J., 2002. Effects of benfluorex on fatty acid and glucose metabolism in isolated rat hepatocytes. From metabolic fluxes to gene expression. Diabetes, 51, 2363-2368.
- Kosanić, M., Ranković, B., 2011. Lichens As Possible Sources of Antioxidants. Pak J Pharm Sci, 24 (2), 165-170.
- Koya, D., King, G.L., 1998. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. Diabetes, 47 (6), 859-66.
- Köse, K. ve Dogan, P. 1992. Lipid peroksidasyonu. Erciyes Tıp Dergisi, 340- 350.
- Krinsky, N.I., 1988. Membrane Antioxidants. Ann NY Acad Sci, 551, 17-27.
- Kuloğlu, T., Dabak, D. Ö., 2008. Deneysel diyabetin sıçan böbrek dokusunda meydana getirdiği histolojik değişiklikler. Histoloji ve Embriyoloji A.D, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ.
- Kuloğlu, T., Dabak, D.Ö., 2009. Deneysel diyabetin sıçan böbrek dokusunda meydana getirdiği histolojik değişiklikler. Türkiye Klinikleri J Med Sci, 29 (6), 1441-9.
- Kumar, K.C.S., Müller, K., 1999. Lichen metabolites. I. Inhibitory action against leukotriene B₄ biosynthesis by a non-redox mechanism. J Nat Prod, 62, 817.
- Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L., 2000. Temel Patoloji. In: Çevikbaş U, translation ed. 6th ed, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 511-517.
- Kurt. M., Atmaca, A. ve Gürlek, A. 2004. Diyabetik nefropati. Hacettepe Tıp Dergisi, 35, 12-17.

- Küçükkaya, A.G., 2004. Taşların Bozulma Nedenleri Ve Koruma Yöntemleri Birsen Yayınevi, İstanbul, 163.
- Lane, P.H., Steffes, M.W., Fioretto, P., Mauer, S.M., 1993. Renal interstitial expansion in insulin-independent diabetes mellitus. *Kidney Int*, 43, 661-667.
- Larsson, L.I., 1998. On the development of the islets of Langerhans. *Microsc Res Tech*, 43, 284-291.
- Lenzen, S., Munday, R., 1991. Thiol-group reactivity, hydrophilicity and stability of alloxan, its reduction and its N-methyl derivatives and a comparison with ninhydrin. *Biochem Pharmacol*, 42, 1385-1391.
- Li, X.M., 2007. Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on streptozotocin-induced oxidative stress in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40 (5), 461-465.
- Luo, Z.F., Feng, B., Mu, J., Qi, W., Zeng, W., Guo, Y.H., Pang, Q., Ye, Z.L., Liu, L., Yuan, F.H., 2010. Effects of 4-phenylbutyric acid on the process and development of diabetic nephropathy induced in rats by streptozotocin: regulation of endoplasmic reticulum stress-oxidative activation. *Toxicol Appl Pharmacol*, 246 (1-2), 49-57.
- Madianov, I.V., Balabolkin, M.I., Markov, D.S., Markova, T.N., 2000. Main causes of hyperuricemia in diabetes mellitus. *Ter Arkh*, 72, 55-58.
- Maghrani, M., Zeggwagh, N.A., Lemhadri, A., El Amraoui, M., Michel, J.B., Eddouks, M., 2004. Study of the hypoglycaemic activity of *Fraxinus excelsior* and *Silybum marianum* in an animal model of type 1 diabetes mellitus. *J Ethnopharm*, 91, 309-316.
- Maiti, R., Janav, D., Das, U.K., Ghosh, D., 2004. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus indica* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 92, 85-91.
- Mandrup, P.T., 1993. Nicotinamide treatment in the prevention of IDDM. *Diabetes Metab. Reviews*, 9 (4), 295-309.
- Manna, P., Sinha, M., Sil, P.C., 2009. Protective role of arjunolic acid in response to streptozotocin-induced type-I diabetes via the mitochondrial dependent and independent pathways. *Toxicology*, 257 (1-2), 53-63.
- Mansouri, E., Panahi, M., Ghaffari, M.A., Ghorbani, A., 2011. Effects of grape seed proanthocyanidin extract on oxidative stress induced by diabetes in rat kidney. *Iran Biomed J.*, 15 (3), 100-6.
- Marion, M.S., Carlson, E.C., 1989. Ultrastructural analyses of acellular glomerular basement membranes and mesangial matrix in a spontaneously diabetic rhesus monkey. *Acta Anat (Basel)*, 135 (2), 119-28.
- Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B., 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J Biochem Mol Toxicol*, 17 (1), 24-38.
- Mates, J.M., Perez-Gomez, C., Castro, I.N., 1999. Antioxidant enzymes and human disease. *Clin. Biochem*, 32, 595-603.
- Maxwell, S.R.J., 1995. Prospect for use of antioxidant therapies. *Drugs*. 49 (3), 345-61.
- Mayes, P.A., 1990. Biologic oxidation. Martin D.W., Mates, P.A., Rodwell, C.W. (eds). In *Harper's Biochemistry*, Lange Med Pub, California, 124-142.
- Mekinova, D., Charvatova, V., Volkokova, K., Staruchova, M., Grancicova, E., Klvanova, J., Ondreicka, R., 1995. Effect of intake of exogenous vitamins C, E

- and beta-carotene on the antioxidative status in kidneys of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Nahrung*, 39 (4) 257-61.
- Memişoğulları, R., 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39.
- Memişoğulları, R., Bakan, E., 2004. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 18, 193-197.
- Memişoğulları, R., Taysi, S., Bakan, E., Çapoğlu, İ., 2003. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct*, 21, 291-296.
- Mendiratta, S., Zhi-chao, Q., James, M., 1998. Enzyme Dependent Ascorbate Recycling in Human Erythrocytes: Role of Thioredoxin Reductase Free Radical Biology and Medicine. 25 (2) 221-228.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYU Vet Fak Derg*, 15 (12), 91-96.
- Mitrakou, A., Kelly, D., Mookan, M., Veneman, T., Pang-burn, T., Reilly, J., Gerich, J., 1992. Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*, 326, 22-29.
- Mogensen, C.E., Crismon, C.K., Vittingis, E., 1983. The stages in diabetic nephropathy. *Diabetes*, 32 (12), 64-78.
- Mohan, M., Waghulde, H., Kasture, S., 2010. Effect of pomegranate juice on Angiotensin II-induced hypertension in diabetic Wistar rats. *Phytother Res*, 24 (Suppl 2), 196-203. Erratum in: *Phytother Res*, 24 (Suppl 2), 233-4.
- Montilla P, Barcos M, Munoz, M.C., Bujalance, I., Munoz-Castaneda, J.R., Tunc, I., 2005. Red wine prevents brain oxidative stress and nephropathy in streptozotocin induced diabetic rats. *J Biochem Mol Biol.*, 30; 38 (5), 539-44.
- Montilla, P.L., Vargas, J.F., Tunc, I.F., Muñoz de Agueda, M.C., Valdelvira, M.E., Cabrera, E.S., 1998. Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: protective effects of melatonin. *J. Pineal Res*, 25 (2), 94-100.
- Moon, J.Y., Jeong, K.H., Lee, T.W., Ihm, C.G., Lim, S.J., Lee, S.H., 2012. Aberrant recruitment and activation of T cells in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol*, 35 (2), 164-74.
- Morsy, M.D., Hassan, W.N., Zalat, S.I., 2010. Improvement of renal oxidative stress markers after ozone administration in diabetic nephropathy in rats. *Diabetol Metab Syndr*, 13; 2 (1), 29.
- Mukherjee, B., Mukherjee, J.R., Chatterjee, M., 1994. Lipid peroxidation, glutathione levels and changes in glutathione-related enzyme activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Immunol Cell Biol.*, 72 (2), 109-14.
- Muralikrishnan, G., Pillai, S.K., Shakeel, F., 2012. Protective effects of *Ocimum sanctum* on lipid peroxidation and antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nat Prod Res*, 26 (5), 474-8.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., 1998. *Harper's Biochemistry*. Ed: Dikmen N, Özgönen T, Harper'ın Biyokimyası, İstanbul Barış Kitabevi, 127-799.
- Nakazawa, H., Genka, C., Fujishima, M., 1996. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Japan J. Physiol*, 46, 15-32.

- Nan, H., Dong, Y., Gao, W., Tuomilehto, J., Qiao, Q., 2007. Diabetes associated with a low serum uric acid level in a general Chinese population. *Diabetes Res Clin Pract*, 76, 68-74.
- Nangaku, M., Izuhara, Y., Usuda, N., Inagi, R., Shibata T. and Sugiyama, S., *et al.*, 2005. In a type 2 diabetic nephropathy rat model, the improvement of obesity by a low calorie diet reduces oxidative/carbonyl stress and prevents diabetic nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant*, 20, 2661-2669.
- Naowaboot, J., Pannangpetch, P., Kukongviriyapan, V., Kukongviriyapan, U., Nakmareong, S., Itharat, A., 2009. Mulberry leaf extract restores arterial pressure in streptozotocin-induced chronic diabetic rats. *Nutr Res.*, 29 (8), 602-8.
- Nash, T.H., 1996. *Lichen biology*. Cambridge University Press, New York.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M., 2005. *Lehninger Biyokimyanın İlkeleri*, Palme Yayıncılık, 3. Baskıdan Çeviri.
- New, J.P., Canavan, J.P., Flyvbjerg, A., Hamon, G., Bilous, R.W., Marshall, S.M., 1996. Renal enlargement and insulin-like growth factor-1 accumulation in the Wistar rat model of experimental diabetes is not prevented by angiotensin converting enzyme inhibition. *Diabetologia*, 39, 166-171.
- Nicotera, P., Orrenius, S., 1986. Role of thiols in protection against biological reactive intermediates. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 197, 41-49.
- Niki, E., 1987. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phys. Lip*, 44, 227-53.
- Norgoard, K., Feldt-Rasmussen, B., Barch-Johnsen, K., Saelan, H., Deckert, T., 1990. Prevalence of hypertension in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 33, 407-10.
- Noyan, A., 1989. *Fizyoloji Ders Kitabı*. Meteksan yayınları, 6. Baskı, Ankara, 620-623.
- Noyan, A., 1993. *Yaşam ve Hekimlikte Fizyoloji*. Sekizinci Baskı, MeteksanYayın Evi.
- Noyan, T., Yalçınkaya, A.S., Şekeroğlu, M.R., Dülger, H., Balaharoğlu R., 2004. Antioxidant Effects of Pentoxifylline and Melatonin In The Alloxane- Induced Diabetic Mice. *Turkish Journal of Biochemistry*, 2;29 (4), 268-272.
- Nurlu Ayan, N., 2007. Streptozotocin ile diyabet oluşturulan rat karaciğer dokusunda oksidatif stres, paraoksonaz-1 aktivitesi ve stobadin'in koruyucu etkisinin araştırılması. Uzmanlık tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı, Ankara.
- Odabaşoğlu, F., Aslan, A., Çakır, A., Süleyman, H., Karagöz, Y., Bayır, Y., Halıcı, M., 2004. Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of some lichen species. *Fitoterapia*, 76 (2005), 216-219.
- Odor, İ.V., 1977. *Anatomi Ders Kitabı*, Ayyıldız Basımevi.
- Ogmundsdottir, H.M., Zoega, G.M., Gissurason, S.R., Ingolfsson, K., 1998. Anti-proliferative effects of lichen-derived inhibitors of 5-lipoxygenase on malignant cell-lines and mitogen-stimulated lymphocytes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50, 107-115.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95, 351-358.
- Onat, T., Emerk, K., Sözmen, ET., 2002. *İnsan Biyokimyası*. Palme Yayıncılık, 519-778, Ankara.
- Orhan, Y., 2001. *Diabetes mellitus*. Sencer E (Editör). *Endokrinoloji, metabolizma ve beslenme hastalıkları*. Nobel Tıp Kitabevi, 1. baskı. İstanbul, 246-51.

- Osmanağaoğlu O., Yıldız, A., Saçılık, S.C., 2000. Türkiye'deki farklı bölgelerden izole edilen likenlerin antimikrobiyal aktiviteleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 30 (1-2), 17-19.
- Osterby, R., Asplund, J., Bangstad, H.J., Nyberg, G., Rudberg, S., Viberti, G.C., Walker, J.D., 1999. Neovascularization at the vascular pole region in diabetic glomerulopathy. *Nephrol Dial Transplant*, 14 (2), 348-52.
- Osterby, R., Gundersen, H.J.G., 1990. Glomerular size and structure in diabetes mellitus. 1 early abnormalities. *Diabetologia*, 33, 407-10.
- Osterby, R., Gundersen, H.J.G., Horlyck, A., Kroustrup, J.P., Nyberg, G., Westberg, G., 1983. Diabetic glomerulopathy: structural characteristics of the early and advanced stages. *Diabetes*, 32, 79.
- Öntürk, H., Özbek, H., 2007. Genel Tıp Dergisi, 17 (4), 231-236.
- Öntürk, H., Özbek, H., 2007. Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şekeri seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Derg*, 17 (4), 231-236
- Özata, M. ve Yönm, A., 2006. Endokrinoloji Metabolizma ve Diabet, İstanbul Medikal Yayıncılık, 1. Baskı, 275-343 s.
- Özcan, O., Kukner, A., Karaöz, E., Dağdeviren, A., 1992. Sıçanlarda alloxanın neden olduğu diabetes mellitus'da böbrekte ince yapı değişiklikleri. *GATA Bulteni*, 34, 747-758.
- Özdem, S.S., Sadan, G., 1994. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Ü. Tıp Fak. Derg*, 11, 63-71.
- Özenirler, S., Tuncer, C., Ongun, C.Ö., Altan, N., Kandilci, U., 1994. Activity of Superoxide dismutase in erythrocyte of nonalcoholic chronic liver diseases. *General Pharmacology*, 25 (7), 1349-51.
- Öztürk, F., Iraz, M., Eşrefoğlu, M., Kurus, M., Gül, M., Otlı, A., 2005. Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler: İnönü Uni. Tıp Fak. Dergisi, 12 (1), 1-4.
- Öztürk, Ş., 1995. Yüzyılların Çevrecisi Likenler. *Bilim ve Teknik*, Mart, 74-76.
- Pandit, M.K., Burke, J., Gustafson, A.B., Minocha, A., Peiris, A.N., 1993. Drug-induced disorder of glucose tolerance. *Ann Int Med*, 118, 529-40.
- Papaccio, G., Baccari, G.C., Frascatore, S., Sellitti, S., Pisanti, F.A., 1995. The vitamin-E derivative U 83836-E in the low-dose streptozocin-treated mouse: effects on diabetes development. *Diabetes Res Clin Pract*, 30 (3), 163-171.
- Parving, H.H, Ostorb, R., Anderson, P.W., Hsuoh, W.A., 1996. Diabetic nephropathy. In: Brenner BM (ed), *The Kidney*. 5th ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1864-92.
- Perrin, N.E., Torbjörnsdotter, T., Jaremko, G.A., Berg, U.B., 2010. Risk markers of future microalbuminuria and hypertension based on clinical and morphological parameters in young type 1 diabetes patients. *Pediatr Diabetes*, 11 (5), 305-13.
- Phillips, A.O. and Steadman, R., 2002. Diabetic nephropathy: The central role of renal proximal tubular cells in tubulointerstitial injury. *Histol Histopathol*, 17, 247-52.
- Phillips, A.O., Steadman, R., Morrissey, K., Williams, J.D., 1997. Polarity of stimulation and secretion of transforming growth factor-beta 1 by cultured proximal tubular cells. *Am J Pathol*, 50, 1101-1111.
- Pitkanen, O.M., Martin, J.M., Hallman, M., Akerblom, H.K., Sariola, H., Andersson, S.M., 1992. Free radical activity during development of insulin dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Science*, 50 (5), 335-339.

- Proksa, B., Adamcová, J., Sturdíková, M., Fuska, J., 1994. Metabolites of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. and their inhibition potential of proteolytic enzymes. *Pharmazie*, 49 (4), 282-3.
- Purvis, O.W., Coppins, B.J., Hawksworth, D.L., James PW & Moore, D.M., 1994. The Lichen Flora of Great Britain and Ireland, London. Natural History Museum Publication in association with the British, Lichen Society.
- Quinn, L., 2002. Mechanism in the development of type II diabetes mellitus. *Journal of cardiovascular nursing*, 16 (2), 1-16.
- Rabini, R.A., Petrucci, E., Staffolani, R., Tesei, M., Fumelli, P., Pazzagli, M., 1997. Diabetes mellitus and subjects ageing : a study on the ATP content and ATP-related enzyme activity in human erythrocyte. *Eur J Clin Invest*, 27, 327-332.
- Ramachandran, S., Rajasekaran, A., Kumar, K.T., 2011. Antidiabetic, *Tectona grandis* flowers in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Med*, 4 (8), 624-31.
- Reilly, P.M., Schiller, H.J., Bulkley, G.B., 1991. Pharmacologic approach to issue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am. J. Surg*, 161, 488-503.
- Rezanka, T., Guschina, I.A., 2000. Glycosidic compounds of murolic, protoconstipatic and allo-murolicacids from lichens of Central Asia. *Phytochemistry*, 54 (6), 635-645.
- Ritz, E., Rychlik, I., editors. 1999. Nephropathy in type 2 diabetes. Oxford Press, Oxford, 45-6.
- Rosenbloom, A.I., Silverstein, J.H., 2003. Diabetes in the Child and Adolescent. In: Lifshitz F (eds). *Pediatric Endocrinology*. 4 edition. New York (USA), Marcel Decker, 611-51.
- Royson, D., 1988. Free Radikals. Formation, function and potential relevance in Anaesthesia, 43, 315-20.
- Rudberg, S., Dahlquist, G., 1996. Determinants of progression of microalbuminuria in adolescents with IDDM. *Diabetes care*, 19 (4), 369-371.
- Sadi, G., Eryilmaz, N., Tütüncüoğlu, E., Cingir, S., Güray, T., 2011. Changes in expression profiles of antioxidant enzymes in diabetic rat kidneys. *Diabetes Metab Res Rev*, 28 (3), 228-35.
- Saito, A., Kaseda, R., Hosojima, M., and Sato, H., 2011. Proximal Tubule Cell Hypothesis for Cardiorenal Syndrome in Diabetes. *SAGE-Hindawi Access to Research International Journal of Nephrology*, 9.
- Saka, H.N., 2003. Diabetes Mellitus. In: Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoglu S (eds). *Pediatric Endocrinoloji*. 1. Baskı. *Pediatric Endocrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları*, Kalkan Matbaacılık, Ankara, 415-55.
- Satman, I., Yılmaz, T., Şengül, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S., Bastar, I., Tutuncu, Y., Sargin, M., Dinççağ, N., Karşıdağ, K., Kalaca, S., Ozcan, C., King, H., 2002. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*, 25, 1551-1556.
- Schnedl, W.J., Feber, S., Johnson, J.H., Newgard, C.B., 1994. STZtransport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT-2-expressing cells. *Diabetes* 43 (11), 1326-1333.

- Schwartz, M.M., Lewis, E.J., Leonard-Martin, T., Lewis, J.B., Batlle, D., 1998. Renal pathology patterns in type II diabetes mellitus: relationship with retinopathy. The Collaborative Study Group. *Nephrol Dial Transplant*, 13 (10), 2547-52.
- Sedlak, J., Lindsay, R.H.L., 1968. Estimation of total and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Elman's reagent. *Anal Biochem*, 25, 192-205.
- Sefi, M., Fetoui, H., Soudani, N., Chtourou, Y., Makni, M., Zeghal, N., 2012. *Artemisia campestris* leaf extract alleviates early diabetic nephropathy in rats by inhibiting protein oxidation and nitric oxide end products. *Pathol Res Pract*, 15; 208 (3), 157-62.
- Seghrouchni, I., Draï, J., Bannier, E., Rivière, J., Calmard, P., Garcia, I., Orgiazzi, J., Revol, A., 2002. Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta*, 321 (1-2), 89-96.
- Shacter, E., 2000. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab. Rev.*, 32 (3-4) 307-26.
- Sharma, K., McCue, P., and Dunn, S. R., 2003. Diabetic kidney disease in the *db/db* mouse. *AJP - Renal Physiol*, 284 (6), 1138-1144.
- Shrilatha, B., 2007. Muralidhara. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocin-induced diabetic mice: Its progression and genotoxic consequences. *Reprod Toxicol*, 23, 578-587.
- Siddiquia, S., Khana, M. R., and Siddiqui, W. A., 2010. Comparative hypoglycemic and nephroprotective effects of tocotrienol rich fraction (TRF) from palm oil and rice bran oil against hyperglycemia induced nephropathy in type 1 diabetic rats . *Chemico Biological Interactions*, 188 (3, 5), 651-658.
- Sindhu, R.K., Koo, J.R., Roberts, C.K., Naziri, N.D., 2004. Dysregulation of hepatic SOD, CAT and GPx in Diabetes: Response to Insulin and antioksidant Therapy. *Clinical Experimental Hypertension*, 26(1), 43-53.
- Sözmen, E.Y., 2002. Yaşlanma Biyokimyası. In Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y. (Eds) *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, 665-674, Ankara.
- Sperling, M.A., 2002. Diabetes Mellitus. In: Sperling M.A (eds). *Pediatric Endocrinology*. 2nd edition. Pennsylvania (USA), Saunders Elsevier Science 323-66.
- Srinivasan, S., Pari, L., 2012. Ameliorative effect of diosmin, a citrus flavonoid against streptozotocin-nicotinamide generated oxidative stress induced diabetic rats. *Chem Biol Interact*. Jan, 5, 195 (1), 43-51.
- Stahl, W., Sies, H., 2002. Introduction: Reactive oxygen species. *Research Monographs*, 1-2.
- Sticher, O., 1965. Über die Antibakterielle Wirksamkeit von Lichen islandicus mit Besonderer Berücksichtigung der Inhaltstoffe, *Pharm. Acta Helv.* 40, 385-394.
- Strout, H.V., Vicario, P.P., Biswas, C., Saperstein, R., Brady, E.J., Pilch, P.F., Berger, J., 1990. Vanadate treatment of streptozotocin diabetic rats restores expression of the insulin-responsive glucose transporter in skeletal muscle. *Endocrinology*, 126, 2728-2732.
- Sun, Y., Oberley, L.W., Y, Li., 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34 (3), 497-500.
- Szkudelski, T., 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas. *Physiol Re*, 50, 536-546.

- Şimşek, C., 2005. *Stevia rebaudiana* (Bertoni) ekstresi ve N-Nitro-L-Arginin (LNNA)'in, deneysel diyabet ve nitrik oksit sentaz üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Tamer, L., Ispir, T., Doran, F., 1997. Deneysel diyabetik siçan modelinde kalsiyum adenozin 5'trifosfat enzimi, serum malondialdehid ve alfa tokoferol düzeylerinin araştırılması. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 22 (3) 145-151.
- Taysi, S., Gül, M., Sarı, R.A., Akçay, F., Bakan, N., 2002a. Oxidant/antioxidant status in serum of patients with systemic lupus erythematosus. Clin Chem Lab Med, 40, 684-688.
- Taysi, S., Kocer, I., Memişoğulları, R., Kiziltunc, A., 2002. Serum oxidant/antioxidant status in patients with Behcet's disease. Ann Clin Lab Sci, 32 (4), 377-82.
- Taysi, S., Polat, F., Gül, M., Sarı, R.A., Bakan, E., 2002b. Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. Rheumatology International, 21 (5), 200-204.
- Tripathi, U.N., Chandra, D., 2010. Anti-hyperglycemic and anti-oxidative effect of aqueous extract of Momordica charantia pulp and Trigonella foenum graecum seed in alloxan-induced diabetic rats. Indian J Biochem Biophys, 47 (4), 227-33.
- Tuch, B., Dunlop, M., Proietto, J., 2000. Diabetes Research A Guide for Postgraduates. CRC Press.
- Tucker, B.J., Collins, R.C., Ziegler, M.G., Blantz, R.C., 1991. Disassociation between glomerular hyperfiltration and extracellular volume in diabetic rats. Kidney Int, 39 (6), 1176-83.
- Tufan Çetin, Ö., Sümbül, H., 2008. 21 Temmuz 1997 yangınında zarar gören Düzlerçamı bölgesi'nin (Antalya) likenleri. Ekoloji, 17 (67), 31-36.
- Tuomilehto, J., Zimmet, P., Wolf, E., Taylor, R., Ram, P., King, H., 1988. Plasma uric acid level and its association with diabetes mellitus and some biologic parameters in a biracial population of Fiji. Am J Epidemiol, 127, 321-336.
- Turgut, F., Çarlıoğlu, A., Alkan, R., Akdeniz, D., Haltaş, H., Şahin Balçık, Ö., Uz, E., Karataş, Ö.F., 2010. Erdosteinin Diyabetik Ratlarda Böbrek Hasarı Üzerine Koruyucu Etkisi. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 19 (3), 157-161.
- Tutel, B., 1986. Liken biyolojisi ve faydaları. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 2 (2), 185-94.
- Türkez, H., Geyikoğlu, F., Aslan, A., Karagöz, Y., Türkez O. Ve Anar M., 2010. Antimutagenic effects of lichen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zoph. extracts against the mutagenicity of aflatoxin B1 *in vitro*. Toxicology and Industrial Health, 26 (9), 625-631.
- Udayakumar, R., Kasthuriengan, S., Vasudevan, A., Mariashibu, T.S., Rayan, J.J., Choi, C.W., Ganapathi, A., Kim, S.C., 2010. Antioxidant effect of dietary supplement Withania somnifera L. reduce blood glucose levels in alloxan-induced diabetic rats. Plant Foods Hum Nutr, 65 (2), 91-8.
- Uslu, İ., 1987. Renogramın normallerde ve çeşitli böbrek hastalarında semikantitatif olarak değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, İstanbul.
- Van Haften, R.I., Evelo, C.T., Penders, J., Eijnwachter, M.P., Haenen, G.R., Bast, A., 2001. Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha tocopherol derivatives. Biochim Biophys Acta, 1548, 23-28.

- Vannucchi, H., Araujo, W.F., Bernardes, M.M., Jordao J.A.A., 1999. Effect of different vitamin E levels on lipid peroxidation in streptozotocin-diabetic rats. *Int. J. Vitam Nutr Res*, 69 (4), 250-4.
- Vantyghem, M.C., Balduyck, M., Zerimech, F., Martin, A., Douillard, C., Bans, S., Degand, P.M., Lefebvre, J., 2000. Oxidative markers in diabetic ketoacidosis. *J Endocrinol Invest*, 23, 732-6.
- Volkovova, K., Chorvathova, V., Jucovicova, M., Koszeghyova, L., Bobek, P., 1993. Antioxidative state of the myocardium and kidneys in acute diabetic rats. *Physiol Res*, 42 (4), 251-5.
- Wahl, P., Depperman, D., Hasslacher, C., 1982. Biochemistry of Glomerular Basal Membran of the normal and diabetic human. *Kidney Int*, 21, 744.
- Watkins, P.J., Drury P.L., Howell S.L., 1996. Diabetes and its management 5th ed. Blackwell Co, 3.
- Way, K.J., Katai, N., King, G.L., 2001. Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabet Med*, 18(12), 945-959.
- White, K.E., Marshall, S.M., Bilous, R.W., 2007. Are glomerular volume differences between type 1 and type 2 diabetic patients pathologically significant? *Diabetologia*, 50 (5), 906-12.
- Wirth, V., 1980. Flechtenflora. Ulmer and Co, Stuttgart.
- Wolf, G., Neilson, E.G., Goldfarb, S., Ziyadeh, F.N., 1991. The influence of glucose concentration on angiotensin II-induced hypertrophy of proximal tubular cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun.*, 176, 902-909.
- Wolff, S.P., 1993. Diabetes Mellitus and free radicals: Free radicals, transition metals and oxidative stress in the etiology of Diabetes Mellitus and complications. *British Medical Bulletin*, 49 (3), 642-52.
- World Health Organization (WHO), 1994. Study Group on Prevention of Diabetes Mellitus. Geneva. Tech Rep Ser, 844.
- Wu, J., Han, X., Zhou, J., 1999. Relationship between nitric oxide and oxygen free radicals in different duration of diabetes in rat kidney. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 24 (6), 543-5.
- Xiao, H., Li, Y., Qi, J., Wang, H., Liu, K., 2009. Peroxynitrite plays a key role in glomerular lesions in diabetic rats. *J Nephrol*, 22(6), 800-8.
- Xue, S., Chen, X., Lu, J., Jin, L., 2009. Protective effect of sulfated *Achyranthes bidentata* polysaccharides on streptozotocin-induced oxidative stress in rats. *Carbohydrate Polymers*, 3, 415-419.
- Xue, W., Lei, J., Li, X., Zhang, R., 2011. *Trigonella foenum graecum* seed extract protects kidney function and morphology in diabetic rats via its antioxidant activity. *Nutr Res.*, 31 (7), 555-62.
- Yalçın, S., 1998. Antioksidanlar. *Klinik gelişim II*, 8, 11 (1), 342-46.
- Yardım Akaydın, S., Sepici, A., Özkan, Y., Şimşek, B., Sepici, V., 2006. Evaluation of allantoin levels as a new marker of oxidative stress in Behçet's disease. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 35 (1), 61-64.
- Yardım Akaydın, S., Sepici, A., Özkan, Y., Torun, M., Şimşek, B., Sepici, V., 2004. Oxidation of uric acid in rheumatoid arthritis: Is allantoin a marker of oxidative stress? *Free Radical Research*, 38 (6), 623-628.
- Yenigün, M., 1995, Her Yönüyle Diabetes Mellitus, Haseki Hastanesi Vakfı Yayını, II, 8-80 s.

- Yenigün, M., Altuntaş, Y., 2001. Her Yönüyle Diabetes Mellitus, Nobel Tıp Kitabevleri, 2. baskı, İstanbul, 3-6, 51-62, 337-402, 383-389, 285-513.
- Yeşilot, S., 2008. Diyabetik ratlarda Aspirin ve Nimesulid'in diyabete bağlı doku hasarı üzerine olan etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı. Isparta.
- Yıldar, Mç, 2008. Deneysel renal iskemi/reperfüzyon hasarında splenektomi ve gadolinium chloride (gdcl3)' in koruyucu etkisi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul
- Yılmaz, B., 1999. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. Feryal Matbaacılık, Birinci Basım, Ankara.
- Yılmaz, M., Özdemir Türk, A., Tay, T., Kıvanç, M., 2004. The antimicrobial activity of extracts of lichencladonia foliacea and its (-)-usnic acid, atranorin and fumarprotocetraric acid constituents. Zeitschrift für Naturforschung, 59, 249-254.
- Yılmaz, M.T., 1997. Editörden Galenos Aylık Sağlık Meslek Dergisi, 1, 3.
- Young, I.S., Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol, 54, 176-186.
- Young, S.g., Parthasarathy, S., 1994. Why are low density lipoproteins atherogenic? West J Med, 160, 153-64.
- Yuan, C.S., Bieber, E.J., 2003. Textbook of complementary and alternative medicine. Publishing Group, New York, USA.
- Yücel, G., Alıcıgüzel, Y., Aksu, A., Gümüşlü, S., 1989. Serik orjinli bir ailede asidik pH'da yüksek aktivite gösteren G-6-PD varyantı. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 4 (2).
- Zafar, M., Naqvi, S.N.H., Ahmed, M. and Kaimkhani, Z.A., 2009. Altered kidney morphology and enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. Int J Morphol, 27 (3), 783-790.
- Zeren, Z., 1971. Sisatematik İnsan Anatomisi, Sermet Basımevi, İstanbul, 679-687.
- Zeren, Z., Eralap, İ., 1972. Topoğrafik Anatomi, Sermet Basımevi, İstanbul. 415-420.
- Zeybek, U., J.Volker., 1992. Likenler (Lichenes), Kimyasal Bilesikleri ve Tıbbi Kullanımları, Pharmacia-JTPA, 32(1), 37-48.
- Zhang, X.F., Tan, B.K., 2000. Antihyperglycaemic and antioxidant properties of Andrographis paniculata in normal and diabetic rats. Clin. Exp Pharmacol Physiol, 27 (5-6), 358-63.
- Zurnadzhi, IuN, Efimov, A.S., Bogdanova, T.I., Mel'nik, I.M., Bragarnik, M.N., 1987. Submicroscopic restructurings in the glomerular portion of the rat nephron in streptozotocin diabetes and their possible drug correction. Probl Endokrinol (Mosk)., 33 (3), 54-9.
- Zúrová-Nedelceková, J., Navarová, J., Drábiková, K., Jancinová, V., Petříková, M., Bernátová, I., Kristová, V., Snirc, V., Nosál'ová, V., Sotníková, R., 2006. Participation of reactive oxygen species in diabetes-induced endothelial dysfunction. Neuro Endocrinol Lett., 27 (2), 168-71.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Malatya’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Malatya’da tamamladı. 2001 yılında Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümüne yerleşti. 2001-2002 eğitim-öğretim yılında kayıt dondurdu. 2007 yılında yerleştiği bölümden başarıyla mezun oldu. 2008 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Genel Biyoloji Bilim Dalı’nda doktora öğrenimine hak kazandı.