

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DIYABETİK ERİŞKİN DİŞİ SİÇANLARDA KURKUMİNİN OPTİK
SİNİR ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

İzem Olcay ŞAHİN

Danışman
Prof. Dr. Süleyman KAPLAN

SAMSUN
2020

BİLİMSEL ETİŐE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım yüksek lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden olduğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

... / ... / 2020

İzem Olcay ŞAHİN

ÖZET

DİYABETİK ERİŞKİN DİŞİ SIÇANLARDA KURKUMİNİN OPTİK SİNİR ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

İzem Olcay ŞAHİN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,

Yüksek Lisans, Ağustos / 2020

Danışman: Prof. Dr. Süleyman KAPLAN

Bu çalışmada streptozosin (STZ) ile indüklenmiş diyabetik sıçanların optik sinirde hiperglisemi kaynaklı oluşan hasar üzerine, kurkuminin muhtemel koruyucu / terapötik etkilerini stereolojik yöntemlerle araştırmak amaçlanmıştır. Çalışmamızda 12 haftalık 42 adet *Wistar albino* cinsi dişi sıçan kullanıldı. Denekler, her grupta altı hayvan olmak üzere rastgele yedi gruba ayrıldı. Diyabet modeli oluşturulması amacıyla, deneklere 50 mg/kg STZ intraperitoneal yolla verildi (DM grubu). Kurkumin uygulaması 14 gün (30 mg/gün) boyunca gavaj yoluyla yapılmış olup, Diyabet-Kurkumin 1 grubunda (DK1) model oluşturulduktan yedi gün sonra, Diyabet-Kurkumin 2 grubunda (DK2) 21 gün sonra, Diyabet-Kurkumin 3 grubunda (DK3) ise diyabetik model oluşturulmasıyla eş zamanlı olarak kurkumin uygulamasına başlandı. Ayrıca yalnızca kurkumin (Cur) verilen grup ile yalnızca mısır yağı verilen Sham grubu olmak üzere iki grup daha oluşturuldu. Deney sonunda optik sinir dokuları çıkartılarak dokulara elektron mikroskopik takip işlemi uygulandı. Rezine gömülü dokulardan alınan yarı ince (500 nm) kesitlerde ışık mikroskopunda optik sinir kesit alanı hesaplaması, ince (70 nm) kesitlerde elektron mikroskopunda miyelinli akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı stereolojik yöntemler kullanılarak hesaplamaları yapıldı.

Stereolojik analizler sonunda diyabetin, optik sinirde miyelinli akson sayısını kontrol grubuna göre önemli derecede azalttığını ($p<0,05$), verilen kurkumin maddesinin DK2 grubunda, DM grubuna göre miyelinli akson sayısını önemli ölçüde koruduğunu gözledik ($p<0,05$). Diğer parametreler (akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı) bakımından kurkumin uygulamasının diyabete karşı koruyucu bir etkisinin olmadığını stereolojik yöntemler ile belirledik ($p\geq 0,05$). Buna karşın doku kesitlerinin elektron mikroskopta yapılan histopatolojik değerlendirmelerinde diyabetin optik sinir üzerindeki olumsuz etkilerinin kurkumin uygulaması ile iyileştirildiği gözlemlendi. Antioksidan özelliği sayesinde kurkumin, optimal uygulama yöntemiyle, özellikle diyabetin etkilerine karşı optik sinirde iyileştirici etki gösterebilir.

Anahtar Sözcükler: optik sinir, diyabet, kurkumin, oksidatif stres, stereoloji.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF EFFECTS OF CURCUMIN ON THE OPTIC NERVE IN DIABETIC FEMALE ADULT RATS

İzem Olcay ŞAHİN

Department of Histology and Embryology

Institute of Graduate Studies

Ondokuz Mayıs University

M.Sc., August / 2020

Supervisor: Prof. Dr. Süleyman KAPLAN

In this study, it was aimed to investigate the possible protective and therapeutic effects of curcumin against the damage caused exerted by hyperglycaemia on the optical nerves of rats with diabetes induced by streptozocin (STZ) by using stereological methods. In our study, 42 Wistar albino female rats of 12 weeks old were used. Subjects were randomly divided into seven groups, six animals in each group. In order to establish a diabetes model, 50 mg / kg STZ was given intraperitoneally to the subjects (DM group). The curcumin administration done via gavage for 14 days (30 mg/day) and was started on the 7th day after the establishment of the diabetes- curcumin 1 group (DC1), 21 days after the establishment of the model for the diabetes-curcumin 2 group (DC2), and on the same day with the establishment of the model for the diabetes-curcumin 3 group (DC3). Moreover, two more groups were arranged as curcumin-only group and corn oil- only sham group. At the end of the experiment, the optical nerve tissues were extracted and the tissues were subjected to electron microscopy tissue processing. Light microscopy optical nerve section area estimation was done for the semi-thin sections obtained from tissues embedded in resin and the estimations for myelinated axon number, axon area and myelin sheath thickness were done for thin (70 nm) sections, by using stereological methods.

As the result of stereological analyses, we observed that diabetes significantly decreased the myelinated axon number in optical nerve in comparison to control group ($p < 0.05$) and that curcumin administration significantly protected the myelinated axon number in DK2 group in comparison to DM group ($p < 0.05$). We observed that curcumin has no protective effect against diabetes in terms of other parameters (axon area, myelin sheath thickness) via stereological methods ($p \geq 0.05$). However, in the histopathological evaluations performed with electron microscopy, curcumin was seen to alleviate the harmful effects of diabetes on the optic nerve. Due to antioxidant effect of curcumin, with optimal application, it could have healing properties on optic nerve against diabetic mellitus impacts.

Keywords: optic nerve, diabetes, curcumin, oxidative stress, stereology.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca harcamış olduğu yoğun mesai ve emekten dolayı başta tez danışmanım Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Süleyman KAPLAN' a; tez dokularımın temininde ve çalışmamın tüm basamaklarında her zaman yardımını gördüğüm Dr. Kıymet Kübra YURT'a; tez dokularımdan yarı ince ve ince kesitleri büyük bir özveri ile alan İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi sayın hocam Prof. Dr. Abit AKTAŞ'a; doku kesitlerinden stereolojik analizleri ve histopatolojik analizleri yapabilmem için elektron mikroskopunda görüntüleri sabırla ve titizlikle alan KİTAM çalışmanı Biyolog Yunis GEDİK'e, tezimin taslağını okuma zahmetinde bulunan ve önemli katkı sağlayan Arş. Gör. Gamze Altun'a; Anabilim Dalımız Sekreteri Ayşegül SAKALLI'ya ve Teknisyeni Hüseyin SARICAOĞLU'na; Anabilim Dalımızda beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan ve destekleyen hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma; tez çalışmalarım ve hayatım boyunca yardımlarını esirgemeyen, yetişmemde emeği olan annem Ümmühan ŞAHİN'e, babam Erhan ŞAHİN'e ve ablam çocuk ve ergen psikiyatristi Dr. İrem ŞAHİN'e, kardeşim Ömer Alp ŞAHİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yukarıda isimlerini saydıklarım ve sayamadıklarımın o çok değerli katkı ve yardımları olmasaydı bu tez çalışmasını yapabilmem mümkün değildi, kendilerine tekrar teşekkür ve minnettarlığımı belirtmek isterim.

Bu çalışma, PYO.TIP.1904.19.005 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı üniversitemize teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Diabetes Mellitus.....	5
2.2. Diyabetin Sınıflandırması	5
2.2.1. Tip 1 DM.....	5
2.2.2. Tip 2 DM.....	6
2.2.3. Gestasyonel DM	7
2.2.4. Spesifik Diyabet Tipleri	7
2.3. Diyabette Tanı Kriterleri.....	7
2.4. Diyabet Komplikasyonları	8
2.4.1. Diyabetik Nefropati	8
2.4.2. Diyabetik Retinopati	9
2.4.3. Diyabetik Nöropati.....	9
2.4.4. Diyabetik Optik Nöropati.....	11
2.5. Optik Sinirin Anatomisi ve Histolojisi	13
2.5.1. Beslenme	16
2.6. Kurkumin	16
2.7. Stereoloji.....	19
2.7.1. Optik Sinirde Stereoloji Uygulamaları.....	20
2.7.2. Tarafsız Sayım Çerçevesi	21
2.7.3. İki Boyutlu Disektör.....	22
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1. Grupların oluşturulması	23
3.2. Streptozosin ile İndüklenmiş Deneysel Diyabet Modeli Oluşturma.....	24
3.3. Optik Sinir Doku Örneklerinin Hazırlanması	24
3.4. Histolojik Yöntem	25
3.4.1. Elektron Mikroskopik Doku Takip İşlemleri	25
3.5. Stereolojik Yöntem.....	26
3.6. İstatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR	30
4.1. Stereolojik Bulgular.....	30
4.1.1. Miyelinli Akson Sayısı.....	30
4.1.2. Miyelinli Akson Alanı.....	31
4.1.3. Miyelin Kılıf Kalınlığı	32
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	34
4.2.1. Kontrol Grubuna Ait TEM Bulguları.....	34
4.2.2. Sham Grubuna Ait TEM Bulguları	40
4.2.3. DM Grubuna Ait TEM Bulguları	42
4.2.4. DK1 Grubu TEM Bulguları.....	47
4.2.5. DK2 Grubu TEM Bulguları.....	59
4.2.6. DK3 Grubu TEM Bulguları.....	69

4.2.7. Cur Grubu TEM Bulguları	79
5. TARTIŞMA.....	90
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	100
KAYNAKLAR.....	102
EKLER.....	119
ÖZ GEÇMİŞ	123



SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
2D	: İki boyutlu
ADA	: American Diabetes Association
A β	: Amiloid beta
APC	: Adenomatosis polyposis coli
APG	: Açlık plazma glikoz
DAG	: Diaçilgliserol
DCCT	: Diabetes Control and Complications Trial
dH ₂ O	: Distile su
Dkk 1	: Dickkopfs WNT signaling pathway inhibitor 1
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
Dvl	: Disheveled segment polarity protein
DM	: Diabetes Mellitus
DN	: Diyabetik Nöropati
FH535	: Bir TCF inhibitörü
GlcNac	: 5-difosfat-N-asetilglukozamin
GLP-1	: Glukagon benzeri peptit 1
GLUT	: Glukoz transpoteri
GPx	: Glutasyon peroksidaz
Gr	: Gram
GSH	: Glutasyon
GSK-3 β	: Glikojen sentez kinaz-3 beta
HbA1c	: Glikozile Olmuş Hemoglobin
HPLC	: Yüksek performanslı likid kromatografi
IDF	: International Diabetes Federation
IRS / PI3K / Akt	: İnsülin reseptör substrat / Fosfatidilinozitol 3 kinaz / Protein kinaz B
İGÜ	: İleri glikasyon son ürünleri

i.p.	: İnteraperitoneal
JAK-STAT	: Janus Kinase/Signal Transducer and Activator Of Transcription
JNK / IRS	: c-Jun N-terminal Kinaz / İnsülin reseptör substratı
LEF	: Lymphoid enhancer factor
LRP	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
M	: Molar
MBP	: Miyelin bazik proteini
MDA	: Malondialdehit
mg/dL	: Miligram/Desilitre
mg/kg	: Miligram/kilogram
mm	: Milimetre
mmol/L	: Milimol/Litre
Na/K-ATPaz	: Sodyum-Potasyum Pompası
Na₂B₄O₇	: Sodyum borat
NADPH / NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat / Nikotinamid adenin dinükleotit
NF-κB	: Nuclear factor κ-light-chain-enhancer of activated B cells transcription factor
ng/mL	: Nanogram/mililitre
NGSP	: Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı
Nm	: Nanometre
OGTT	: Oral glikoz tolerans testi
pH	: Potansiyel hidrojen
PKC	: Protein kinaz C
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SF	: Serum fizyolojik
siRNA	: Small Interfering RNA

Sp-1	: Spesifite protein-1
STZ	: Streptozosin
TCF	: T-cell factor
TGFβ	: Transforme edici büyüme faktör beta
ug/g	: Mikrogram/gram
VEGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü
VEP	: Visual Evoked Potential
Wif 1	: Wnt-inhibitory factor 1
Wnt	: Wint
α	: Alfa
β	: Beta
μm	: Mikrometre
μm^2	: Mikrometre kare

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), zamanla kalpte, kan damarlarında, gözlerde, böbreklerde ve sinirlerde ciddi hasara yol açan, yüksek kan şekeri seviyesi ile karakterize, yıkıcı sonuçları olan ve giderek yaygınlaşan kronik, metabolik bir hastalıktır. DM prevalansı, yerleşik yaşam tarzlarındaki artış nedeniyle dünya çapında artmaktadır (Shaw ve ark., 2010). Günümüzde özellikle gelir düzeyi düşük ve orta düzeyde olan ülkelerde görülen diyabetten etkilenen insan sayısı 1980'de 108 milyondan 2019'da 463 milyona yükselmiştir (WHO, 2016). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), diyabeti altıncı önde gelen ölüm nedeni olarak sıralamıştır ve her altı saniyede bir kişi diyabetle ilgili sorunlardan dolayı öldüğünü bildirmiştir. 2030'a kadar 578 milyon, 2045'e kadar diyabet salgınının küresel yaygınlığının 700 milyon yetişkini etkileyeceği tahmin edilmektedir (IDF, 2019). Diyabetin bu trajik artışından dolayı bu konuya verilen önemin artması da beklenen bir sonuçtur.

Dünya genelinde yaygın olarak görülen iki tip diyabet olmakla birlikte diyabetin sınıflandırılmasında tip 1 diyabet, tip 2 diyabet, gestasyonel diyabet ve spesifik diyabet tipleri bulunmaktadır. En yaygın olanı, genellikle yetişkinlerde, insüline direnç olduğunda, yeterli insülin üretimi olmadığında veya insülin fonksiyonsuz olduğunda ortaya çıkan tip 2 diyabetidir. Son 30 yılda, tip 2 diyabet prevalansı gelir düzeyi fark etmeksizin tüm ülkelerde önemli ölçüde artış göstermektedir (WHO, 2016). Daha önce genç diyabet veya insüline bağımlı diyabet olarak bilinen tip 1 diyabet, pankreastan çok az insülin üretildiği veya hiç insülin üretilmediği kronik bir durumdur. Her iki durumda da insülin dengesini sağlamak için dışarıdan müdahale gerekmektedir (WHO, 2016).

İnsan vücudu metabolik süreçlerini sürdürmek için glikoza ihtiyaç duymakla birlikte, glikoz altı reaktif hidroksil grubu içermesi sebebiyle oldukça reaktif bir moleküldür. Bu hidroksil grupları, kovalent bağlar oluşturmak üzere enzimatik olmayan reaksiyonlar yoluyla reaktif grupları proteinler, nükleik asitler ve lipitler üzerinde nükleofilik olarak bağlama eğilimindedir. Bu reaksiyonlar, topluca glikasyon olarak bilinir ve ileri glikasyon son ürünleri (İGÜ) oluşması için glikasyon gerekmesiyle birlikte bu durum glikozilasyondan (enzimatik bir reaksiyon) ayırt edilmelidir (Gkogkolou ve Böhm, 2012). Bu ileri glikasyon son ürünlerine ek olarak, polioll yolağı, heksosamin yolağı, protein kinaz C (PKC) mekanizmaları diyabetik komplikasyonlara neden olur

(Singh ve ark., 2014). Bu bağlamda, hiperglisemi zamanla özellikle vasküler sistemi etkilendiğinden dolayı vücudun hemen hemen tüm organlarında hasara neden olur. Sonucunda mikrovasküler düzeyde (retinopati, nefropati ve nöropati) veya makrovasküler düzeyde (inme, koroner kalp hastalığı, akut miyokard enfarktüsü ve periferik vasküler hastalık) kayıplara yol açar (Calcutt ve ark., 2009).

Diyabetik komplikasyonlar arasında, retinopati en yıkıcı olanlardan biridir. Diyabetik retinopatinin tahmini genel prevalansı, diyabet hastalarının %40,3'üdür, %8,2'si görme kaybına giden, çoğunlukla retinadaki vasküler hasarla gelişen diyabetik retinopatiye sahiptir (Aiello ve ark., 1998; Kempen ve ark., 2004). Görme kaybı ile sonuçlanabilen görsel yolaktaki hasarlar diyabet hastalarının yaşam kalitesini düşürmektedir. Diyabetik retinopatide retinadaki hasar haricinde görsel yolaktaki nöronların hasarı da diyabette görme fonksiyonunun erken kaybına neden olabilir (Dorfman ve ark., 2015). Bununla ilgili yapılan bir çalışmada, diyabetin vasküler hücreler dışındaki hücrelerin ölümüne ve retina ile ilişkili nöronların dejenerasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Barber ve ark., 2011). Diyabet sürecinde oluşan nöronal hasar, diyabetin bir diğer komplikasyonu olan diyabetik nöropati (DN) tablosunu ortaya çıkarmaktadır. Diyabetik hayvanların sinir sisteminde çok sayıda anatomik, fonksiyonel ve biyokimyasal değişiklik tanımlanmıştır (Tomlinson ve ark., 1992; Ozturk ve ark., 1996; Singleton ve Smith, 2012; Malone, 2016). Bu ve benzeri değişiklikler beyin, omurilik ve periferik sinirleri de etkiler. En yaygın görülen komplikasyonlardan olan diyabetik periferik nöropati, ağrı ve uyuşukluk ile sonuçlanan somatik, motor ve otonom sinir hasarını içerir (Forbes ve Cooper, 2013). Gerekli önlemler alınmadığı takdirde DN'de nihai uzuv amputasyonuna giden sonuçlarla karşılaşılabilir. Bu tür durumların önüne geçebilmek ve diyabeti daha iyi anlamak için DN patofizyolojisini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır (Obrosova, 2005; Oates, 2008; Feldman ve ark., 2017). Bu bağlamda DN mekanizmasında poliol yolağı, heksosamin yolağı, protein kinaz C, ileri glikasyon son ürünleri ve oksidatif stres patolojik öneme sahiptir (Singh ve ark., 2014). Her bir yol, tek başına sinir hücresi için zararlı olsa da toplu olarak güçlendirilmiş glikolitik işlemlerle birlikte hücrede serbest radikallerin üretilmesine yol açmaktadır. Reaktif oksijen türlerinden (ROS) ve oksidatif stresten kaynaklanan fizyolojik araçlar ve metabolik başlatıcılar, ilerleyici sinir lifi hasarı, disfonksiyon DN'de kayıp konusunda baskın bir ağırlığa sahiptir (Hosseini ve Abdollahi, 2013).

Oluşan bu oksidatif stres, mitokondriyal redoks durumunda bir dengesizliğe neden olmakla birlikte, mitokondriyal ROS'un aşırı oluşumuna yol açarak, DN başta olmak üzere diyabetik komplikasyonların ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır (Brownlee, 2001; Feldman ve ark., 2017). Diyabetin miyelinli liflerde primer olarak görülen spesifik yapısal değişikliklere (nodal ve paranodal şişlik) neden olmasına ek olarak, aksonal taşınmada farklılık ve progresif aksonal atrofi gibi değişikliklere yol açtığı da bilinmektedir (Singh ve ark., 2014). Ayrıca ortaya çıkış nedenine bağlı olarak, aksonlarda veya miyelin kılıflarında yaralanma görülebilir (Hosseini ve Abdollahi, 2013). Sağlıklı yaşam üzerindeki olumsuz etkisine rağmen ROS, hücre içi sinyalleme kaskadlarının aracılığıyla olmakla birlikte savunma mekanizmasında (fagositoz, nötrofil fonksiyonu, makrofajlar ve diğer bağışıklık sistemi hücreleri) önemli hücresel aktivitelere sahiptir (Matough ve ark., 2012; Li ve ark., 2013). Koruyucu hücresel elemanlar, hücrelerdeki ROS seviyelerini antioksidan enzimler ve enzimatik olmayan antioksidanlar yoluyla düzenlenmesine izin vermektedir (Matough ve ark., 2012; Li ve ark., 2013). Antioksidanların yetmediği durumda ortaya çıkabilecek dengesizlik sonucu oluşan problemlerde dışarıdan müdahaleyle antioksidan bileşiklerin yeterli hale getirilmesi diyabetik komplikasyonların ilerlemesini önleyebileceği bilinmektedir (Matough ve ark., 2012).

Zerdeçalın sağlık ve beslenmedeki önemi, doğal olarak oluşan fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerinin keşfinden bu yana önemli ölçüde artmıştır. Zerdeçaldan elde edilen ve aktif polifenoller olan kurkuminoidler, geniş bir farmakolojik etki spektrumuna sahiptir. Zerdeçalın en önemli bileşeni kurkumin olmakla birlikte, başka kurkuminoidler de (dimetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin) içermektedir (Shehzad ve Lee, 2010). Kurkumin, sahip olduğu güçlü antioksidan, anti-diyabetik, anti-enflamatuar, anti-anjiyogenez ve nöroprotektif etkisiyle diyabetik komplikasyonlarda önemli derecede iyileştirici ve/veya koruyucu etki göstermiştir (Zhang ve ark., 2015). Kurkuminin diyabet üzerindeki etkisini; glisemik düzeydeki azalma, pankreas β hücrelerinin antioksidan durumundaki yükselme ve diyabetik ensefalopatide yer alan mekanizmaların zayıflatılması gibi çok sayıda faaliyetle gerçekleştirmektedir (Arun ve Nalini 2002; Kuhad ve Chopra, 2007). Bazı deneysel çalışmalarda, kurkuminin antioksidan özelliği, nöroprotektif potansiyeli ve sinir sistemi üzerinde pleiotropik etkileri gösterilmiştir (Bala ve ark., 2006; Kuhad ve

Chopra, 2007; Huang ve ark., 2013; Maiti ve Dunbar, 2018). Bu bağlamda, kurkuminin çeşitli nedenlerden dolayı gelişen nörodejeneratif hastalıklar için bir tedavi ajanı olarak kullanılması savunulmaktadır, bunlar: (i) kurkumin kan beyin bariyerini kolayca geçebilir (Aggarwal ve ark., 2007; Maiti ve ark., 2016); (ii) amiloid oligomerlerini ve fibrilleri (anti-amiloid) bağlar ve ayırır (Yang ve ark., 2005; Zhang ve ark., 2006); (iii) nörodejeneratif hastalıklarda kronik enflamasyonu azaltır; (iv) güçlü bir antioksidan olarak hareket eder; (v) hayvan modellerinde gösterildiği gibi nörogenezi uyarır; (vi) olumsuz etkileri olmayan nispeten yüksek dozlarda (12 gr/gün) alınabilir (Maiti ve Dunbar, 2018); (vii) hidrofobik ve lipofilik özellikleriyle doğaya absorbe olabilir; (viii) kolayca ve ucuz bir şekilde elde edilebilir (Schneider ve ark., 2017).

Diyabet, in vivo olarak çalışılırken, buna en uygun yöntemlerden biri de streptozosin (STZ) kullanılarak deneysel diyabetik hayvan modeli oluşturma yöntemidir (Lennertz ve ark., 2011). Literatürde bu model kullanılarak diyabetik retinopati ve nöropati üzerine yapılmış çok sayıda çalışma olmasına rağmen diyabetin optik sinir üzerindeki etkileri yeterince araştırılmamıştır. Optik sinir hasarı ve iyileşme süreci morfolojik ve histopatolojik değerlendirmeye çalışılırken optik sinir, bazı parametreler bakımından değerlendirilir; miyelinli akson sayısı, aksonların çapı ve miyelin kılıf kalınlığı (Bui ve ark., 2009; Dorfman ve ark., 2015; Kaplan ve ark., 2013).

Sunulan çalışmanın amacı, STZ kullanılarak oluşturulan diyabetik sıçan modelinde yukarıda bahsedilen parametreleri değerlendirerek hipergliseminin optik sinir üzerindeki etkilerini ve ortaya çıkan bu duruma karşı kurkuminin muhtemel nöroprotektif etkilerini stereolojik ve histopatolojik yöntemlerle araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

DSÖ verilerine göre dünya çapında 420 milyonun üzerinde insanın etkilendiği ve en yaygın görülen sağlık problemlerinden biri olan DM, kan şekerini düzenleyen insülin hormonunun eksikliği ya da pankreastan insülin hormonu salınımındaki defektlerden kaynaklanan kronik hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolik hastalıktır (WHO, 2016). Anabolik bir hormon olan insülinle ilişkili sorunlarla birlikte karbonhidrat, lipit ve proteinde metabolik anormallikler görülebilir (Saltiel ve Kahn, 2001). Bu tip metabolik anormalliklere, düşük seviyedeki insülinin yeterli cevabı sağlayabilmesi ve/veya çizgili kas, yağ dokusu, karaciğer gibi hedef dokuların insülin direncine sahip olması, insülin reseptörlerinin seviyesi, sinyal iletim sistemi, efektör enzimler ve genler neden olabilmektedir (Ormazabal ve ark., 2018). Semptomların şiddeti, diyabetin tipine ve şiddetine bağlıdır. Bazı diyabet hastaları, özellikle hastalığın ilk yıllarında tip 2 diyabetliler, asemptomatik olmakla birlikte hastalarda genellikle belirgin hiperglisemi ve özellikle de mutlak insülin eksikliği olan çocuklarda poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı ve bulanık görme şikayetleri görülebilir (Kharroubi ve Darwish, 2015).

2.2. Diyabetin Sınıflandırması

DM'nin klinik sınıflandırmasında primer form olarak bilinen tip1 DM, tip 2 DM ve gestasyonel DM bulunurken sekonder formda spesifik diyabet tipleri bulunmaktadır (ADA, 2014).

2.2.1. Tip 1 DM

Tip 1 DM'de hiperglisemi bazı genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle otoimmün tepkiye bağlı olarak karmaşık bir sürecin sonunda mutlak insülin yetersizliğiyle ortaya çıkar (Davies ve ark., 1994; Kumar ve Clark, 2002; ADA, 2014). Bu süreçte T-hücresi aracılı inflamatuvar yanıt (insülit) ve humoral (B hücre) yanıt aracılığıyla pankreatik β hücrelerinin otoimmün yıkımı gerçekleşmektedir (Devendra ve ark., 2004). Bazı oto-antikorlar, hastalığın patogenezindeki rolü net olmamasına rağmen, tip 1 DM'nin ayırt edici özelliğidir. Bu oto-antikorlara anti-insülin, anti-adacık, anti-glutamik asit dekarboksilaz örnek verilebilir (Vermeulen ve ark., 2011). %10

oranda ise idiopatik tip1 DM ve otoimmün sebepler dışında çeşitli nedenler sonucunda mutlak insülin eksikliğiyle oluşan ve adacık antikorlarıyla ayırt edilemeyen tip1 DM görülmektedir. Tip 1 DM, tüm diyabet tiplerinin yaklaşık %5-10'unu oluşturmaktadır (Maahs ve ark., 2010). Tip 1 DM %80-90 oranda çocuklarda ve genç yetişkinlerde görülmekle birlikte aslında her yaşta görülebilmektedir (Craig ve ark., 2009; Dabelea ve ark., 2014; ADA, 2014). Tip 1 DM genellikle aniden gelişir ve çocuklarda ve ergenlerde polidipsi, poliüri, enürezis, enerji eksikliği, aşırı yorgunluk, polifaji, ani kilo kaybı, yavaş iyileşen yaralar, tekrarlayan enfeksiyonlar, şiddetli dehidrasyon ile bulanık görme ve diyabetik ketoasidoz gibi belirtiler görülebilir (IDF, 2019). Hastalar yaşam boyu ekzojen insülin tedavisine bağımlıdırlar (Baynes, 2015).

2.2.2. Tip 2 DM

Tip 2 DM, vakaların %90-95'ini kapsayarak diyabet yükünün çoğunluğunu oluşturmaktadır. Diyabetin bu biçiminde göreceli insülin eksikliğine ve periferik insülin direncine sahip olan bireyler bulunmaktadır. En belirgin şekilde insülin hassasiyetinin azaldığı görülen dokular, bu bölgelerdeki glikoz alımına ve metabolizmasına yönelik özel gereksinimlere bağlı olarak iskelet kası, karaciğer ve yağ dokusunu içerir (Kharroubi ve Darwish, 2015). Bu tipteki diyabetin birçok farklı sebebi vardır. Spesifik etiyolojiler bilinmemekle birlikte, β hücrelerinde otoimmün yıkımı gerçekleşmez. Bu şekildeki diyabetli hastaların çoğu obezdir. Obezite, insülin direncine ve hiperglisemiye neden olmaktadır (Kahn ve ark., 1993). Geleneksel kilo ölçütlerine göre obez olmayan hastalar, ağırlıklı olarak abdominal bölgede biriken yağ ile vücut yağ yüzdesinde artışa neden olabilir. Ketoasidoz nadiren bu tip diyabetlerde kendiliğinden ortaya çıkmakla birlikte genellikle enfeksiyon gibi başka bir hastalığın stresiyle ilişkili olarak görülmektedir. Hipergliseminin yavaş gelişmesi ve hastaların erken evrelerde semptomları fark edememesi sebebiyle teşhis geç konulmaktadır. Bununla birlikte, bu tür hastalarda makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişme riski artmaktadır. Tip 2 DM'de normal veya yükselmiş insülin seviyeleri görülebilirken, yüksek kan glikoz seviyesi β hücrelerinin fonksiyonu normal olmasına rağmen yüksek insülin seviyesi ile sonuçlanabilmektedir. İnsülin sekresyonu kusurlu olduğundan insülin direncini telafi etmek için yetersiz kalmaktadır. İnsülin direnci, kilo verme ve/veya hipergliseminin farmakolojik tedavisi ile nadiren normale dönmekle birlikte

kontrol altına alınabilmektedir. Genetik faktörler tam olarak tanımlanamasa da bu tipte yatkınlığa neden olduğu düşünülmektedir (ADA, 2018).

2.2.3. Gestasyonel DM

Gestasyonel DM, gebeliğin üçüncü trimesterinde ortaya çıkan geçici bir durumdur (WHO, 2016). Gebelikte Tip 1 DM gelişen ve gebelik sırasında saptanan, tanı konmamış asemptomatik Tip 2 DM'li kadınlar gestasyonel DM tanısı almaktadır ve uzun dönemde Tip 2 DM geliştirme riski olduğundan gestasyonel DM tanısı almış kadınlarda yaşam boyu prediyabet ve Tip 2 DM için tarama yapılmalıdır (Kim ve ark., 2002).

2.2.4. Spesifik Diyabet Tipleri

Eskiden gençlerde görülen tip 2 DM olarak da bilinen spesifik diyabet tiplerinde çeşitli etiyolojiler bulunmaktadır. Bu grupta β hücre fonksiyonunda ya da insülinin çalışmasındaki genetik defektler, pankreatit veya kistik fibrozis gibi ekzokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler, çeşitli ilaçlar, kimyasallar ve enfeksiyonların neden olduğu pankreatik disfonksiyon, immün-aracılı diyabetin nadir formları ve diyabetle ilişkili olabilen diğer bazı genetik sendromlara bağlı olarak gelişebilmektedir (ADA, 2014).

2.3. Diyabette Tanı Kriterleri

Diyabet, biyokimyasal olarak idrar veya kan testleri ile tanımlanabilir. Diyabet tanısında hiperglisemi göstergesi esas alınmaktadır. Tanı koyarken plazma glikozunun (açlık plazma glikozu veya oral glikoz toleransı) veya hemogloblin A1c (HbA1c)'nin seviyeleri değerlendirilmektedir. 8-10 saatlik açlık plazma glikoz (APG) düzeyinin 7,0 mmol/L (126 mg/dL) ve üzerinde olduğu veya 75 gr iki saatlik oral glikoz tolerans testinde (OGTT) 11,1 mmol/L (200 mg/dL) ve üzerinde değerlerin olduğu gösterilmelidir (WHO, 2006). Rastgele ölçülen plazma glikoz değeri 200 mg/dL olmalıdır. Önceki 120 günlük periyotta gliseminin seviyelerini yansıtan glikozillenmiş HbA1c için eşik değer %6,5 (48 mmol/mol) ve üzerinde olarak belirlenmiştir (WHO, 2006). Yanlış tanıyı önlemek için A1c testi, Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı (NGSP) tarafından onaylanmış ve sonuçların DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) çalışmasında kullanılan ve altın standart olarak kabul edilen HPLC (yüksek performanslı likid kromatografi) yöntemine göre standardize edilmiş olması

gerekmektedir (WHO, 2006; ADA, 2014). Gestasyonel diyabet tanısı için 75 gr OGTT'den sonra APG 92 mg/dL (5,11 mmol/L), 1 saatlik OGTT 180 mg/dL (10,0 mmol/L) veya 2 saatlik OGTT 153 mg/dL (8,49 mmol/L) üzerinde değerler olmalıdır (Kharroubi ve Darwish, 2015).

2.4. Diyabet Komplikasyonları

Diyabet sürecinde akut ve kronik komplikasyonlar gelişebilmektedir. Akut komplikasyonlar, hipoglisemi olarak veya diyabetik ketoasidoz ve hiperglisemik hiperozmolar durumla sonuçlanan hiperglisemi olarak karşımıza çıkmaktadır (Forbes ve Cooper, 2013). Uzun süreli DM vazokonstriktör-vazodilatör dengesinde değişiklikler oluşturup etkilenen bölgelerde bozulmuş kan akışına yol açar (Creager ve ark., 2003). Kronik komplikasyonlar, kılcal damarların etkilendiği mikrovasküler ve arterlerin etkilendiği makrovasküler komplikasyonlar olarak iki ana başlıkta incelenebilir. Sık görülen makrovasküler komplikasyonlar arasında miyokart enfarktüsü, inme olarak kendini gösteren serebrovasküler hastalık ile sonuçlanan hızlanmış kardiyovasküler hastalık ve periferik arter hastalığı sayılabilir (Fowler, 2008). Mikrovasküler komplikasyonlar ise diyabetik retinopati, nefropati ve nöropati olarak görülmektedir (Fowler, 2008). Diyabet, körlüğün, son dönem böbrek hastalığının ve güç kaybına neden olan periferik nöropatilerin dünya çapında önde gelen bir nedeni olmakla birlikte komplikasyonlar uyku bozukluğu, anksiyete, depresyon ve düşük sosyal işlevsellik prevalansı ile de ilişkilidir (Boulton ve ark., 2013).

2.4.1. Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati, böbreklerdeki küçük kan damarlarındaki hasar sonucu oluşabilmekte birlikte, son evre böbrek hastalığının başlıca nedenlerinden olan diyabetik nefropatide etkili olan yüksek glikoz konsantrasyonu, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, mesangiyal hücreler, podositler, tübüler ve toplayıcı kanal sistemin hücreleri, enflamatuar hücreler ve miyofibroblastlar dahil olmak üzere çeşitli böbrek hücrelerini etkileyerek böbrek hasarına yol açmaktadır (Forbes ve Cooper, 2013). Kan basıncına bağlı hemodinamikteki hem sistemik hem de böbrek içinde değişimin, diyabetin erken döneminde ortaya çıktığı ve glomerüler hiperfiltrasyon ile karakterize edildiği bildirilmiştir (Forbes ve Cooper, 2013). Diyabetik nefropati dört fazda ortaya çıkar; mikroalbuminüri, makroalbuminüri, nefrotik sendrom ve sonunda diyaliz gerektiren

kronik böbrek yetmezliği (Grundy ve ark., 1999). Altta yatan hipertansiyon varlığı nefropatinin seyrini hızlandırmaktadır (Sarnak ve ark., 2003).

2.4.2. Diyabetik Retinopati

Diyabetik retinopati, diyabet hastalarında görülen körlüğün en yaygın sebebidir (Fong ve ark., 2004). Yeni damarların büyümesiyle sonuçlanan retinal vasküler lezyonlar görülmektedir. Diyabetik retinopati, proliferatif ve proliferatif olmayan iki aşamaya ayrılır. Proliferatif olmayan aşama ilk ya da ikinci dekatta görülür. Retinal vasküler mikronörozmler, leke kanamaları, pamuk-yün lekeleri, retinal perisitlerin kaybı, artmış retinal vasküler geçirgenlik, bölgesel kan akımında değişiklikler ve anormal retinal mikrovasküler yapı görülmektedir. Bunların hepsi retinal iskemiye ve zamanla görme kaybına yol açmaktadır (Aiello ve ark., 1998). Proliferatif retinopatide retinal hipoksiye yanıt olarak neovaskülarizasyon görülür. Yeni oluşan damarlar optik sinir ve/veya makülada ortaya çıkabilir ve kolayca kanama, fibrozis ve nihayetinde retina dekolmanına yol açabilmektedir (Aiello ve ark., 1998).

2.4.3. Diyabetik Nöropati

Diyabet hastalarının yaklaşık yarısı bir dereceye kadar distal simetrik polinöropatiye, mono-nöropatiye ve/veya otonom nöropatiye sahip olabilmektedir (Singleton ve Smith, 2012). Polinöropatide periferik duyu kaybı görülmekle birlikte periferik mikrovasküler ve makrovasküler bozulmalar ile birleştiğinde, amputasyon gerektirebilen ve iyileşmeyen ülserlere rastlanabilmektedir (Singleton ve Smith, 2012). Aksonların kalınlaşması, mikrofilamanlarda azalma ve küçük miyelinli veya miyelinsiz C-lifleri içeren kapiller daralma vardır (Ritz ve Orth, 1999). Bu durum, sinir parenkimasına doğrudan hiperglisemi kaynaklı oluşan hasardan ve endotel hücre aktivasyonu, perisit dejenerasyonu, bazal membran kalınlaşması ve monosit yapışması gibi mikrodamarlar anormalliklerine yol açan nöronal iskemiden ortaya çıkabilir (Forbes ve Cooper, 2013). Yaygınlığı polinöropatiden daha az olan mono-nöropati, izole kraniyal veya periferik sinirlerin işlev bozukluğunu içerir (Ritz ve Orth, 1999). Otonom nöropati, kardiyovasküler, gastrointestinal, genitoüriner, sudomotor ve metabolik sistemler dahil olmak üzere birçok sistemi içerebilir (Ritz ve Orth, 1999). Yüksek glikoz seviyeleri, nonvasküler hasar ile ilişkilendirilen göz merceği, periferik sinir, miyelin kılıfı ve miyelinsiz otonomik sinirleri içermekle birlikte bu anormallikler

otonom fonksiyonun düzensizliğinin yanı sıra katarakt, duyu kaybı ve propriyosepsiyona neden olurlar (Malone, 2016).

Diyabetik Nöropatinin Patofizyolojisi

DN'de mikrovasküler hasarların haricinde çeşitli biyokimyasal mekanizmalar da patolojik bir sürece neden olmaktadır (Singh ve ark., 2014). Bunlar; poliols yolağı, heksosamin yolağı, PKC, ileri glikasyon son ürünleri (İGÜ), oksidatif stres şeklinde sıralanabilir (Feldman ve ark., 2017).

Hiperglisemi durumunda fazla glikoz metabolize edilmek üzere poliols yolağına aktarılarak aldoz redüktaz ve sorbitol dehidrojenaz enzimleri tarafından sorbitol ve fruktoza dönüştürülür (Carrington ve Litchfield, 1999). Hücrede membran geçirgenliğinin de değişmesiyle sorbitol ve fruktoz birikir (Kubo ve ark., 2004). Bu durum Na/K-ATPaz'ın temel bir bileşeni olan miyoinositol kaybına, membran Na/K-ATPaz aktivitesinin azalmasına, aksonal transportun bozulmasına ve sinirlerde yapısal bozulmaya neden olup, anormal aksiyon potansiyeli yayılmasına yol açarak hücrenin normal fizyolojisini bozar (Feldman ve ark., 2017). Artmış aldoz redüktaz aktivitesi, temel bir antioksidan olan glutatyonun (GSH) detoksifikasyonda bir ko-faktör olarak kullandığı nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)'ın azalmasına neden olarak hücre içinde oksidatif stresi indükleyebilir (Obrosova, 2005; Oates, 2008).

Aşırı glikoza cevaben artan glikoliz, ek olarak, nöronal hasarı arttırabilen birkaç metabolik yolu da bozar (Feldman ve ark., 2017). Glikoliz ara maddesi olan fruktoz-6-fosfat, heksosamin yolağına girer ve üridin 5-difosfat-N-asetilglukozamin (GlcNac) oluşturmak için bir dizi reaksiyona girer (Feldman ve ark., 2017). GlcNac, serin / treonin rezidülerini Sp-1 gibi transkripsiyon faktörleri üzerine bağlayan, lipit dishomeostazi ve enflamasyonu artıran, periferik sinirler de dahil olmak üzere komplikasyona eğilimli dokuların yaralanmasını kolaylaştıran şeker kısımlarından biridir (Du ve ark., 2000).

Artan glikoliz ayrıca, diaçilgliserol'e (DAG) dönüştürülen başka bir ara ürün olan dihidroksi-aseton fosfatın birikmesine de yol açar. DAG'daki artışların özellikle nöronal PKC'yi aktive ettiği belirtilmiştir (Eichberg, 2002). Aktive edilmiş PKC, insülin direncine, Na/K-ATPaz fonksiyonunun bozulmasına, vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ve transforme edici büyüme faktör beta (TGFβ) genlerinin ekspresyonunun

değişmesine, vazokonstriksiyona, hipoksiye neden olan birçok metabolik bozukluğa yol açmaktadır (Gerald ve King, 2010).

Proteinlerin enzimatik olmayan glikasyon yoluyla modifikasyonu sonucu İGÜ oluşur (Singh ve ark., 2001). Glikoz, fruktoz ve reaktif glikolitik ara ürünler, metilglioksal gibi proteinleri, lipitleri ve nükleik asitleri enzimatik olmayan reaksiyonla değiştirebilirler (Singh ve ark., 2001; Thornalley, 2002). Böylece İGÜ, hücre metabolizması ve aksonal taşınımı etkileşime girerek nöronal bütünlüğü ve onarım mekanizmalarını bozmaktadır (Ryle ve Donaghy, 1995).

Oksidatif stres, uzun süreli hipergliseminin bir sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır (Baydas ve ark., 2003). Sinir fonksiyon bozukluğu ve hücre ölümü, diyabetle ilişkili redoks dengesizliklerin tetiklediği karmaşık olayları kapsamaktadır (Singh ve ark., 2014). Diyabet sürecinde fazla glikoz / yağ asidi akışı, İGÜ, poliol, PKC ve heksosamin yollarında doğrudan ROS oluşumu, GSH, superoksit dismutaz gibi antioksidanların fonksiyonunun bozulması, glikozun oto-oksidasyonu hücrede oksidatif stres oluşmaktadır (Niedowicz ve Daleke, 2005; Singh ve ark., 2014; Feldman ve ark., 2017). Ayrıca, ROS artışı, hücrede enflamatuvar duruma yol açmakla birlikte aksonda mitokondriyal apoptozu da indüklemektedir (Fernyhough, 2015).

2.4.4. Diyabetik Optik Nöropati

Diyabetik optik nöropati daha kolay anlaşılması için üç başlıkta incelenebilir. Bunlar, diyabetik papillopati, diyabet zemininde gelişen arteritik olmayan iskemik optik nöropati, optik atrofi şeklinde sıralanabilir (Önder, 2014).

Diyabetik papillopati diyabet sürecinde oluşan, optik diskte meydana gelen vaskülopati olarak tanımlanabilir (Önder, 2014). Optik diskteki vasküler sızıntı aksoplazmik akımın bozulmasına ve optik sinir başının şişmesine neden olur (Önder, 2014). Diyabetik papillopati mekanizması nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ülkemizde özellikle tip 2 DM hastalarında diyabetik papillopatinin görülme sıklığı nadir değildir (Önder, 2014).

Arteritik olmayan anterior iskemik optik nöropati en sık görülen iskemik optik nöropati ve ikinci en yaygın optik nöropatidir (Berry ve ark., 2017). Hastalar genellikle DM, hipertansiyon ve obstrüktif uyku apnesi gibi vaskülopatik risk faktörleri taşıyan insanlardır (Berry ve ark., 2017). Patofizyolojisi tam olarak anlaşılacakla birlikte kısa posterior siliyer arterler tarafından sağlanan optik sinir başının retrolaminar

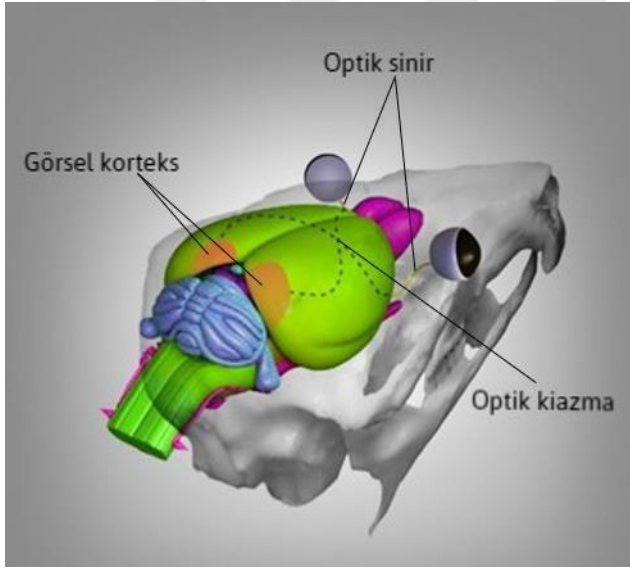
kısımında dolaşım yetersizliği veya infarktten kaynaklandığı düşünülmektedir (Rootman ve Bulter, 1980; Quigley ve ark., 1985; Tesser ve ark., 2003). Bu durum, görme bozukluğuna neden olan, optik diskte aksonal ödeme yol açar (Miller ve Arnold, 2015). Optik atrofi, genellikle tip 1 DM hastalarında görülür ve otozomal resesif geçişli Wolfram sendromu içinde yer alır (Urano, 2016). Wolfram sendromu, diabetes insipidus, DM, optik atrofi ve sağırılığı içermektedir (Urano, 2016). Nörodejeneratif hastalık olan ve progresif bir süreç izleyen bu sendromda DM tanılı hastalarda ilk dekadda optik atrofi ortaya çıkarken, ikinci dekadda diabetes insipidus ve sağırılık görülür (Ari ve ark., 2007). Ek olarak, diyabetin optik sinir üzerinde neovaskülarizasyona, santral ven tıkanıklığına yol açan olumsuz etkileri olmakla birlikte diyabet, glokomatöz optik nöropati için bir risk faktörüdür (Nakamura ve ark., 2005; Yanoff ve Sassani, 2009). Diyabet, aynı zamanda glokomda optik disk kanamaları için risk faktörleri arasındadır (Yanoff ve Sassani, 2009).

Diyabetik retinopatinin gelişiminden önce bile özellikle retinanın superior segmentinde sinir lifi tabakası azalır (Yanoff ve Sassani, 2009). Diyabetik hastalarda çok erken evrelerde veya retinopatinin başlangıcından önce görsel fonksiyon bozuklukları gösterilmiştir (Jackson ve Barber, 2010). Bu bağlamda diyabetin, nonvasküler hücre ölümü ve retinal nörodejenerasyona neden olduğu belirtilmiştir (Barber ve ark., 2011). Retinadaki veya görsel yoldaki nöronların kaybolması ya da yeniden biçimlenmesi, diyabetin görme fonksiyonunun erken kaybına neden olabilir (Dorfman ve ark., 2015). Deneysel diyabet modelinde yapılan bir çalışmada optik sinir fiberlerinde meydana gelen aksonal dejenerasyon haricinde büyüme gecikmesi de gerçekleştiği belirtilmiştir (Flores ve ark., 2000). Yetişkin diyabetik sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada diyabet grubunda bulunan sıçanların optik sinir distal aksonlarında miyelin kılıfta organizasyon bozukluğu, total akson sayısında ve sinir alanında azalma gözlemlenmiştir (Dorfman ve ark., 2015). STZ ile indüklenmiş deneysel diyabet modeli oluşturularak elde edilen diyabet grubunda bulunan sıçanlardan alınan optik sinir dokuları üzerinde yapılan analizlerde miyelin kılıf kalınlığında ve sinir fasikülü alanında anlamlı bir azalma, total akson sayısı ve akson çapında bir dereceye kadar azalma, kan damarları ve bağ doku alanında anlamlı bir artma görülürken, optik sinir alanında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (Bui ve ark., 2009).

2.5. Optik Sinirin Anatomisi ve Histolojisi

Görsel yol, görsel bilgileri işlenmek üzere çevreden beyne taşıyan hücre ve sinaps serisinden oluşur. Fotoreseptör hücreler görme yollarının birinci nöronu olan bipolar hücrelerle sinaps yaparlar. Bipolar hücreler ise görme yollarının ikinci nöronu olan ganglion hücreleri ile sinaps yaparlar. Ganglion hücrelerinden çıkan sinir lifleri papillada toplanarak optik siniri oluştururlar. Her iki optik sinir birleşerek kiazmayı oluşturur. Kiazmada temporal retinadan gelen sinir lifleri çaprazlaşmadan geçerken nazal retinadan gelen lifler çaprazlaşarak karşı tarafa geçerler. Kiazmadan sonra lifler optik traktus adını alırlar. Optik traktus, lateral genikulat cisimcikte 3. sinapsı yapar; buradan çıkan nöronlar optik radyasyon yolu ile görme korteksine giderler (Remington, 2012) (Şekil 1).

Optik sinir (2. kranial sinir) diensefalondan gelişmesiyle merkezi sinir sisteminin bir parçası sayılan ve görmeden sorumlu özel bir duyu siniridir (Moore, 2016). Optik sinir beynin bir uzantısı olduğundan intraorbital kısım merkezi sinir sistemi meninksleriyle (dıştan içe dura mater, araknoid mater ve pia mater) çevrelenir (Yanoff ve Sassani, 2009).



Şekil 1. Sığanda optik sinirin basit görsel yolağı (Wilks ve ark., 2013'den uyarlanmıştır)

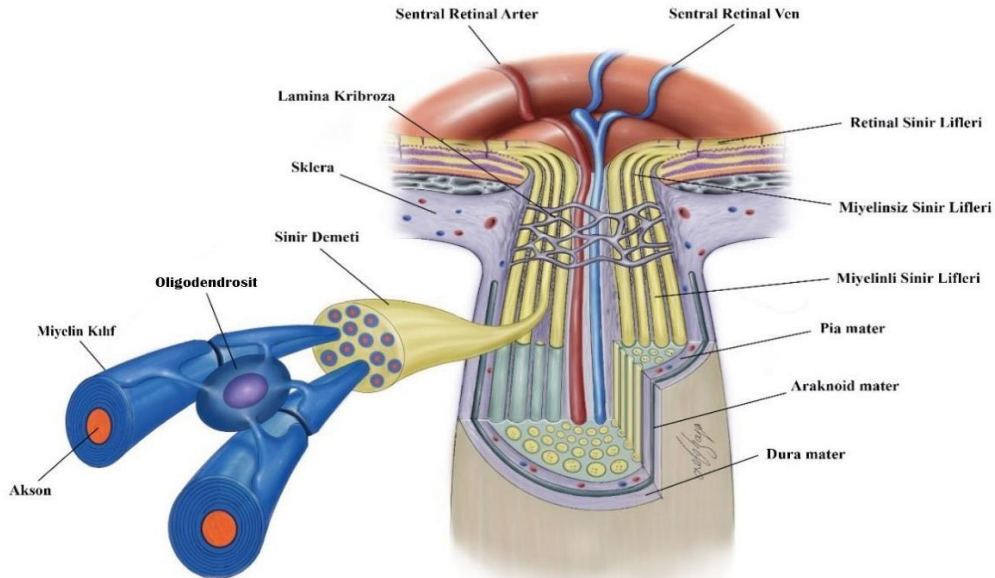
Optik sinirin uzunluğu, göz küresinden kiazmaya (intraoküler kısım 1 mm, intraorbital kısım 25 mm, intrakanaliküler kısım 4–10 mm ve intrakranial kısım 10 mm) toplam 35-55 mm'dir (Hayreh, 2011). Optik sinir dört kısımda incelenebilir.

1. İntraokuler kısım: Optik sinir başı ya da optik disk de denilen bu kısım göz küresinin içinde 1,5 mm genişliğinde ve 1 mm kalınlığındadır. Retinanın beslenmesini sağlayan santral retinal arter ve ven bu kısmın ortasından geçmektedir. İntraokuler kısım, önden arkaya doğru sinir lifi tabakası (prelaminer bölge), lamina kribroza ve retrolaminer bölgeden oluşmaktadır. Retinal ganglion hücre aksonları optik diske girdikçe, aralarına astrositik glial hücreler girerek fasiküllere ayrılırlar. Lamina kribroza, kolajen, elastin, laminin ve fibronektin içeren bir bağ doku olan skleranın devamı olmakla birlikte delikli yapısını kullanarak buradan sinir lifleri demetler halinde geçerler. Aksonlar lamina kribrozayı geçtikten sonra miyelinleşirler (Hayreh, 2011; Zeiss ve ark., 2018). İnsanlarda, optik sinir, ganglion hücre tabakasından çıkan 1–1,2 milyon aksondan oluşur (Sadun, 2014). Kemirgen optik sinirinde, gangliyon hücre aksonlarının sayısı oldukça değişkendir; farelerde 32,000 ile 87,000 hücre arasında değişir, sıçanlarda daha az değişkenlik vardır (yaklaşık 72,000–113,000) (Tablo 1). Aksonlar talamusun lateral genikulat çekirdeğinde sonlanır (Zeiss ve ark., 2018).
2. İntraorbital kısım: Göz küresinin arka kısmından optik kanalın intraorbital açıklığa 25-35 mm'lik optik sinir gitmektedir. Optik sinir orbital seyri boyunca dura, araknoid ve pia mater ile çevrilidir. Subaraknoid boşluk intrakranial subaraknoid boşlukla devam eder ve beyin omurilik sıvısını taşır. Optik sinir, insanlarda her biri yaklaşık 2000 lif içeren 400-600 fasikülden oluşur (Sadun, 2014). Fasiküller, daha küçük kan damarlarının uzandığı bağ doku septalarıyla ayrılır. Lamina kribrozaya distal konumda olan optik sinir lifleri oligodendrositlerce daha fazla miyelinli hale getirilmiştir. Bu nedenle intraorbital optik diskin çapı intraoküler kısmın iki katıdır. Ayrıca intraorbital kısım meningeal tabakalarla, bağ dokusu, yağ ve rektus kasları ile çevrilidir. Orbital yağ optik siniri ekstraoküler kaslardan ayırır. Kemirgenlerde, Harderian bezi de ayrıca optik sinirleri kaplamaktadır (Hayreh, 2011; Zeiss ve ark., 2018) (Şekil 2).
3. İntrakanaliküler kısım: Sfenoid kemiğin küçük kanadındaki optik kanal içinden geçen bölümde optik sinir yaklaşık 9 mm uzunluğa sahiptir. Bu kısım da merkezi sinir sistemine ait meninkslerle çevrilidir (Sadun, 2014).

Tablo 1. İnsan ve sıçan optik sinirleri arasındaki farklılıklar

İnsan	Sıçan
Optik küre üzerinde nazalda konumlanmıştır.	Optik sinir merkezde konumlanmış; inferior ve superior skleral açıklıklardan çıkmaktadır.
Optik sinir, kemirgenlerden 10 kat daha fazla aksona sahiptir.	Optik sinir, insanlardan 10 kat daha az aksona sahiptir.
Lamina kribosa insanda iyi gelişmiştir.	Lamina kribosa sıçanda iyi gelişmemiştir
Optik sinir intraorbital optik sinir bağ dokusu, yağ ve rektus kasları ile çevrilidir.	Ek olarak Harderian bezi de optik siniri ekstraoküler kasi da sararak kaplar.

4. İntrakraniyal kısım: Son 10 mm'lik bölüm optik sinir intrakraniyal kısımdır. Bu kısımda optik siniri sadece pia mater çevrelemektedir. Optik sinir, önce diyafragma sellanın üzerinde daha sonra kavernöz sinüsün üzerinde uzanır. Burada, optik sinir, optik kiazmayı oluşturmak için kontralateral optik sinir ile birleşir. İntrakraniyal optik sinir ile yakından ilişkili inferolateral olarak oftalmik arter, lateral olarak internal karotid arter bulunmaktadır (Sadun, 2014).



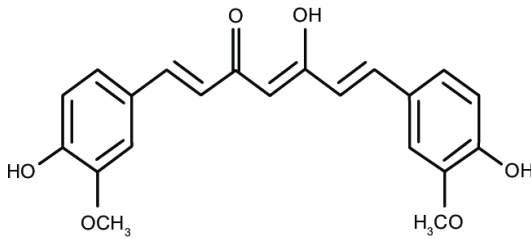
Şekil 2. Optik sinirin genel yapısı (De moraes, 2013'den uyarlanmıştır)

2.5.1. Beslenme

Optik sinir, internal karotid arterden köken alan oftalmik arterin dallarından beslenir. Optik sinirin ön 2 ila 3 mm'sine giden kılcak kan akımı, oftalmik arterden oluşan iki kaynaktan elde edilir; ana kaynak, kısa posterior siliyer arterler tarafından koroidal dolaşım yoluyla beslenen peripapiller koroidal dallardan oluşmaktadır, diğer küçük kaynak ise optik sinir etrafındaki subaraknoid boşluğun en ön bölümlerindeki perinöral pleksustur. Geriye kalan oftalmik arter damarlarının kılcak kan akımı, simetrik, radyal olarak dağılmış bir paternde pial yüzeyden sinire girmektedir. Oftalmik arter dalları kürenin yaklaşık 8-15 mm gerisinden optik sinirine girerek santral retinal arter adını almaktadır. Santral retinal arter, optik sinir başına dal vermeden geçerek retinayı beslemektedir. Optik sinir başı beslenmesi ise Zinn-Haller halkası ile olmaktadır. Zinn-Haller halkası koroidal damarlar, kısa posterior siliyer arterler ve pial arteriyel ağ içermektedir (Yanoff ve Sassani, 2009; Hayreh, 2011).

2.6. Kurkumin

Kurkumin; Zencefilgiller familyasından olan Zerdeçal (*Curcuma longa*) bitkisinin rizomlarından elde edilen major biyoaktif bileşenlerin en önemlisidir (Liu ve ark., 2017). Zerdeçal esas olarak kurkumin, dimetoksikurkumin ve bisdimetoksikurkumin, uçucu yağlar (atlanton, tumeron ve zingiberon), reçineler, şekerler ve proteinler içerir (Shehzad ve Lee, 2010). Kurkuminin kimyasal yapısı diferkülometan veya 1,6-heptadien-3,5-dion-1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil) ilk olarak 1910'da Milobedzka tarafından tanımlandı (Pan ve ark., 1999) (Şekil 3). Daha sonra Srinivasan (1953), kurkumin bileşenlerini kromatografi ile ayırarak miktarını belirledi.



Şekil 3. Kurkuminin kimyasal yapısı

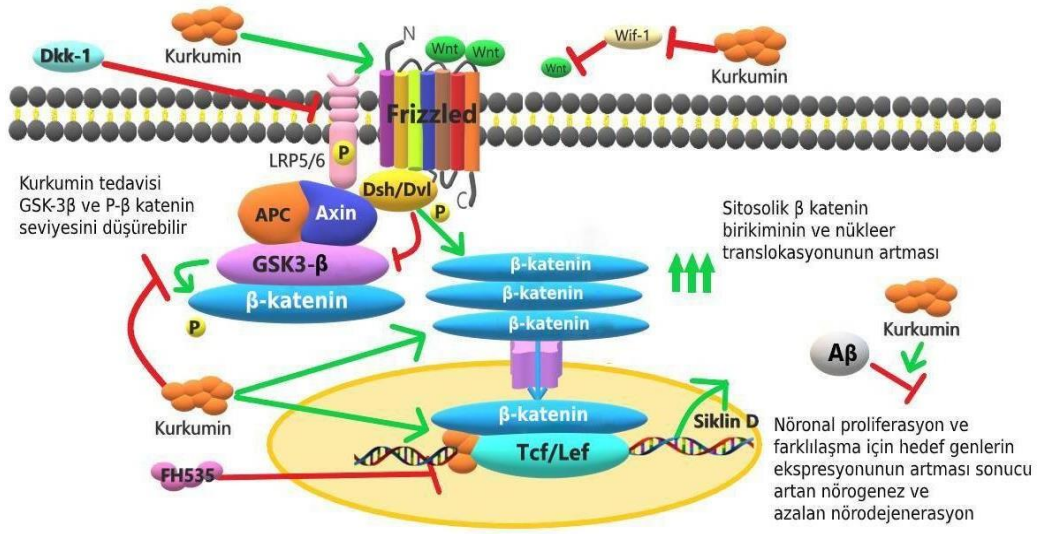
Geleneksel tıpta kurkumin; hazımsızlık, üriner sistem enfeksiyonları, karaciğer hastalıkları ve romatoid artrit gibi çok çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Prasad ve ark., 2014). Son 50 yılda yapılmış *in vitro* ve *in vivo* deneyler, birçok farklı enflamatuar hastalık ve tümörün önlenmesi ve tedavisi için polifenollerin, kurkuminin ve analoglarının ana rolünü destekler niteliktedir (Bimonte ve ark., 2015). Kurkumin, fenolik ve enolik fonksiyonel gruplarından dolayı sahip olduğu antioksidan, anti enflamatuar, anti tümör özelliklerini farklı hücresel mekanizmalarla gösterir (Zhang ve ark., 2015). Yapılan birçok çalışmada kurkuminin bu gibi özelliklerinden faydalanarak göz hastalıklarında iyileştirici etkisi olduğu gösterilmiştir: Kornea hastalığında anti anjiyogenez etkisi; kuru göz hastalığı (Chen ve ark., 2010), konjonktivit (Chung ve ark., 2012), anterior üveitlerde anti-enflamasyon veya anti-alerjik etkiler (Allegrı ve ark., 2010; Brouet ve ark., 1995); pterijyumda anti-proliferasyon ve pro-apoptoz etkileri (Zhang ve ark., 2007; Lu ve ark., 2017); katarakta anti-oksidatif stres (Radha ve ark., 2012), anti-ozmotik stres (Grama ve ark., 2013), anti-lipit peroksidasyonu (Manikandan ve ark., 2010), serbest radikalleri tutma (Manikandan ve ark., 2009) etkileri; glokomda nöroprotektif etkiler (Yue ve ark., 2014; Liu ve ark., 2017).

Kurkumin diyabetik komplikasyonların, özellikle de DN'nin önleminde veya iyileşmesinde oldukça etkilidir. STZ ile indüklenmiş diyabetik sıçan modelinde yapılan çalışmalarda kurkuminin lipit peroksidasyonu, azalmış GSH seviyesi, protein karbonil içeriği ve antioksidan enzim aktivitelerindeki değişimleri tersine çevirerek ve α A- kristalin ve α B-kristalin ekspresyonunun normalize edilmesine fayda sağlayarak diyabetik katarakt gelişimini baskıladığı görülmüştür (Kumar ve ark., 2005a; Kumar ve ark., 2005b). Hücrede α A-kristalin ekspresyonunun artışı ve α B-kristalin ekspresyonunun düşüşü hidrofobisiteyi azaltarak ve a kristalin proteininin ikincil ve üçüncül yapısını değiştirerek diyabette nöroprotektif fonksiyonun kaybına yol açmaktadır (Kase ve ark., 2011; Losiewicz ve Fort, 2011). Kurkuminin poliol yolağını düzenleyerek ozmotik stresi azalttığı da gösterilmiştir (Suryanarayana ve ark., 2005). Ayrıca, hipergliseminin neden olduğu protein kümeleşmesi ve lens proteinlerinin çözünmez hale gelmesinin de kurkumin ile önlendiği belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2013). Kurkumin, diyabetik sıçanlarda çeşitli metabolik yolların bozulması ile ortaya çıkan ROS seviyelerini protein karbonillerindeki artışları inhibe ederek ve antioksidan

enzim aktivitelerindeki değişimleri düzenleyerek oksidatif stresi kontrol edebilmektedir (Suryanarayana ve ark., 2007).

Son dönemde yapılan çalışmalar, merkezi sinir sistemi hasarlarında kurkuminin nöroprotektif özellikte olduğunu göstermiştir (Zhao ve ark., 2008). Bununla ilgili yapılan bir çalışmada kurkuminin nöral miyelin kılıfında, oligodendrositlerde apoptozu ve demiyelinizasyonu azaltarak koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Yu ve ark., 2016). Siyatik sinir hasarı üzerinde yapılan bir çalışmada ise kurkuminin miyelin yapısında rejenerasyonu indüklediği belirtilmiştir (Zhao ve Cui, 2016).

Kurkuminin nöroprotektif ve rejeneratif gibi nöroregülatör özelliklerinin yanı sıra nörogenез özelliği de dikkate alınmalıdır. Deneysel ve siliko çalışmalar, kurkuminin Wif-1 ve Dkk-1 gibi Wnt inhibitör molekülleri ile etkileşime girerek Wnt yolunu aktive etmesiyle Wnt seviyelerini artırabildiğini göstermiştir. Wnt, sitoplazmik dağınık (Dvl) proteinin aktivasyonunu tetikleyen 7-transmembran kıvrılmış reseptör (Frizzled) ve fosforile ko-reseptör düşük yoğunluklu lipoprotein (LRP-5/6) ile etkileşime girer. Aktive Dvl daha sonra yıkım kompleksi Axin/APC/GSK3 β ile etkileşime girer ve β -katenini fosforile eden, Wnt yokluğunda proteazomal degradasyon yoluyla β -katenin degradasyonunu destekleyen GSK-3 β 'yi inhibe eder. GSK-3 β inhibisyonu sitoplazmik β -katenin birikmesine ve çekirdeğe translokasyonuna yol açar. Çekirdeğinde β -katenin, TCF/LEF promotör kompleksi ile etkileşime girerek nöral kök hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşmasında rol oynayan hedef genlerin aktivasyonuna yol açar. Hücre sel internalizasyondan sonra kurkumin muhtemelen GSK-3 β ile etkileşime girebilir, böylece sitoplazmik β -katenin seviyelerini artırabilir ve fosforilasyonunu azaltabilir. Kurkumin daha sonra β -katenin nükleer translokasyonunu artırır, bu da TCF/LEF ve siklin-D1 hızlandırıcıların aktivitesinin artmasına ve dolayısıyla nörojenezin artmasına neden olur. Wnt siRNA, Dkk-1 ve TCF inhibitörü olan FH535 yoluyla Wnt/ β -katenin sinyalinin blokajı, kurkumin aracılı hücre proliferasyonunun ve nöronal farklılaşmanın inhibisyonuna yol açar. Kurkumin ayrıca Wnt/ β -katenin sinyalinin indüksiyonu yoluyla nörogenез üzerindeki A β aracılı inhibe edici etkileri de bloke eder (Şekil 4) (Tiwari ve ark., 2014).



Şekil 4. Wnt/β-katenin sinyal yolunun aktivasyonu yoluyla kurkuminin nörogenezdeki rolü için önerilen sematik model (Tiwari 2014'ten uyarlanmıştır)

2.7. Stereoloji

Hacim, yüzey, uzunluk ve nesne sayısı gibi yapısal özelliklerin ölçümleri, doku ve organların karşılaştırmalı ve deneysel çalışmalarında işe yarayan fonksiyonla ilgili nicel ifadeler yapmak için kullanılabilir. Özellikle biyolojinin ilgilendiği yapıların çoğu üç boyutlu ve opak olduğundan, yapısal özellikler en iyi iki boyutlu görüntülerle veya yapıların kesiti ile görselleştirilir. Ancak, iki boyutlu görüntülerin oluşturulması materyal hakkında bilgi kaybına neden olur. Sonuç olarak, kesitlerdeki yapısal özellikler ile dokudaki üç boyutlu özellikler arasındaki ilişki kolayca anlaşılammaktadır. Stereoloji, iki boyutlu görüntüler üzerinde yapılan ölçümlerden üç boyutlu yapıların geometrisinin anlamlı niceliksel tanımlarını sağlamaya yarayan bir morfometri dalıdır (Weibel, 1979; Cruz-Orive, 1997; DeHoff, 2000). Stereoloji, özellikle biyolojik çalışmalarda dokudaki hücrelerin ve yapıların iki boyutlu düzlemsel doku kesitlerini kullanarak organlardaki hücrelerin ve yapıların hassas kantitatif ölçümlerini sağlar (Goodwin ve ark., 2018). Organlarda üç boyutlu yapıların hassas ölçümlerini yapmak için stereoloji niceliksel verileri istatistiksel olarak hesaplayan bir dizi teknik kullanır. Bunlar, bir organın toplam hacmi, bir organdaki yüzey alanı veya yapıların uzunluğu, organ içindeki belirli hücre popülasyonlarının hacmi, hücre boyutu ve/veya sayısı şeklinde sıralanabilir (Howard ve Reed, 2004). Stereolojide titiz örnekleme ve sayma teknikleri kullanılarak bir organ veya doku biyopsisinin hücresel ve yapısal durumu

hakkındaki verileri istatistiksel olarak hesaplanabilir. Bu nedenle, doku örnekleri elde edilmeden önce stereoloji planlamasının başlaması gerekir (Goodwin ve ark., 2018).

Kesitler yapının içinden geçerken yapıyı oluşturan bileşenlerin boy, şekil, hacim ve yönelimlerine bağlı olarak kesit izdüşümleri oluşturmakla birlikte, ilgili doku veya organ içindeki parçacıkların izotropik olmadığı durumda kesitlerde farklı izdüşümleri görülür (Altunkaynak ve ark., 2012). Ayrıca, histolojik kesit alma işlemi sırasında doku boyutunda azalma görülür (Altunkaynak ve ark., 2012). Bu gibi durumlar, kesitlerinden dokuların gerçek yapısı ve bileşenleri hakkında bilgiye ulaşmamızı engeller. Bu sorunu çözebilmek için kesitlerden kantitatif bilgiler elde etmemizi sağlayan, disektör ve parçalama gibi çeşitli metotlar içeren modern tasarım tabanlı tarafsız stereolojik metotlar kullanılmaktadır (Kaplan ve ark., 2012a; Kaplan ve ark., 2012b).

Ek olarak, doku görüntülerinden tarafsız bir örnekleme elde etmek için, görüntünün tüm bileşenlerinin, tek tip rastgele örnekleme olarak bilinen bir işlem yoluyla örnekleme şansına sahip olması önemlidir (Goodwin ve ark., 2018). Doğru yapıldığı takdirde, stereoloji kesin, tarafsız veriler sağlanmasıyla nicel mikroskopi çalışması yapan kişiler için altın standart olarak kabul edilir (Goodwin ve ark., 2018).

2.7.1. Optik Sinirde Stereoloji Uygulamaları

Nöromorfoloji çalışmalarında tarafsız stereolojik tekniklerin kullanılması, insanlarda neokortikal nöron sayısını hesaplama gibi daha önce çözülemeyen bazı sorunlara yenilikçi çözümler getirerek önemli gelişmeler kaydedilmesini sağlamıştır (Pakkenberg ve Gundersen, 1997). Stereoloji prensiplerine göre kesit alanında sistematik rastgele alan örnekleme yapılarak tarafsızlık sağlanmalıdır (Geuna ve ark., 2012). Kesit alanında sistematik rastgele alan örnekleme yapılarak alan örnekleme gerçekleştirildiğinde hangi sinir lifinin alanın içine düştüğünü, hangisinin düşmediğini belirlemek için 'dahil etme/dışlama' kuralları tanımlanmalıdır (Geuna ve ark., 2004). Sinir liflerinin boyut çeşitliliği sebebiyle büyük boyutlu lifler örnekleme çerçevesinin kenarlarında kesişeceğinden taraflı olmamak için 'kenar etkisine' göre dahil etme / dışlama kuralının net olarak belirlenip uygulanması gerekmektedir (Gundersen, 1977; Geuna ve ark., 2012). Optik sinir üzerinde yapılan çalışmalarda sinir lifinde oluşan yapısal değişiklikler değerlendirilirken miyelinli sinir lifleri için bazı kantitatif parametreler kullanılır. Bunların arasında sıklıkla kullanılan, lif sayısı ve yoğunluğu, aksonun ve lifin çapı, kesit alanı, çevre uzunluğu veya miyelin kılıf kalınlığı gibi

parametrelerle birlikte bu verileri kullanarak miyelin kılıf kalınlığı/akson çapı oranı, lif çapı/akson çapı oranı, akson çapı/lif çapı oranı (g-oranı) gibi basit matematiksel hesaplamaları içeren parametreler sayılabilir (Geuna ve ark., 2012).

Bu değerler, tüm optik sinirin kesit alanı ile birlikte (yukarıda belirlendiği gibi), her bir hayvandaki toplam miyelinli ve miyelinsiz optik sinir liflerinin toplam sayısını hesaplamak için kullanılmıştır. Sinir lifinin kantitatif değerlendirilmesinde stereolojik teknikler içinde en fazla 'tarafsız sayım çerçevesi' (Gundersen, 1978; Acar ve ark., 2008; Kaplan ve ark., 2010) ve 'iki boyutlu disektör' (Gundersen, 1986; Raimondo ve ark., 2009; Kaplan ve ark., 2010) metotları kullanılmaktadır.

Fukui ve ark. (1991), aydınlık ve karanlık ortamların yenidoğan sıçanlarda zamana bağlı optik sinir gelişimi üzerine etkilerini kantitatif olarak incelemek için stereolojik yöntemler kullandığı bir çalışmada sistematik rastgele örnekleme kuralları kullanılarak elde edilen görüntülerde toplam sinir lifi sayısı ve minimum lif çapı analiz etmiştir. Toplam sinir lifi sayısı hesaplanırken mikrograf alanından küçük dikdörtgen sayım çerçevesi mikrograf üzerine konulup yasaklı kenar kuralıyla sayıma dahil edilecek yerler belirlendikten sonra her sıçan için miyelinli ve miyelinsiz lif yoğunlukları, bu sayımları örneklenen toplam doku alanıyla (hesaplanan mutlak ünitelerde dikdörtgen çerçeve alanı x analiz edilen mikrograf sayısı) ilişkilendirerek hesaplanmıştır. Minimum lif çapı analiz edilirken çerçevede yasaklı kenar harici bulunan her akson için ölçüm yapılmış ve 'minimum akson çapı', herhangi bir aksonun küçük eksenini olarak alınmıştır. Miyelinli aksonlar ölçülürken, minimum aksonal çapa ek olarak minimum lif çapı (akson artı miyelin kılıfı) ve miyelin kılıfın kalınlığı ölçülmüştür (Fukui ve ark., 1991).

2.7.2. Tarafsız Sayım Çerçevesi

Tarafsız sayım çerçevesi ilk defa periferik sinir üzerine stereolojik çalışmalar yürütülürken tanımlanmıştır (Gundersen, 1978). Bu çerçeve genelde bir kalın ve düz, bir de ince ve kesikli iki tip çizgi ile gösterilen dört kenarlı basit bir dikdörtgen veya karedir. İnce ve kesikli çizgilere denk gelen aksonlar sayıma dahil edilir, kalın ve devamlı çizgilere denk gelen aksonlar sayımdan dışlanır (Geuna ve ark., 2012). Tarafsız sayım çerçevesinde özellikle hariç tutulan kenarlar çerçevenin yerleştirildiği görüntü alanının tamamını kaplayacak şekilde uzatılabilirler (Geuna ve ark., 2012).

2.7.3. İki Boyutlu Disektör

İki boyutlu (2D) disektör, klasik metot olan üç boyutlu objelerde örnekleme için kullanılan disektör prensibinden uyarlanmıştır. Bu metot her bir partikülde tek bir referans noktası belirleyip (sinirde en üst nokta), partikülün geri kalanı önemsenmeksizin o noktanın sayım çerçevesine denk gelmesiyle sayıma dahil edilmesini kapsar (Geuna ve ark., 2012). Optik sinir çalışmalarında sayım çerçevesi kare yerine daire şeklinde seçilerek sinirin çerçeve sınırlarına değmesi önlenmeye çalışılır (Raimondo ve ark., 2009). Çizgilere değdiği takdirde yuvarlağın yarısı dahil etme çizgisi, diğer yarısı dışlama çizgisi olarak kabul edilerek sayım yapılır (Raimondo ve ark., 2009).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Grupların Oluşturulması

Çalışmada kullanılan optik sinir dokuları, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Yeterel Etik Kurulu'ndan 30.03.2018 tarih ve 2017/53 sayılı etik kurul onayı alınan çalışmadan temin edildi. Söz konusu çalışmanın deneysel işlemleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEHAM)'nde yapılmıştır. Deneysel süresince deneysel hayvanlarına uygulanan işlemlerde etik ilkeler göz önünde bulunduruldu. Çalışmada (ortalama 250-300 gr, 12 haftalık) 42 adet *Wistar albino* erişkin dişi sıçan kullanıldı. Deneysel hayvanları 12 saat aydınlık-karanlık ve ortam sıcaklığı $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ olan ayrıca %45-50 neme sahip, konvansiyonel koşullarda, *ad libitum*, yem ve su ile beslendiler. Denekler, her grupta 6 adet hayvan olmak üzere rastgele yedi gruba ayrıldı:

Kontrol (KONT): Kontrol grubu hayvanlarına herhangi bir işlem uygulanmadı.

Sham (SHAM): Gavaj uygulamasının deneklere etkisini araştırmak amacıyla deneysel hayvanlarına, intragastrik gavaj yolu ile 14 gün boyunca mısır yağı verildi.

Diabetes mellitus grubu (DM): Diyabetin optik sinir üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla deneysel hayvanlarına tek doz 50 mg/kg streptozotosin (STZ) (Cayman, 13104) i.p. verilerek diyabet modeli oluşturuldu.

DM + Kurkumin (DK1): Deneysel diyabetin optik sinir üzerinde erken dönemdeki etkilerini araştırmak amacıyla tek doz 50 mg/kg STZ uygulanarak deneysel diyabet modeli oluşturulmasından 7 gün sonra, 30 mg/kg kurkumin mısır yağı içerisinde çözdürülerek, intragastrik gavaj yolu ile 14 gün boyunca verildi.

DM + Kurkumin 2 (DK2): Deneysel diyabetin optik sinir üzerinde uzun dönemdeki etkilerini araştırmak amacıyla 50 mg/kg STZ uygulanarak deneysel diyabet modeli oluşturulmasından 21 gün sonra, 30 mg/kg kurkumin mısır yağı içerisinde çözdürülerek, intragastrik gavaj yolu ile 14 gün boyunca verildi.

DM + Kurkumin 3 (DK3): Deneysel diyabet durumunun oluşması, gelişmesi ve bu süreçte kurkuminin optik sinir üzerinde etkilerini araştırmak amacıyla 50 mg/kg STZ uygulamasıyla eş zamanlı olarak, 30 mg/kg kurkumin mısır yağı içerisinde çözdürülerek intragastrik gavaj yolu ile 14 gün boyunca verildi.

Kurkumin grubu (CUR): Kurkuminin sağlıklı deneklerde optik sinire olan etkisini araştırmak amacıyla grupta sağlıklı deneklere 30 mg/kg kurkumin mısır yağı içerisinde çözdürülerek, intragastrik gavaj yolu ile 14 gün boyunca verildi (Sharma ve ark., 2006).

Tüm hayvanlar deneyin başlamasından 35 gün sonra sakrifiye edilmiştir.

3.2. Streptozosin ile İndüklenmiş Deneysel Diyabet Modeli Oluşturma

Deneysel diyabet modeli oluşturmak için bir gece öncesinden aç bırakılan deney hayvanlarına tek doz 50 mg/kg STZ (Cayman, 13104) 0,01 M sitrat tamponu pH: 4,5 içerisinde çözdürülerek intraperitoneal (i.p.) yolla verildi (Malcangio ve Tomlinson, 1998). STZ uygulamasından sonraki ilk 12-24 saatte %5 glikoz içme suyu verilerek deneklerde hipoglisemi önleildi. Deneysel diyabet oluşturma sürecini kontrol edebilmek için sıçanlara STZ uygulanmasından itibaren 72 saatin sonunda bir gece önce aç bırakılan sıçanlara 90/10 mg/kg ketamin (Ketasol®, Richter pharma, Wels, Avusturya), ksilazin (Citanest®, AstraZeneca, İstanbul) anestezisi uygulandıktan sonra sıçanların kuyruk veninden alınan kan örnekleri glikometre (Gl 300 Plus MED) striptine damlatılarak açlık kan glikoz değerleri ölçüldü (Ali ve Agha, 2009). Çalışmaya dahil etme kriteri olarak açlık kan glikoz düzeyi 250 mg/dl ve üzerinde olan hayvanlar diyabetik kabul edildi (Yuan ve ark., 2017). Diyabet grubuna dahil olmayan Kontrol, Sham ve Kurkumin gruplarındaki hayvanlara tek sefer 0,1 M sitrat tamponu pH: 4,0 i.p. olarak uygulandı.

3.3. Optik Sinir Doku Örneklerinin Hazırlanması

Anestezi altında olan sıçanların kalbinin sol ventrikül apeksinden bir kanül yardımıyla %0,9 serum fizyolojik (SF) verildi. Buna ek olarak dolaşımdaki kanın uzaklaşması ve SF'in dolaşıma katılması için sağ atriyum kesildi. Kanın tamamen uzaklaştırıldığına emin olunduktan sonra, %4'lük paraformaldehit + %2'lik glutraldehit karışımı kanül yardımıyla dolaşıma gönderilerek dokular fikse edilmiş oldu. Perfüzyon işlemi sona erdikten sonra bilateral optik sinir dokuları çıkarılarak çevresindeki yağ ve bağ dokulardan arındırıldı. Diseke edilen optik sinir dokuları ışık mikroskobu ve elektron mikroskobunda elde edilmiş görüntülerde stereolojik analizler yapılmak üzere %2'lik glutraldehit içeren şişelere konuldu ve +4 °C'de saklandı.

3.4. Histolojik Yöntem

Oluşturulan gruptaki deneklere ait optik sinirler çıkarıldıktan sonra elektron mikroskopunda incelenmek üzere uygun takip ve boyama işlemlerine tabi tutuldu.

3.4.1. Elektron Mikroskopik Doku Takip İşlemleri

Deneklerden perfüzyondan sonra çıkarılan optik sinir dokularına aşağıdaki sıraya göre takip işlemi yapıldı (Tablo 2).

Tablo 2. Elektron mikroskopik takip işlemi sırasında kullanılan kimyasallar ve uygulama süreleri

Kimyasallar	Süre
%4'lük Gluteraldehit	1 saat
0,1 M Fosfat tamponu ile yıkama	4x15 dakika
%1'lik Osmium tetraoksit	2 saat (karanlık ortamda)
0,1 M Fosfat tamponu ile yıkama	6x15 dakika
%50 Aseton	15 dakika
%70 Aseton	15 dakika
%95 Aseton	15 dakika
%100 Aseton	15 dakika
%100 Aseton	15 dakika
Propilen oksit	20 dakika
Propilen oksit	20 dakika
%50 Propilen oksit + %50 Araldit	1 saat
%100 Araldit	1 saat

Bu işlemlerden sonra, optik sinir dokuları silikon gömme kalıbı içerisine konulan rezin içine gömüldü ve bir gece boyunca bu kalıplar içerisinde bekletildi. Ertesi gün rezin bloklar 45 °C'deki etüve yerleştirildi ve her 30 dakikada bir 5 °C'lik ısı artışı yapılarak 62 °C'ye ulaşıp 48 saat bekletilerek polimerizasyonu sağlanan rezin bloklardan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (KİTAM)'da bulunan ultramikrotom (Leica EM UC7, Vienna, Austria) yardımı ile 70 nm ve 500 nm kalınlığında kesitler alındı. 70 nm'lik kesitler 200-mesh bakır grid

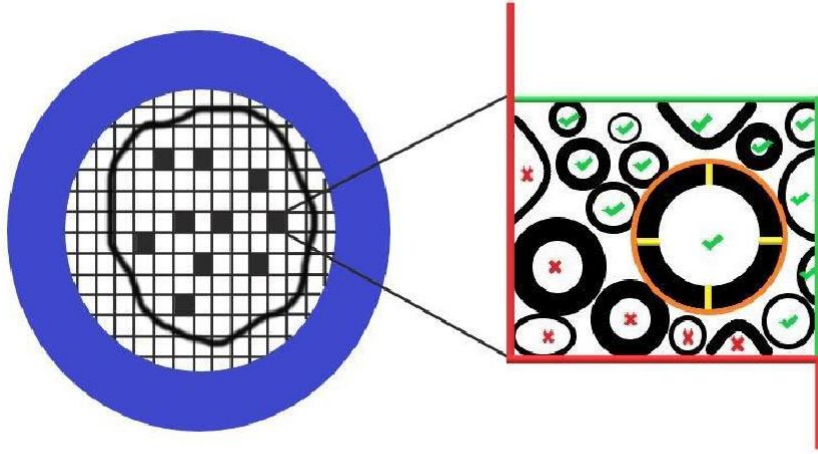
üzerine alınarak elektron mikroskopik analiz için %2'lik uranil asetat-lead sitrat ile kontrastlama işlemine tabi tutuldu. 500 nm kesitler ışık mikroskopunda incelenmek üzere toluidin mavisi boyasıyla boyandı. Toluidin mavisi asidik özellikteki doku bileşenlerine karşı afinitesi yüksek olan bazik tiazin metakromatik bir boya olduğu için lam üzerine yerleştirilmiş bir su damlası üzerine alınan kesitler hot plate üzerine yerleştirilip kurumaya bırakıldı (Sridharan ve Shankar, 2012). Ardından doku üzerine %1'lik toluidin mavisi ve sodyum borat karışımı (1 gr toluidin mavisi+2 gr Na₂B₄O₇·10H₂O + 100 ml dH₂O) damlatılarak hot plate üzerinde 2-3 dakika boyunca bekletildi. Daha sonra lamlar distile suya daldırılarak dokular üzerindeki fazla boya akıtıldı. Boyanan ince kesitlerde elektron mikroskopunda histopatolojik yorumlamalar, tüm optik sinir kesit alanı, miyelinli akson sayısı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri stereolojik metotlar kullanılarak yapıldı (Önger, 2013).

3.5. Stereolojik Yöntem

Elde edilen yarı ince kesitlerde optik sinir kesit alanları kamera ilintili ışık mikroskobu yardımıyla (Olympus BX43, Center Valley, PA) ImageJ programında analiz 10'luk büyütmede kesitlerin etrafı çevrelenerek analiz edildi. İnce kesitlerde yapılacak analizler için görüntüler KİTAM'da bulunan Geçirimli elektron mikroskopunda (TEM) (JEOL JSM- 7001F, JEOL Ltd., Tokyo, Japan) elde edildi. Grid üzerine alınan kesitlerde, elektron mikroskopunda, grid meshlerinden mümkün olduğu kadar sıralı olmak üzere optik sinir kesit alanlarından görüntüler alındı. Bu EM görüntülerinin alınmasında sistematik rastgele örnekleme kuralı uygulanamadığından dolayı standart bir örnekleme adım aralığı belirlenemedi, sonuçta görüntü alanı seçimi rastgele olacak biçimde uygulandı (Şekil 5).

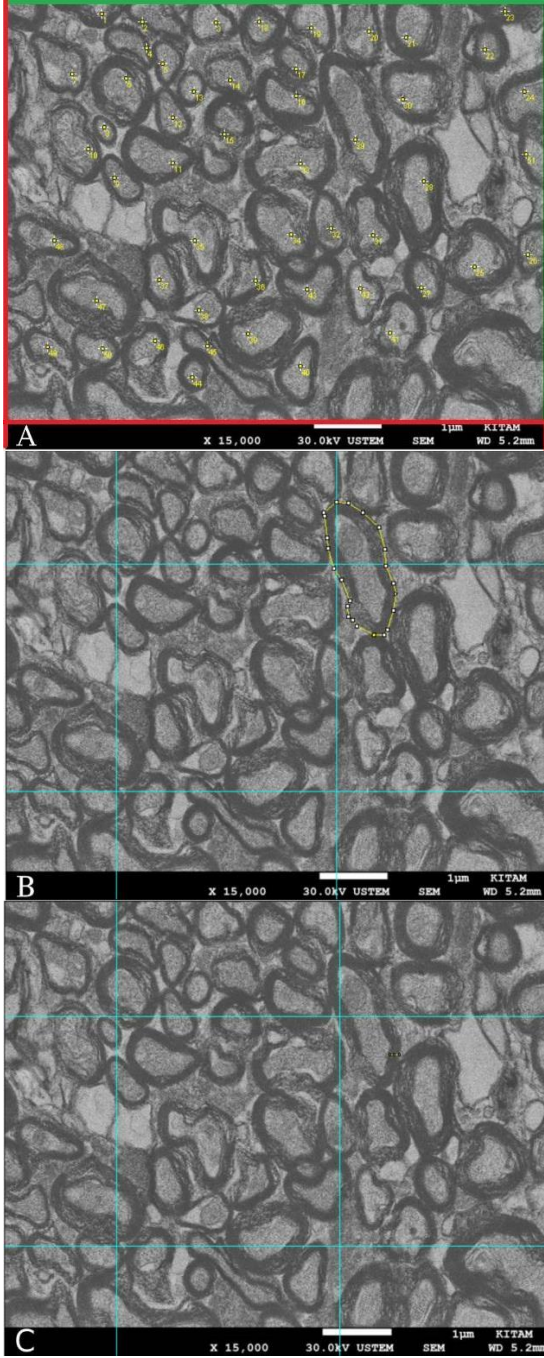
Tüm hesaplamalar ImageJ programıyla gerçekleştirildi. Alanlardan çekilen resimlerden tarafsız sayım çerçevesi kullanılarak miyelinli akson sayısal yoğunluk hesabı yapıldı, her bir hayvanın optik sinirinden elde edilen ortalama sayısal yoğunluk hesabı değeri, o hayvanın optik sinir kesit alanı ile çarpılarak ilgili hayvanın toplam akson sayısı hesabı yapıldı. Hesaplamanın formülü aşağıda verilmiştir:

Optik sinirde toplam akson sayısı = Akson sayısal yoğunluğu x Optik sinir kesit alanı



Şekil 5. Optik sinirde akson sayısı, miyelin kılıf kalınlığı ve akson alanında stereolojik metotlarla ölçümün şematik gösterimi. Sinir doku örneği grid üzerine yerleştirildikten sonra boşluklardan sinir doku içerenler arasında sistematik rastgele örnekleme kuralı uygulanmadığı için görüntü alanı seçimi rastgele olacak biçimde uygulandı (siyah kareler). Tarafsız sayım çerçevesi her bir adım alanına yerleştirilerek ilgili parametrelerin sayımı yapılır. Kırmızı çizgi tarafsız sayım çerçevesinin yasaklı kenarını, yeşil çizgi izinli kenarını temsil etmektedir. Yeşil tik işareti sayıma dahil edilen aksonları, kırmızı çarpı işareti sayıma dahil edilmeyen aksonları göstermektedir. Turuncu daire akson alanının ölçümünü, sarı çizgiler miyelin kılıf kalınlığının ölçümünü temsil etmektedir.

Akson alanı hesaplaması için uygulanan yöntemde her optik sinir görüntü alanı için görüntülerde grid yardımıyla belirlenmiş bir noktaya denk gelen aksonun alanı etrafı çevrelenerek belirlendi. Her fotoğrafta aynı grid kullanılarak aynı noktadaki aksonlar için analiz yapıldı. Bu işlem farklı üç noktada üç akson belirlenerek tekrarlandı. Bu üç akson alanlarının ortalaması elde edildi. Bu aksonlarda miyelin kılıf kalınlıkları da her akson için dörder kenar belirlenerek dört kalınlık değeri elde edildi. Bunların ortalaması alınarak miyelin kılıf kalınlıkları her görüntü için elde edildi (Şekil 6).



Şekil 6. Elektron mikroskopik optik sinir görüntüsünde ImageJ yazılımı kullanılarak sayım işlemi. Sayım için bir alanda 15 000’lik büyütmede sayım çerçevesi kullanılarak miyelinli akson sayımının yapılması (A) Aynı alanda bir grid yardımı ile belirlenen bir aksonda akson alanı (B) ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümü (C)

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS programı (SPSS version 21,0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak yapıldı. Kullanılan veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. Verilerin normal dağılım açısından uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile sınıandı. Veriler normal dağılım gösterdiğinden grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi One-Way ANOVA, Tukey testleri ile değerlendirme yapıldı. İstatistiksel değerlendirmede $p \leq 0,05$ ve $p \leq 0,01$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, diyabetin başlangıcından 7 gün sonra, 21 gün sonra ve diyabetle eş zamanlı olmak üzere farklı dönemlerinde kurkumin uygulamasının sıçan optik siniri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaç için stereolojik yöntemler, histopatolojik ve elektron mikroskopik teknikler kullanılmıştır. Bu yöntemlerle elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

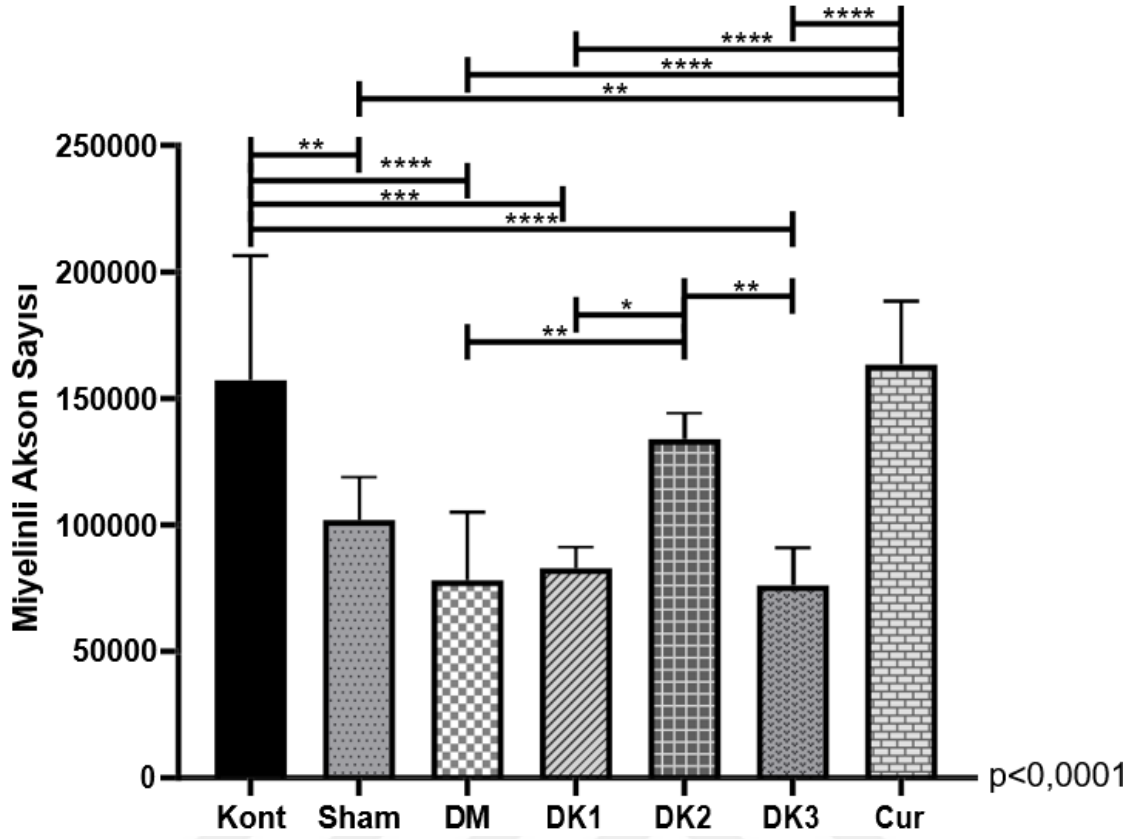
4.1. Stereolojik Bulgular

4.1.1. Miyelinli Akson Sayısı

Tarafsız sayım çerçevesi kullanılarak miyelinli akson sayısının değerlendirilmesiyle elde edilen bulgular, ortalama±standart hata, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 3, Şekil 7).

Tablo 3. Gruplara ait miyelinli akson sayıları (ortalama±standart hata), HK (hata katsayısı) ve DK (değişim katsayısı) değerleri. Kont (Kontrol), Sham, DM (Diabetes mellitus), DK1 (Diabetes mellitus+7 gün sonra Kurkumin), DK2 (Diabetes mellitus+21 gün sonra Kurkumin), DK3 (Diabetes mellitus+Eş zamanlı Kurkumin), Cur (Kürkumin)

Gruplar	Miyelinli Akson Sayısı	HK	DK
Kont	157212 ± 18332	0,02	0,29
Sham	102031 ± 6215	0,03	0,15
DM	78145 ± 10025	0,04	0,31
DK1	82960 ± 3011	0,04	0,09
DK2	133934 ± 3703	0,02	0,07
DK3	76244 ± 5456	0,04	0,18
Cur	163498 ± 9282	0,04	0,14



Şekil 7. Miyelinli akson sayısının gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren grafik. İstatistiksel olarak $p \leq 0,01$ düzeyindeki farklılıklar (****), (***) ve (**), $p \leq 0,05$ düzeyindeki farklılıklar (*) ile gösterilmiştir. Kont (Kontrol), DM (Diabetes mellitus), DK1 (Diabetes mellitus + 7 gün sonra Kurkumin), DK2 (Diabetes mellitus + 21 gün sonra Kurkumin), DK3 (Diabetes mellitus+Eş zamanlı Kurkumin), Cur (Kurkumin)

Miyelinli akson sayısı bakımından istatistiksel olarak; Kont grubuna kıyasla Sham ($p < 0,0090$), DM ($p < 0,0001$), DK1 ($p < 0,0002$) ve DK3 ($p < 0,0001$) gruplarında anlamlı şekilde azalma görülmüştür. Cur grubuna kıyasla Sham ($p < 0,0027$), DM ($p < 0,0001$), DK1 ($p < 0,0001$) ve DK3 ($p < 0,0001$) gruplarında anlamlı şekilde azalma görülmüştür. Miyelinli akson sayısı bakımından DK2 grubu, DK1 ($p \leq 0,0192$) ve DK3 ($p < 0,0056$) ve DM ($p < 0,008$) gruplarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde akson sayısında artış gözlenmiştir.

4.1.2. Miyelinli Akson Alanı

İki boyutlu disektör yöntemi kullanılarak miyelinli akson alanının değerlendirilmesiyle elde edilen bulgular, ortalama \pm standart hata, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 4, Şekil 8).

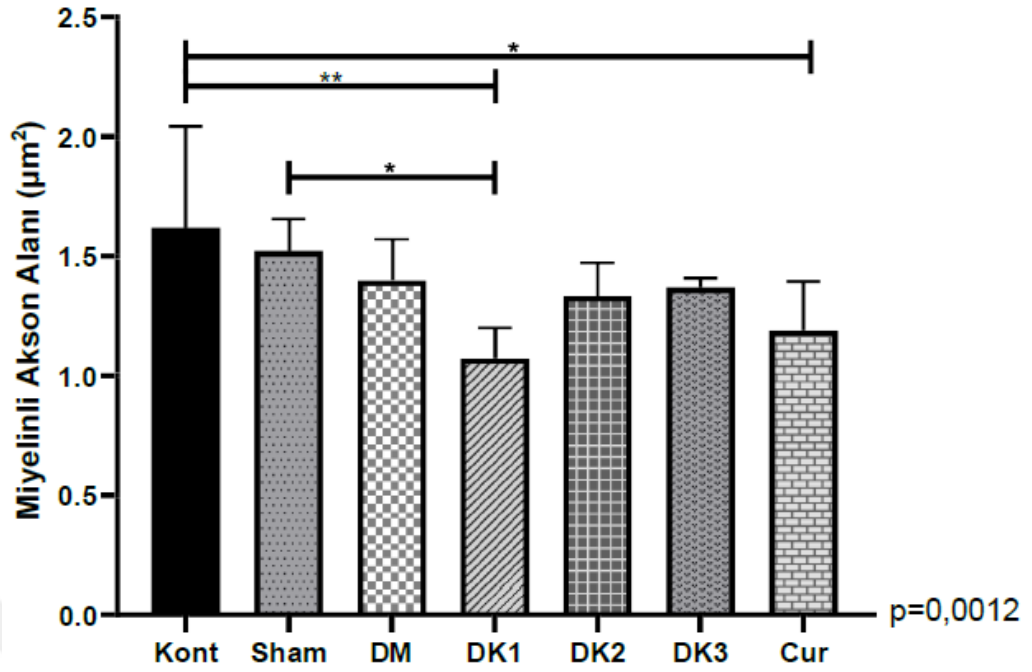
Tablo 4. Gruplara ait miyelinli akson alanları (ortalama \pm standart hata), HK (hata katsayısı) ve DK (değişim katsayısı) değerleri. Kont (Kontrol), Sham, DM (Diabetes mellitus), DK1 (Diabetes mellitus + 7 gün sonra Kurkumin), DK2 (Diabetes mellitus + 21 gün sonra Kurkumin), DK3 (Diabetes mellitus + Eş zamanlı Kurkumin), Cur (Kurkumin)

Gruplar	Miyelinli Akson Alanı (μm^2)	HK	DK
Kont	1,619 \pm 0,22	0,02	0,27
Sham	1,521 \pm 0,20	0,03	0,25
DM	1,073 \pm 0,06	0,04	0,14
DK1	0,688 \pm 0,24	0,04	0,54
DK2	1,335 \pm 0,15	0,02	0,36
DK3	1,369 \pm 0,15	0,04	0,37
Cur	1,190 \pm 0,10	0,03	0,27

Miyelinli akson alanı bakımından istatistiksel olarak; Kont grubuna kıyasla DK1 ($p < 0,0011$) ve Cur ($p \leq 0,0165$) gruplarında anlamlı bir azalma görülmüştür. Benzer şekilde, DK1 grubunda da Sham grubuna göre anlamlı bir azalma görülmüştür ($p \leq 0,011$).

4.1.3. Miyelin Kılıf Kalınlığı

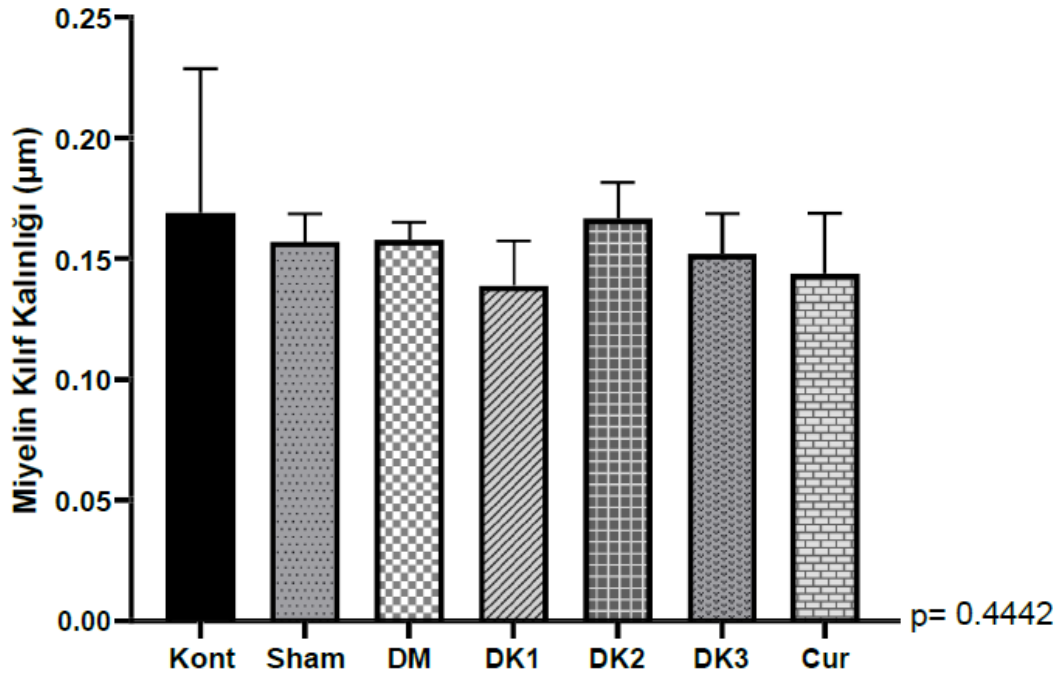
İki boyutlu disektör yöntemi kullanılarak, sinir liflerinde miyelin kılıf kalınlığı hesaplandı. Sonuçların değerlendirilmesiyle elde edilen bulgular, ortalama \pm standart hata, HK ve DK değerleri aşağıdaki tablo ve grafikte gösterilmiştir (Tablo 5, Şekil 9).



Şekil 8. Miyelinli akson alanının gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren grafik. İstatistiksel olarak $p \leq 0,01$ düzeyindeki farklılıklar (**), $p \leq 0,05$ düzeyindeki farklılıklar (*) ile gösterilmiştir. Kont (Kontrol), DM (Diabetes mellitus), DK1 (Diabetes mellitus + 7 gün sonra Kurkumin), DK2 (Diabetes mellitus + 21 gün sonra Kurkumin), DK3 (Diabetes mellitus + Eş zamanlı Kurkumin), Cur (Kurkumin)

Tablo 5. Gruplara ait miyelin kılıf kalınlıkları (ortalama \pm standart hata), HK (hata katsayısı) ve DK (değişim katsayısı) değerleri. Kont (Kontrol), Sham, DM (Diabetes mellitus), DK1 (Diabetes mellitus + 7 gün sonra Kurkumin), DK2 (Diabetes mellitus + 21 gün sonra Kurkumin), DK3 (Diabetes mellitus + Eş zamanlı Kurkumin), Cur (Kurkumin)

Gruplar	Miyelin Kılıf Kalınlığı (µm)	HK	DK
Kont	0,169 \pm 0,02	0,02	0,34
Sham	0,157 \pm 0,00	0,03	0,07
DM	0,158 \pm 0,00	0,04	0,04
DK1	0,139 \pm 0,01	0,04	0,12
DK2	0,167 \pm 0,01	0,02	0,08
DK3	0,152 \pm 0,01	0,04	0,10
Cur	0,144 \pm 0,02	0,03	0,29



Şekil 9. Miyelin kılıf kalınlığının gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren grafik. Kont (Kontrol), DM (Diabetes mellitus), DK1 (Diabetes mellitus + 7 gün sonra Kurkumin), DK2 (Diabetes mellitus+21 gün sonra Kurkumin), DK3 (Diabetes mellitus+Eş zamanlı Kurkumin), Cur (Kurkumin)

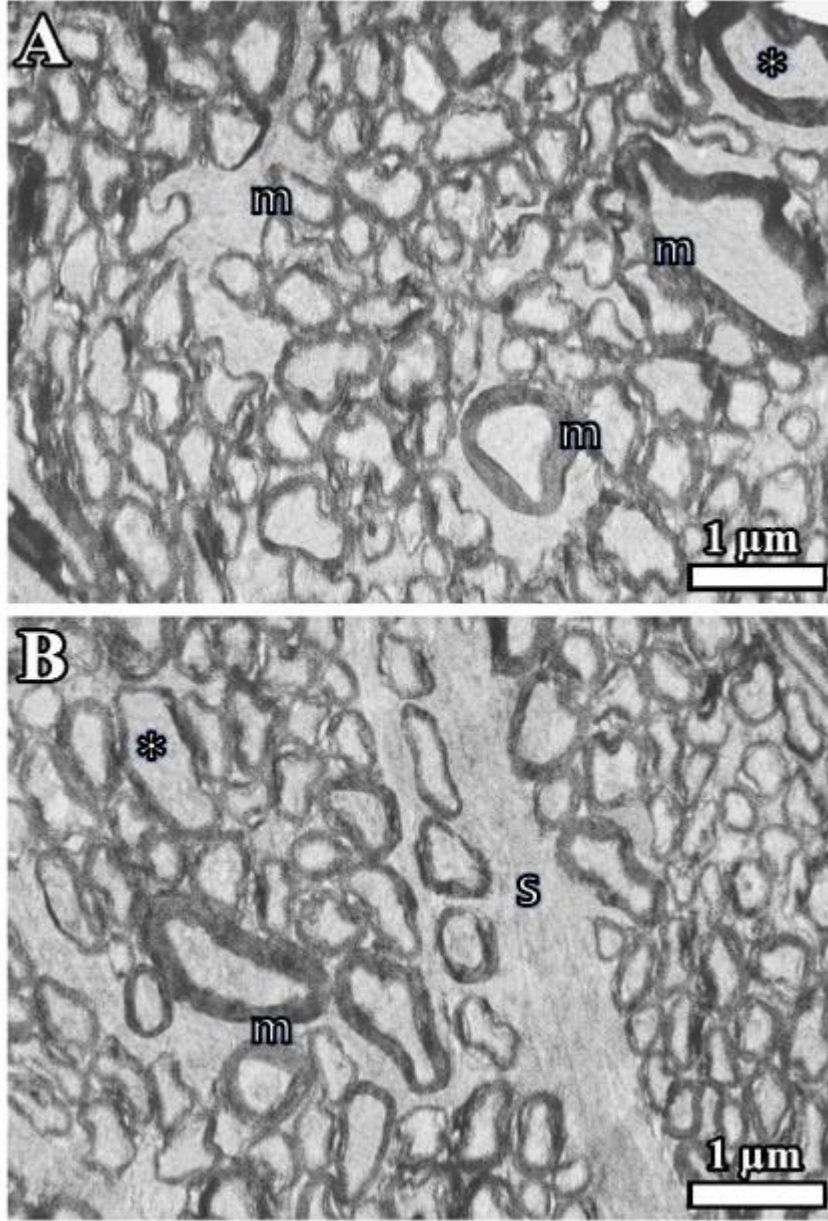
Miyelin kılıf kalınlığı bakımından istatistiksel olarak; gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

4.2. Histopatolojik Bulgular

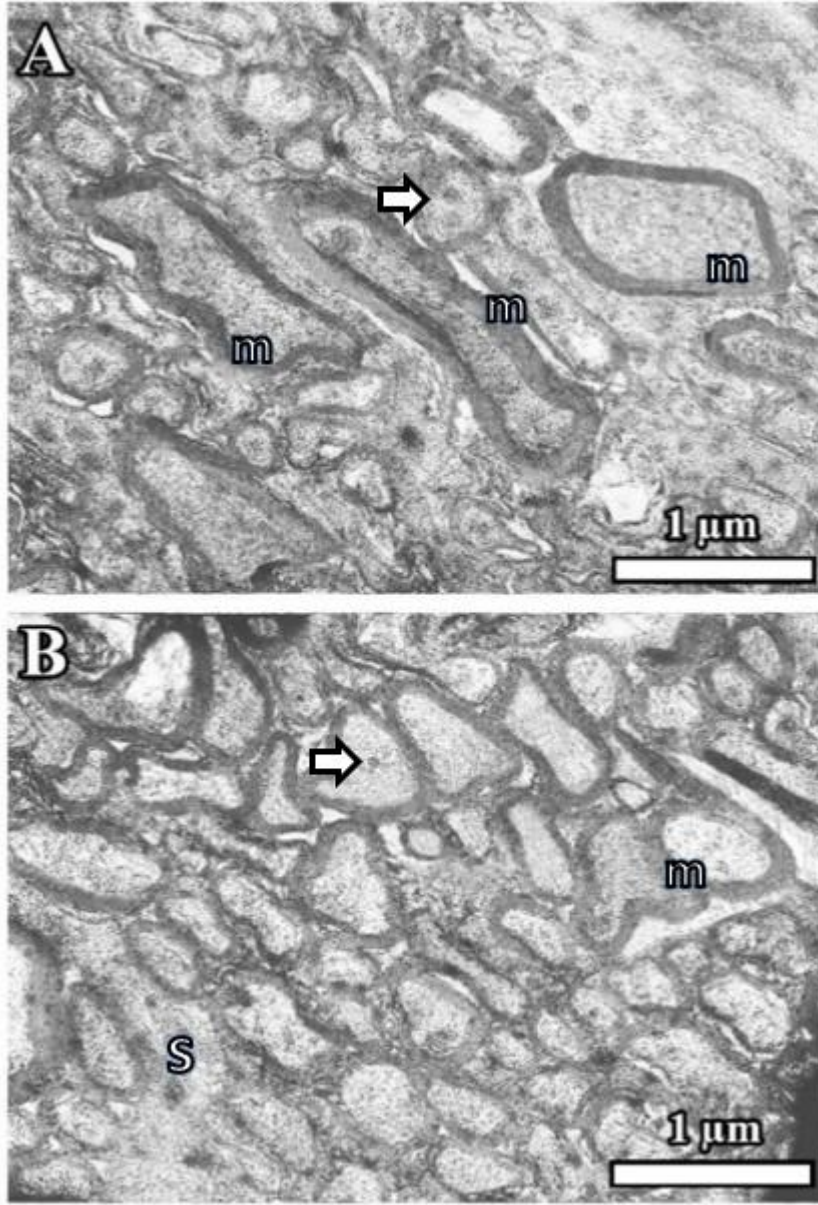
Gruplardan elde edilen elektron mikroskopik görüntülerindeki incelemeler sonucunda elde edilen histopatolojik yorumlar aşağıda verilmiştir.

4.2.1. Kontrol Grubuna Ait TEM Bulguları

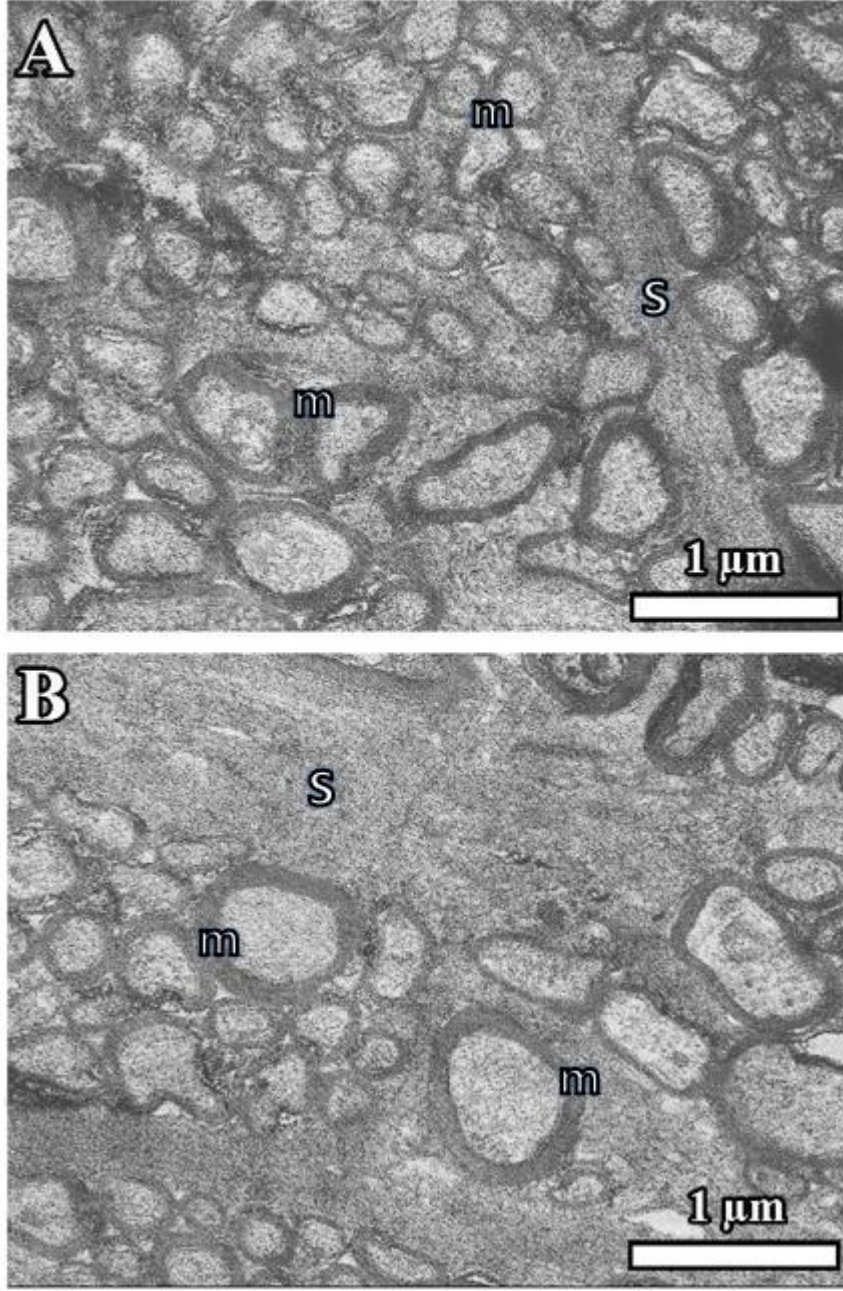
Kontrol grubuna ait optik sinirlerin ince yapısı incelendiğinde; farklı çapta optik sinir liflerinin ve bu liflerin etrafını çevreleyen çeşitli kalınlıkta miyelin kılıflarının olduğu görülmektedir (Şekil 10). Sıkı paketlenmiş ve lamelleri düzgün miyelin kılıfları, bütünlüğünü koruyan akson gövdelerini sarmaktaydı (Şekil 13). Aksoplazmanın normal yapıda olduğu ve mitokondriyonlar içerdiği gözlemlendi (Şekil 11). Aksonların arasını dolduran ve onları çevreleyen astrosite ait sitoplazmik uzantıların oluşturduğu septalar normal kalınlıktaydı (Şekil 12).



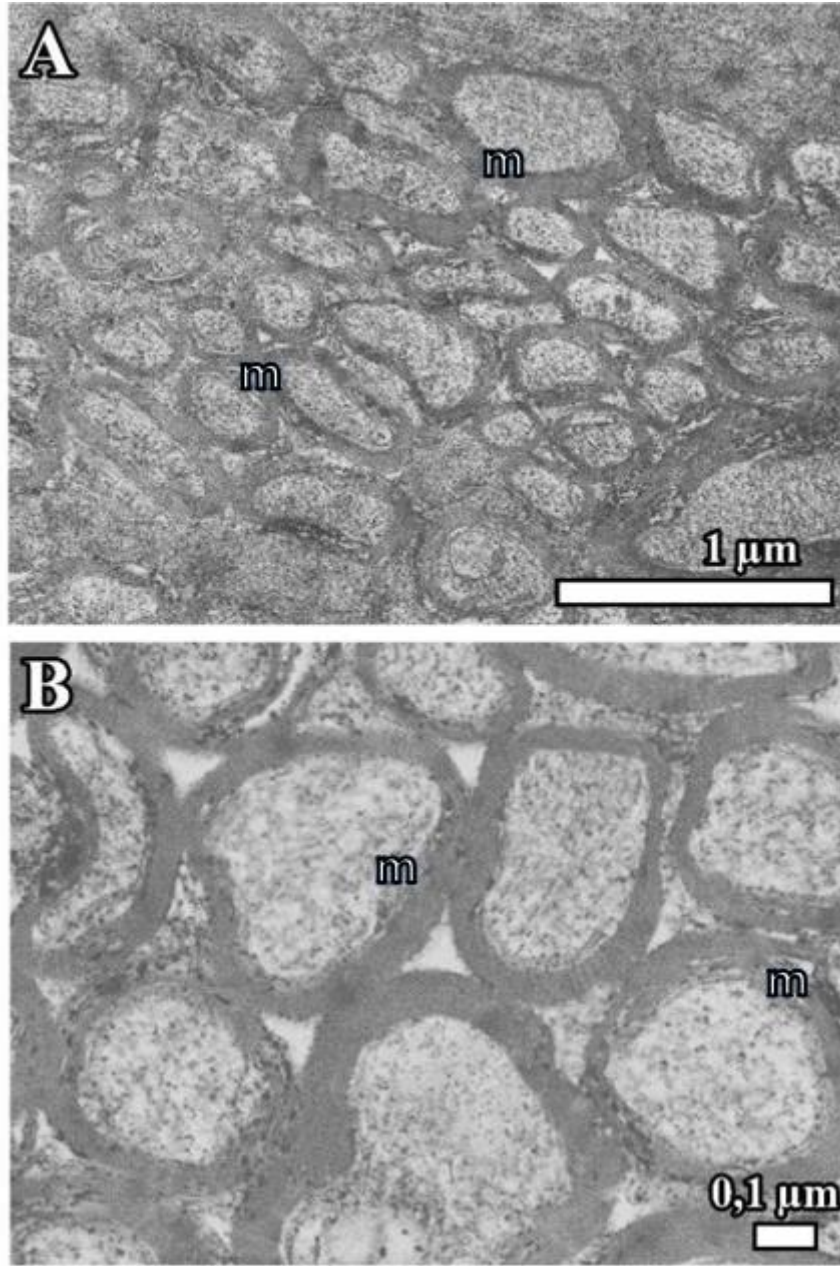
Şekil 10. (A, B) Kontrol grubundan alınan kesitlerin elektron mikroskopunda elde edilen görüntüleri. Düzenli ve farklı kalınlıklarda miyelin kılıflar ve bütünlüğünü koruyan akson alanları, çoğu küçük ve orta çaplı normal yapıda miyelin kılıfa sahip sinir lifleri ve astroitik septa görülmektedir. m: miyelin kılıf, *: akson , s: astroitik septa.



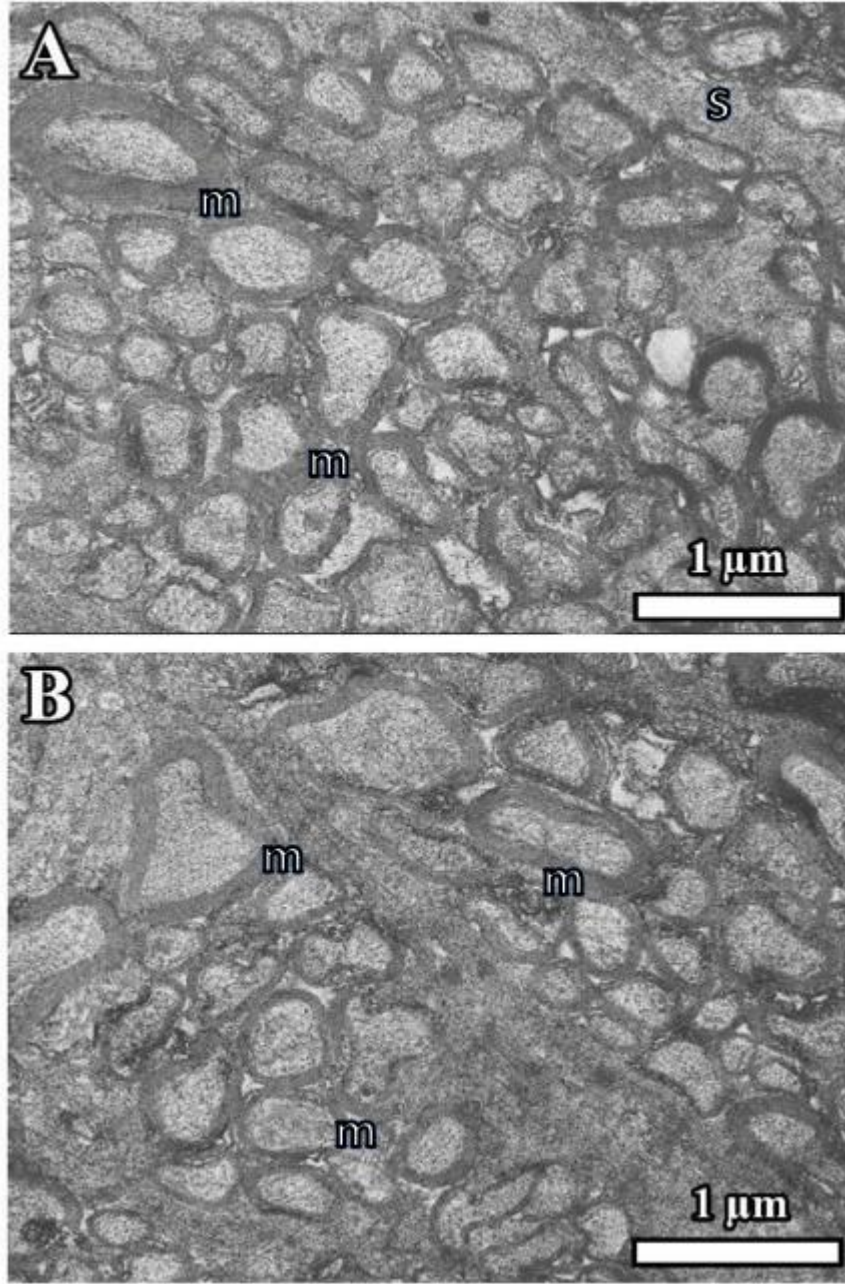
Şekil 11. (A, B) Kontrol grubundan alınan kesitlerin elektron mikroskopunda elde edilen görüntüleri. Sinir lifleri, miyelin kılıftaki lamelleri çok iyi korunmuş, aksoplazmasında az sayıda olsa da mitokondriyonlar görülmektedir. Miyelinli sinir liflerin arasında astrositlerin sitoplazmik uzantıları normal yapıdadır. m: miyelin kılıf, s: astrositik septa, ok işareti: mitokondriyon.



Şekil 12. (A, B) Kontrol grubundan alınan kesitlerin elektron mikroskobunda elde edilen görüntüleri gözlenmektedir. Düzgün organize olmuş miyelin kılıfa sahip küçük ve büyük çaplı sinir lifleri ve onların etrafını paket gibi saran astrosit sitoplazmik uzantılarının normal yapıda olduğu dikkat çekmektedir. Miyelin kılıf lamellerinin düzgün ve sıkı paketlenmiş durumu bu yapıların iyi korunduğunu göstermektedir. m: miyelin kılıf, s: astrositik septa.



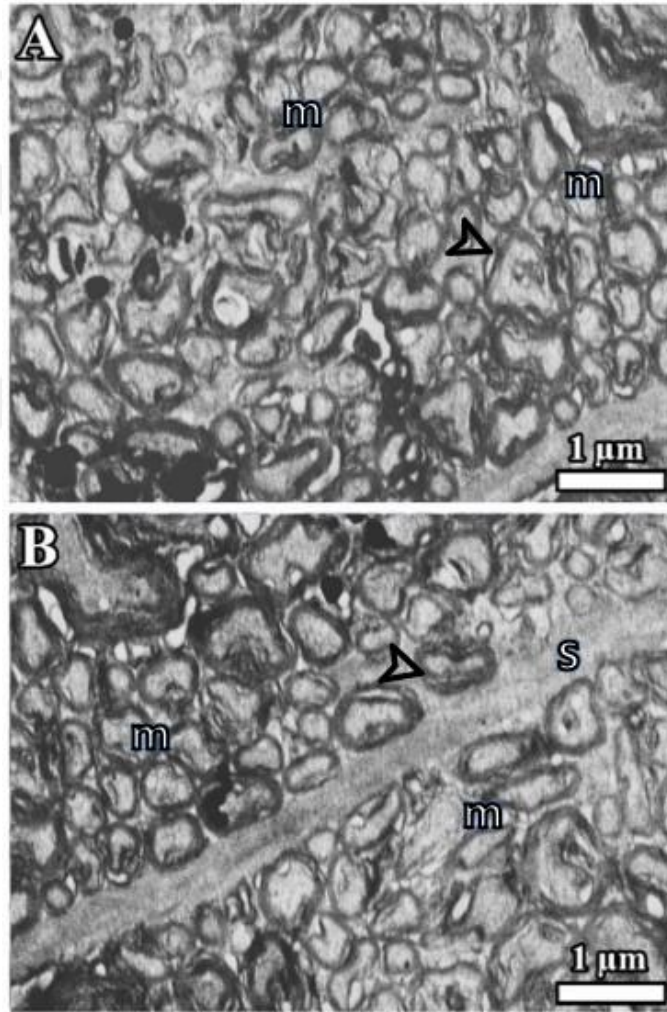
Şekil 13. (A, B) Kontrol grubundan alınan kesitlerin elektron mikroskopunda elde edilen görüntüleri verilmiştir. (B) Büyük büyültmede düzgün organize olmuş miyelin kılıfa sahip küçük ve büyük çaplı sinir lifleri görülmektedir. Sinir liflerinin etrafında bulunan miyelin kılıfındaki lamellerin düzgün ve sıkı paketlenmiş durumu dikkat çekmektedir. m: miyelin kılıf.



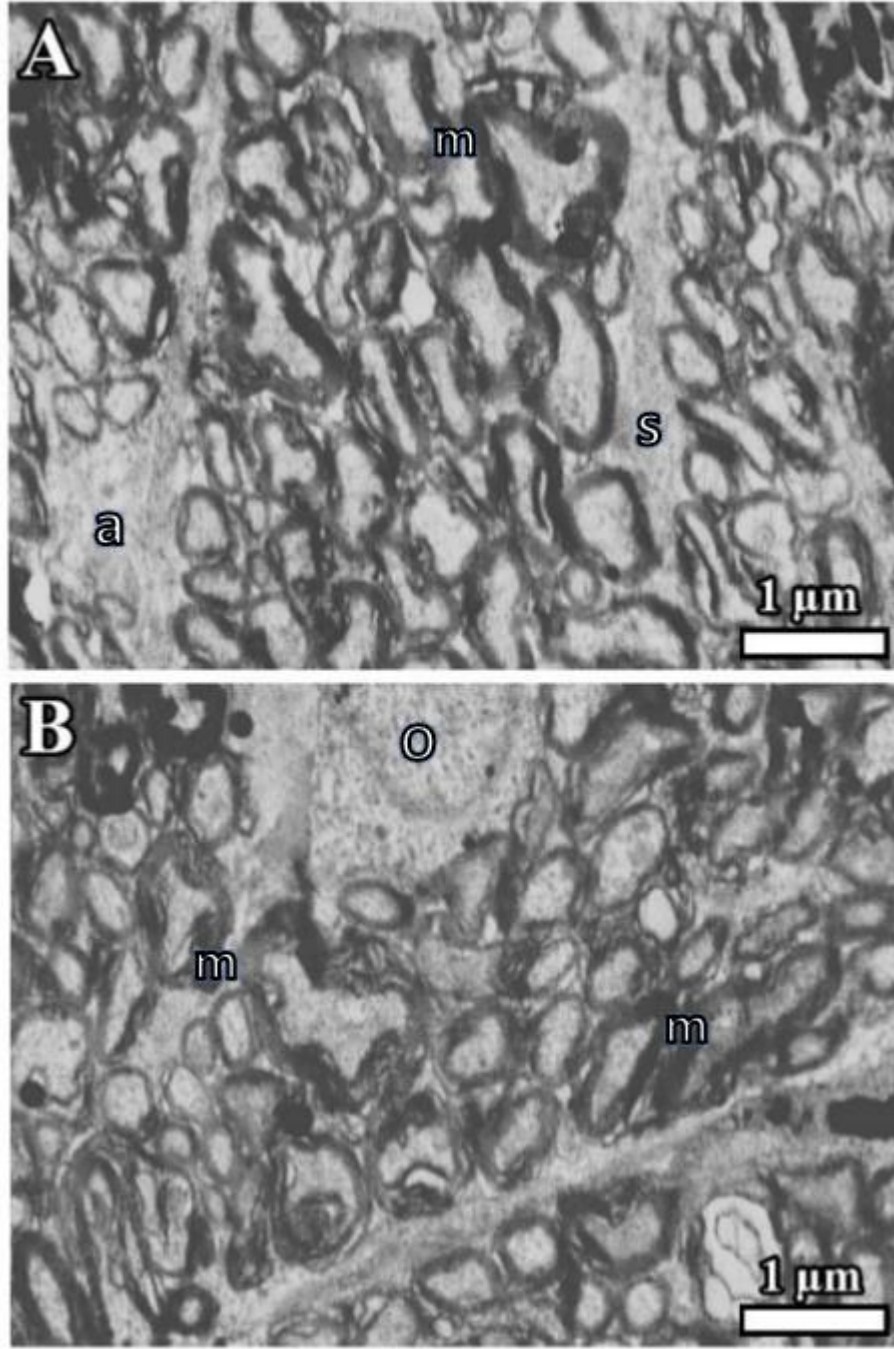
Şekil 14. (A, B) Kontrol grubundan alınan kesitlerin elektron mikroskobunda elde edilen görüntüleri görülmektedir. Düzgün organize olmuş miyelin kılıfa sahip küçük ve büyük çaplı sinir lifleri ve onların etrafını paket gibi saran astrosit sitoplazmik uzantılarının normal yapıda olduğu dikkat çekmektedir. (B) Büyük büyültmede düzgün organize olmuş miyelin kılıfa sahip küçük ve büyük çaplı sinir lifleri görülmektedir. Sinir liflerinin etrafında bulunan miyelin kılıfındaki lamellerin düzgün ve sıkı paketlenmiş durumu dikkat çekmektedir. m: miyelin kılıf, s: astrositik septa.

4.2.2. Sham Grubuna Ait TEM Bulguları

Sham grubuna ait optik sinirlerin ince yapısı incelendiğinde; akson ve etrafını çevreleyen miyelin kılıfları kolayca görülmekteydi. Farklı büyüklükteki aksonların ve miyelin kılıflarının yer yer dejenere olduğu, buna karşın çoğu sinir lifinin normal morfolojisini koruduğu gözlemlendi (Şekil 15). Optik sinir lifleri arasında astrositlerin sitoplazmik uzantıları normal yapıdaydı. Bazı kesitlerde oligodendrositler çok belirgin olarak görülmekteydi. Ayrıca morfolojik yapısını koruyamayan bazı sinir liflerinde miyelin kılıfında lamellerin birbirinden ayrıldığı fark edildi (Şekil 16).



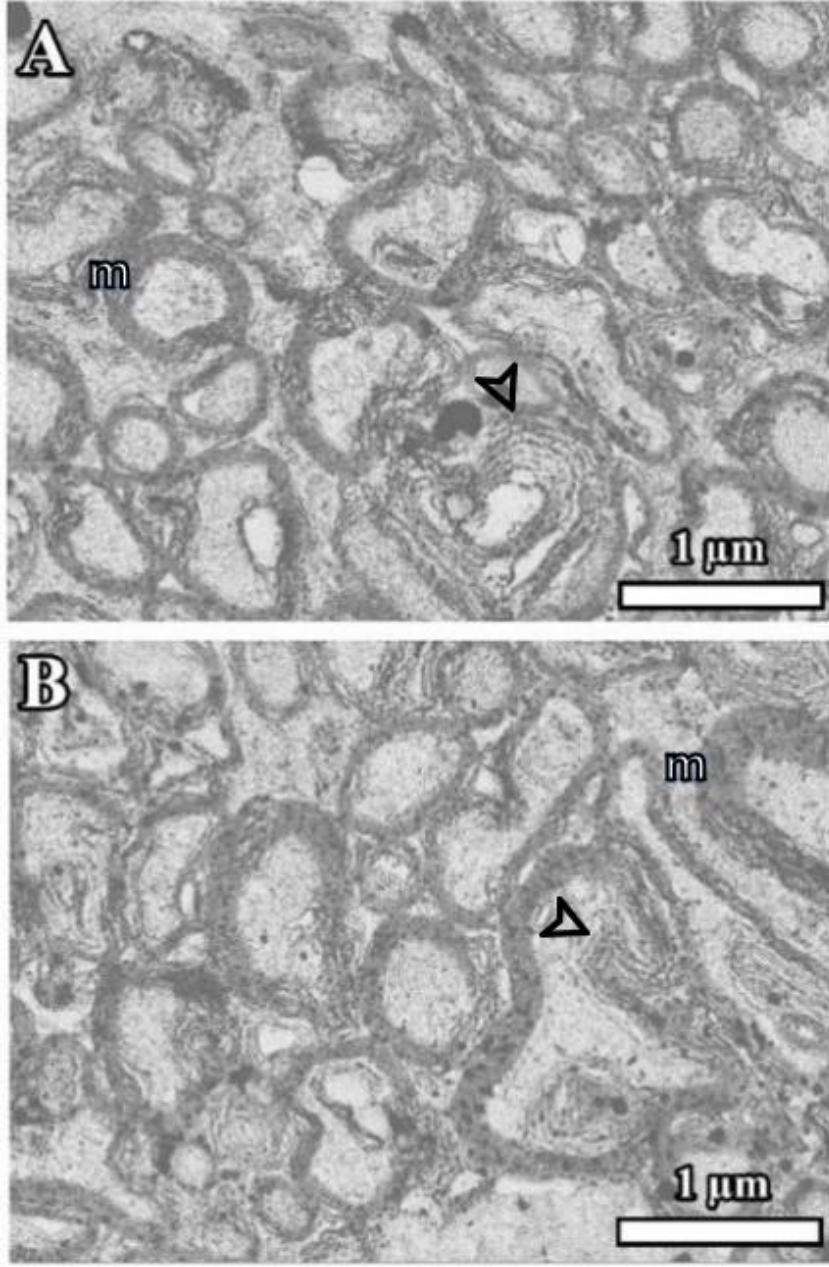
Şekil 15. (A, B) Sham grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntülerde dokunun morfolojik yapısını koruduğu gözlemlendi. Çoğu alanda aksonların etrafındaki miyelin kılıfının normal yapıda olmasına karşın, bazı alanlarda miyelin kılıfı lamellerinin birbirinden ayrıldığı fark edilmektedir. (B) Astrositik septaları normal yapı ve kalınlıktadır. m: miyelin kılıf, s: astrositik septa, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



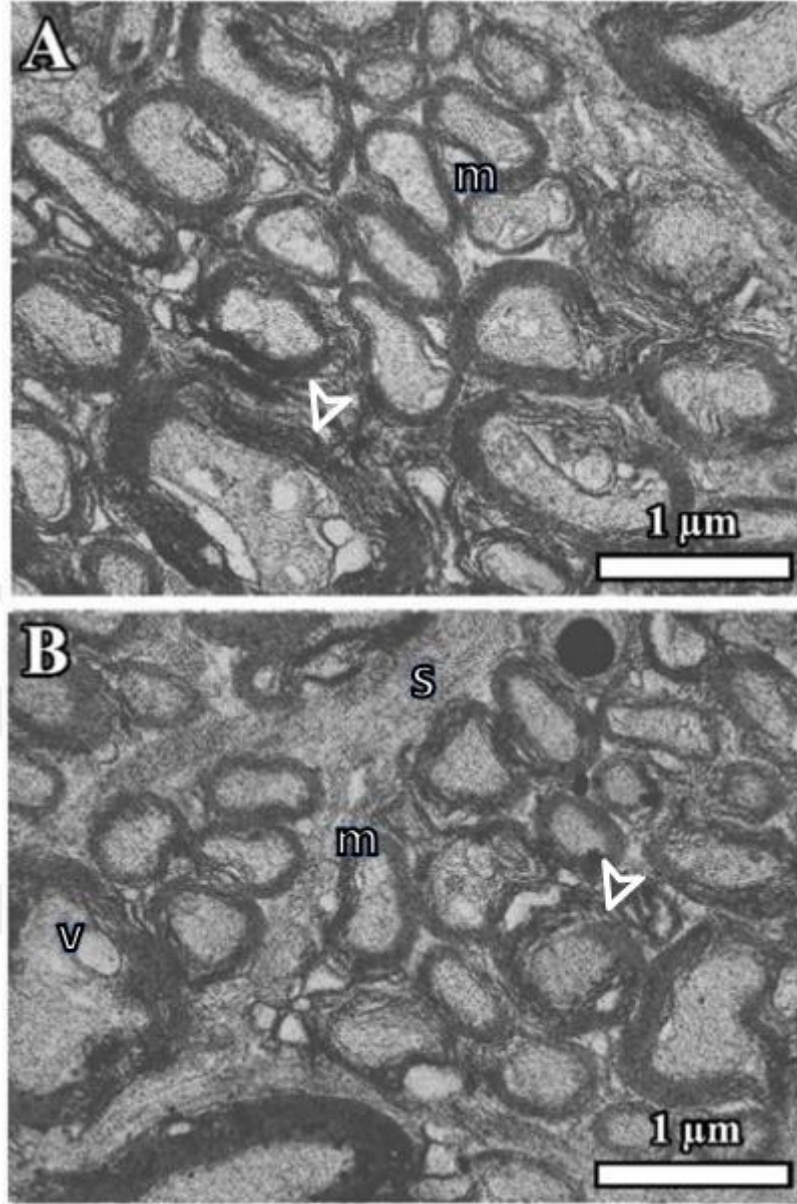
Şekil 16. (A, B) Sham grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntülerde dokunun morfolojik yapısını koruduğu gözlemlendi. Çoğu alanda aksonların etrafındaki miyelin kılıfının normal yapıda olmasına karşın, bazı alanlarda miyelin kılıfı lamellerinin birbirinden ayrıldığı fark edilmektedir. (A) Astrosit ve sitoplazmik uzantısı ve (B) Bir oligodendroglia görülmektedir. m: miyelin kılıf, s: astrositik septa, a: astrosit çekirdeği, O: oligodendrosit çekirdeği.

4.2.3. DM Grubuna Ait TEM Bulguları

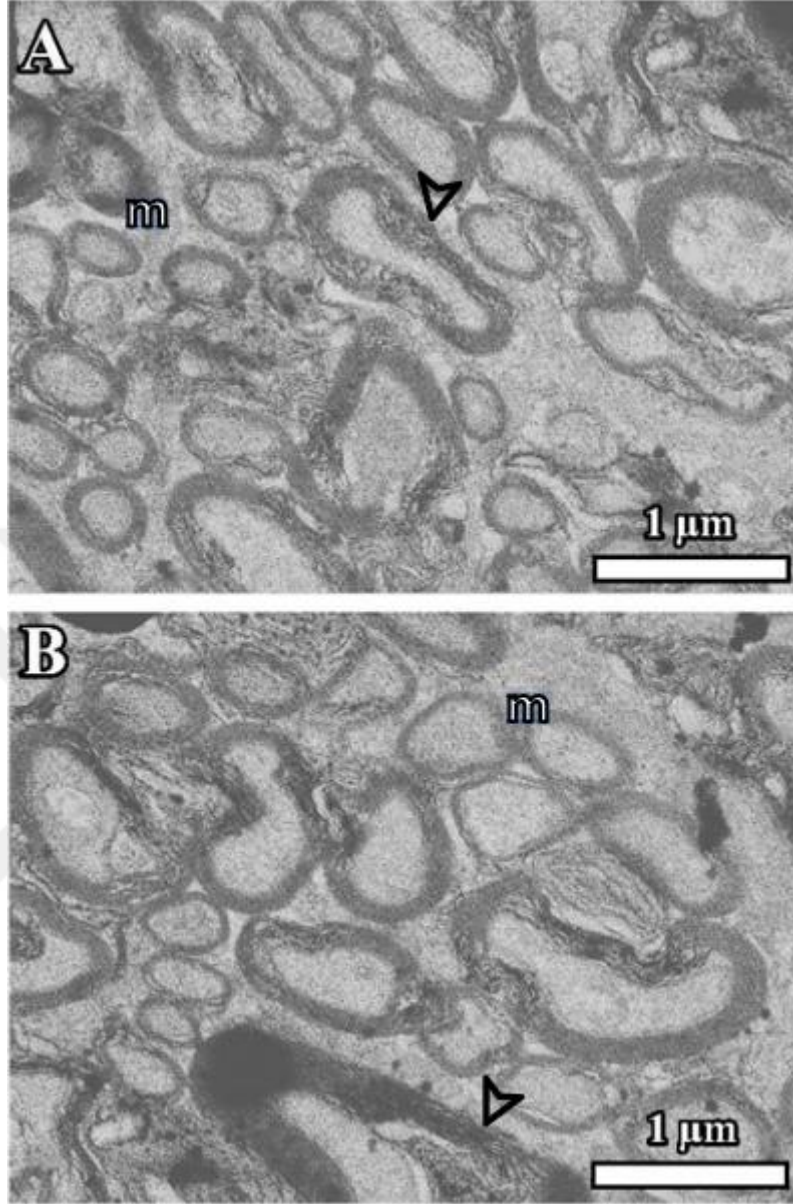
Diyabet grubuna ait optik sinirlerin ince yapısı elektron mikroskopunda incelendiğinde; hasarlanmış aksonlarda demiyelinizasyon göstergesi olan ayrılmış miyelin kılıfı lamellerinin çok sayıda olduğu görülmekteydi. Vakuolleşme ve miyelin kılıfı bölünmesi ile ileri derecede bozulmuş aksonların yaygınlığı dikkat çekmekteydi. Bu grubun tip özelliklerinden biri de çoğu sinir lifinde miyelin kılıfının katmanlara ayrılmasıydı (Şekil 17). DM'nin sinir lifi morfolojisi üzerindeki etkisi, miyelin kılıfında bütünlüğün büyük oranda bozulmasıdır. Ayrıca astrositik septaların daha az sayıda ve ince olması dikkat çekiciydi. DM grubunda dejenere miyelin kılıflı sinir liflerinin yoğun olmasına karşın, küçük çaplı liflerin normal yapıda olması dikkat çekmekteydi (Şekil 18). Bu gruptaki büyük çaplı sinir liflerinin miyelin kılıflarındaki şiddetli hasar kolayca görülebilmekteydi (Şekil 19). Bozulan sinir liflerinin çevre dokular ile aralarındaki sınırların belirsizliğinin yanında, dokuda çok sayıda vakuoller de bulunmaktaydı (Şekil 20).



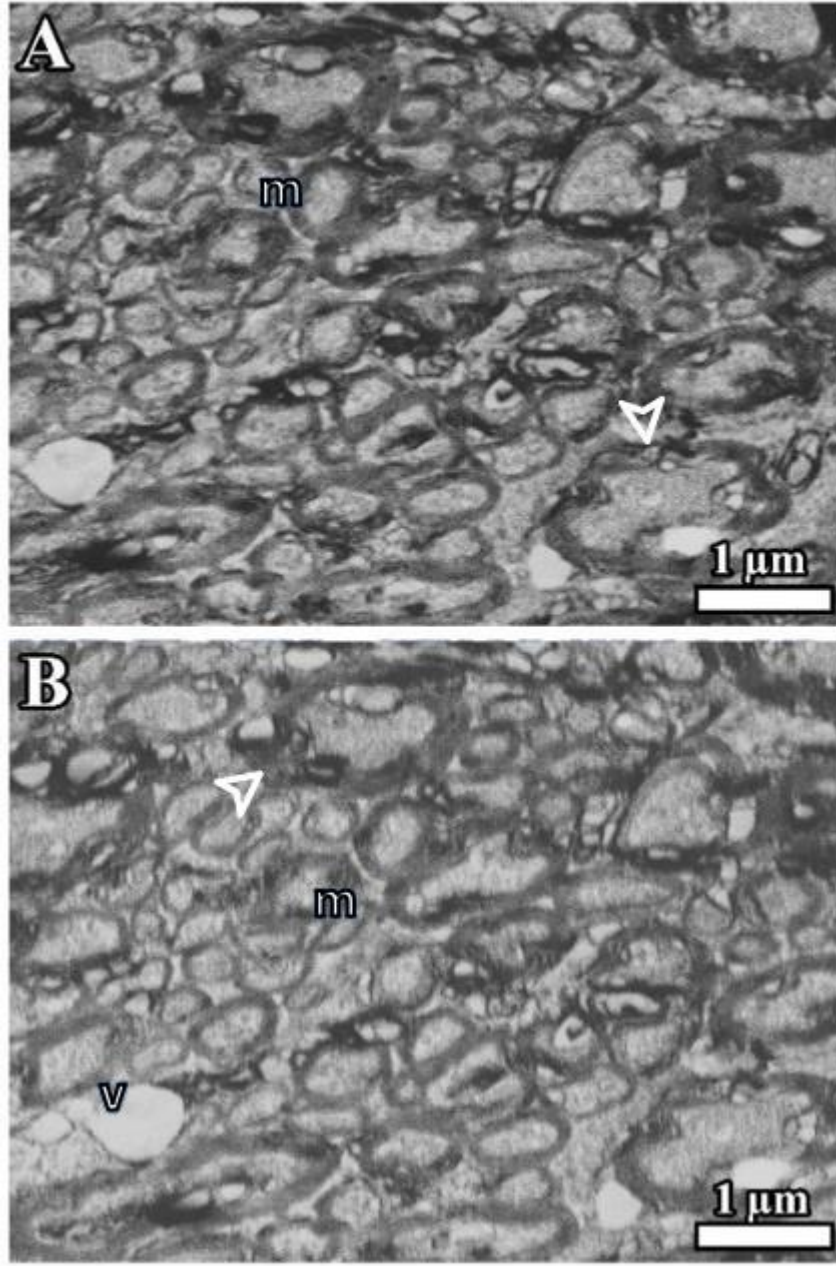
Şekil 17. (A, B) DM grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntülerde dokunun morfolojik yapısını koruyamadığı gözlemlendi. Çoğu alanda aksonların etrafındaki miyelin kılıfının normal yapıda olmadığı, sınırlı alanlarda ise miyelin kılıfı lamellerinin düzgün olduğu fark edildi. Astrosit sitoplazmik uzantıları ve oligodendroglialar bu kesitlerde yoktu. Miyelin kılıfının lameller yapısının ileri derecede bozulduğu, hatta bazı sinir liflerinde miyelin kılıfının bütünlüğünü tamamen kaybettiği görüldü. Ayrıca vakuolleşme ve miyelin kılıfın katmanlara bölünmesi dikkat çekmektedir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



Şekil 18. (A, B) DM grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntülerde dokunun morfolojik yapısını önemli oranda koruyamadığı gözlemlendi. Özellikle büyük çaplı sinir liflerinin etrafındaki miyelin kılıfının normal yapıda olmadığı, sınırlı alanlarda küçük çaplı sinir liflerinde ise miyelin kılıfı lamellerinin düzgün olduğu fark edildi. (B) Astrosit sitoplazmik uzantıları belirgindi. Miyelin kılıfının lameller yapısının ileri derecede bozulduğu, hatta bazı sinir liflerinde miyelin kılıfının bütünlüğünü tamamen kaybettiği gözlemlendi. Ayrıca kılıf ile akson arasında vakuolleşme yaygındı, miyelin kılıfındaki katmanlarda bölünme dikkat çekmekteydi. m: miyelin kılıf, v: vakuol, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, s: astrositik septa.



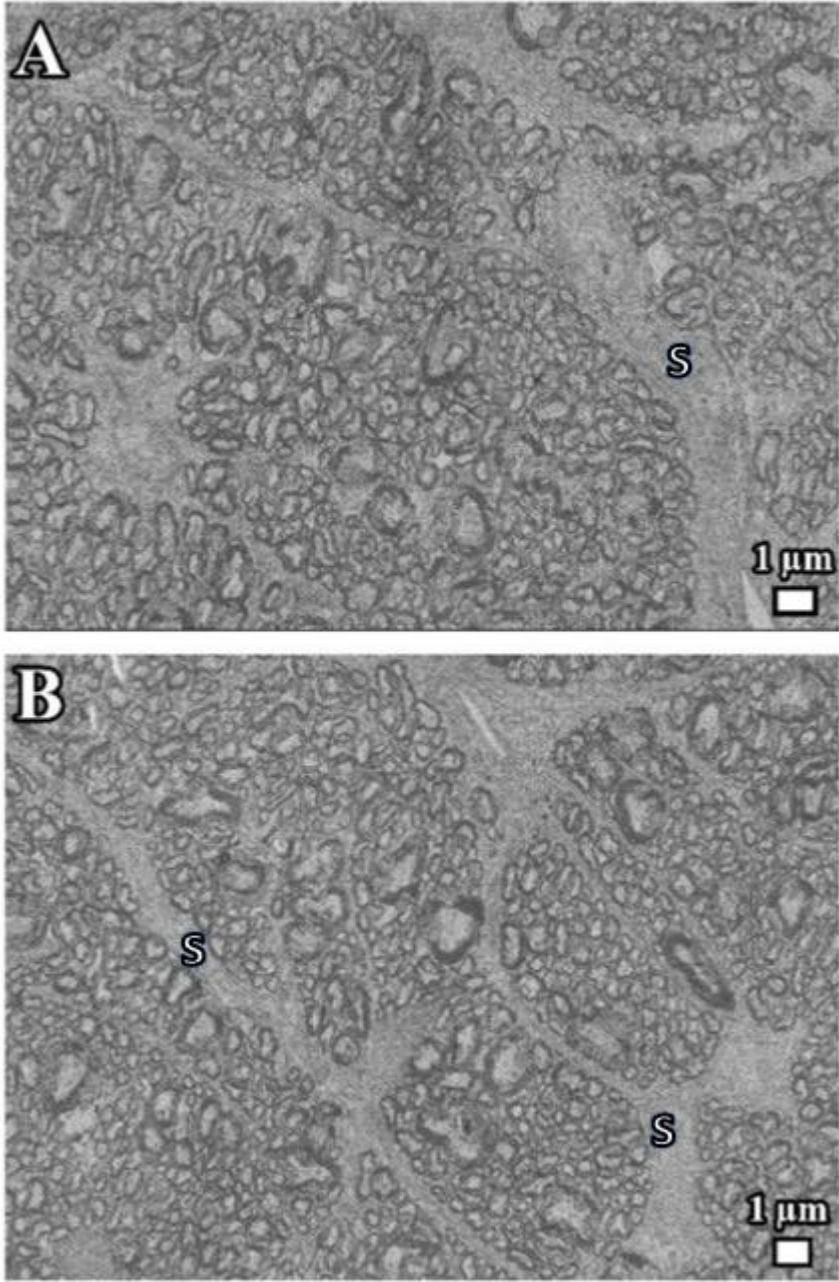
Şekil 19. (A, B) DM grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntülerde dokunun morfolojik yapısının önemli derecede bozulduğu gözlemlendi. Özellikle büyük çaplı sinir liflerinin etrafındaki miyelin kılıfının normal yapıda olmadığı gözlemlenirken, buna karşın sınırlı alanlarda küçük çaplı sinir liflerinde ise miyelin kılıfı lamellerinin düzgün olduğu fark edildi. (B) Astrosit sitoplazmik uzantıları belirgindi. Miyelin kılıfının lameller yapısının ileri derecede bozulduğu, hatta bazı sinir liflerinde miyelin kılıfının bütünlüğünü tamamen kaybettiği gözlemlendi. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



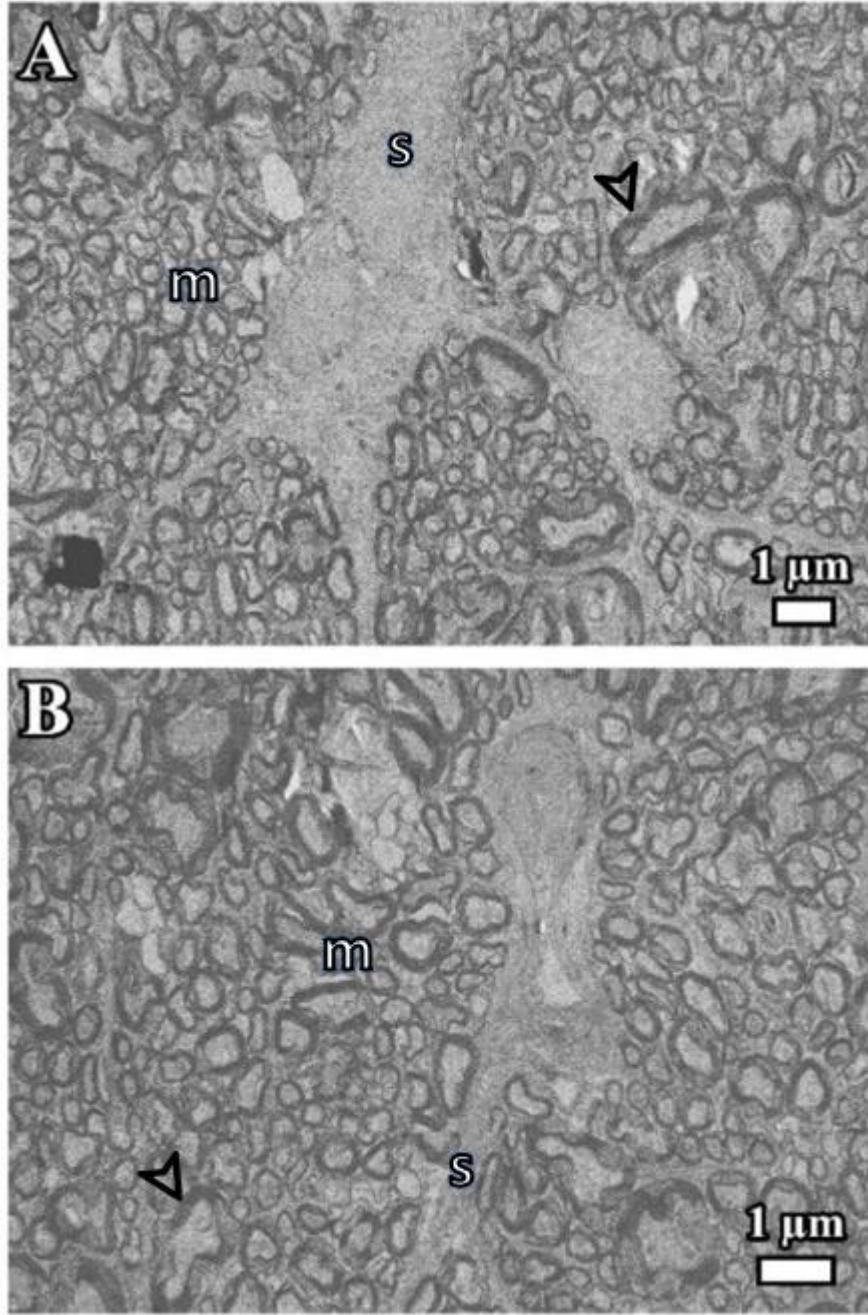
Şekil 20. (A, B) DM grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntülerde dokunun morfolojik yapısının önemli derecede bozulduğu gözlemlendi. Özellikle büyük çaplı sinir liflerinin etrafındaki miyelin kılıfının normal yapıda olmadığı gözlenirken, buna karşın sınırlı alanlarda küçük çaplı sinir liflerinde ise miyelin kılıfı lamellerinin düzgün olduğu fark edildi. Miyelinli sinir lifleri ile çevre dokusu arasındaki sınırın belirsizliği ve diğer elemanların fark edilemediği gözlenmektedir. Dokuda çok sayıda vakuollerin varlığı da dikkat çekiciydi. m: miyelin kılıf, v: vakuol, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.

4.2.4. DK1 Grubu TEM Bulguları

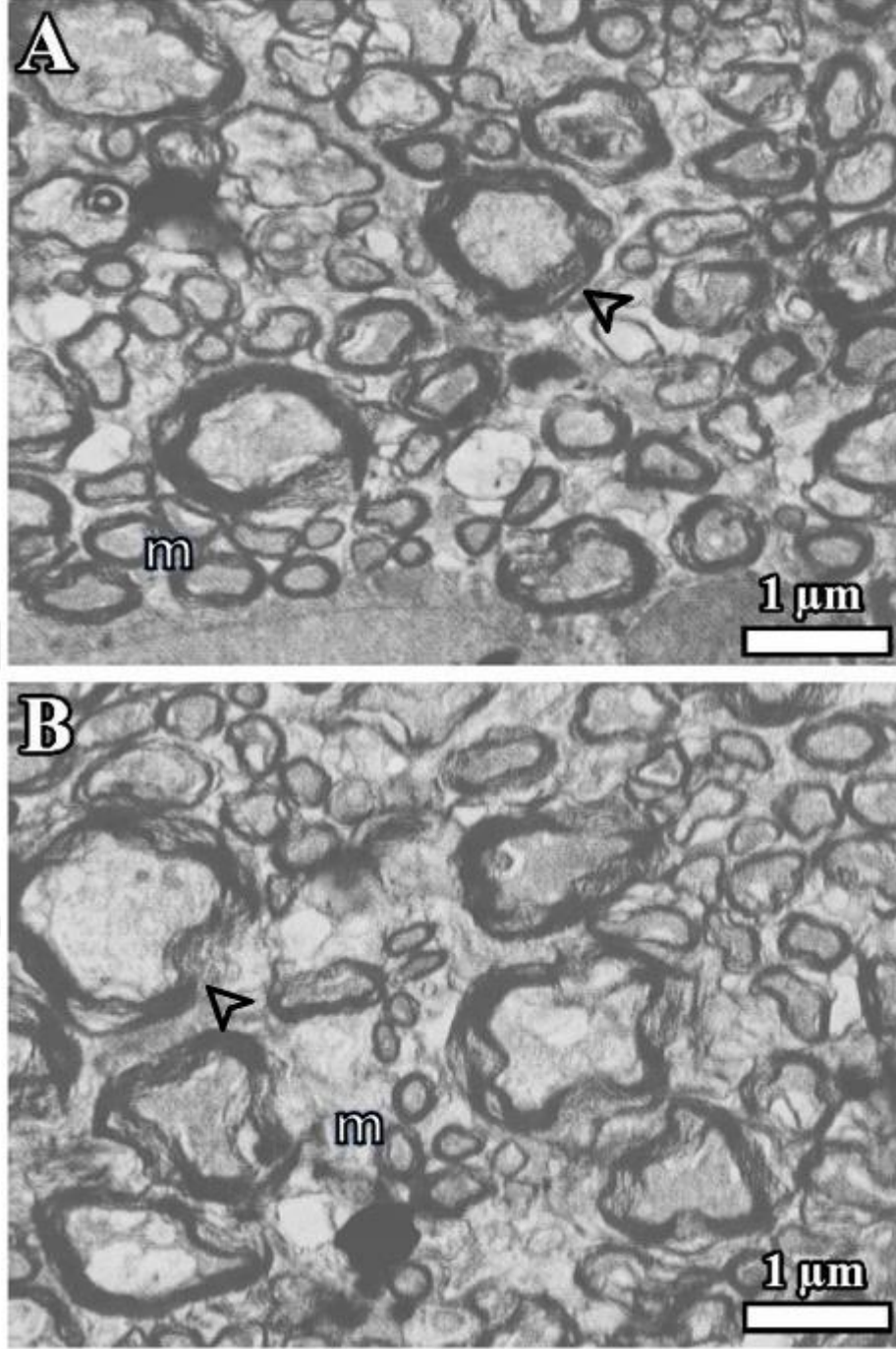
DK1 grubuna ait optik sinirlerin ince yapısı incelendiğinde; sinir liflerinin normal yapıda olduğu ve liflerin arasında yer alan astrositik uzantıların lifleri ve çevre dokuyu net şekilde birbirinden ayırdığı gözlemlendi (Şekil 21). Küçük çaplı liflerin ve astrositik uzantıların çoğunlukla normal olmasına karşın, büyük çaplı liflerin miyelin kılıfında büyük oranda bozulmaların olduğu görüldü (Şekil 22). Büyük çaplı liflere ait miyelin kılıflarındaki lamellerin çoğunun birbirinden ayrıldığı, ancak küçük çaplı aksonların ve kılıflarının daha iyi korunduğu ve astrositik sitoplazma uzantılarının normal olduğu fark edilmekteydi (Şekil 23). Lameller yapısı bozulmuş büyük çaplı aksonlar olmasına karşın, astrosit hücrelerine ait çekirdeklerin korunmuş ve normal yapıda olduğu görüldü (Şekil 24). Ayrıca astrositik septaların sinir liflerinin aralarında iyi organize olduğu fark edildi (Şekil 25). Miyelin kılıfı bozulmuş büyük çapta liflere ek olarak lifler arasında boşluklu alanlar kayıp liflerin olduğuna işaret edebilir (Şekil 26). Genelde küçük çaplı lifler normal yapılarını koruyabilmişken, büyük liflerle birlikte orta çapta liflerin de önemli derecede bozulduğu sıkça rastlandı (Şekil 27, 28). Bazı alanlarda ince astrositik septalar, liflerin arasında yer almaktaydı (Şekil 28, 29). Tamamen ortadan kaldırılmamış sinir liflerinin miyelin kılıfının da ileri derecede bozulduğu gözlemlendi (Şekil 30-31).



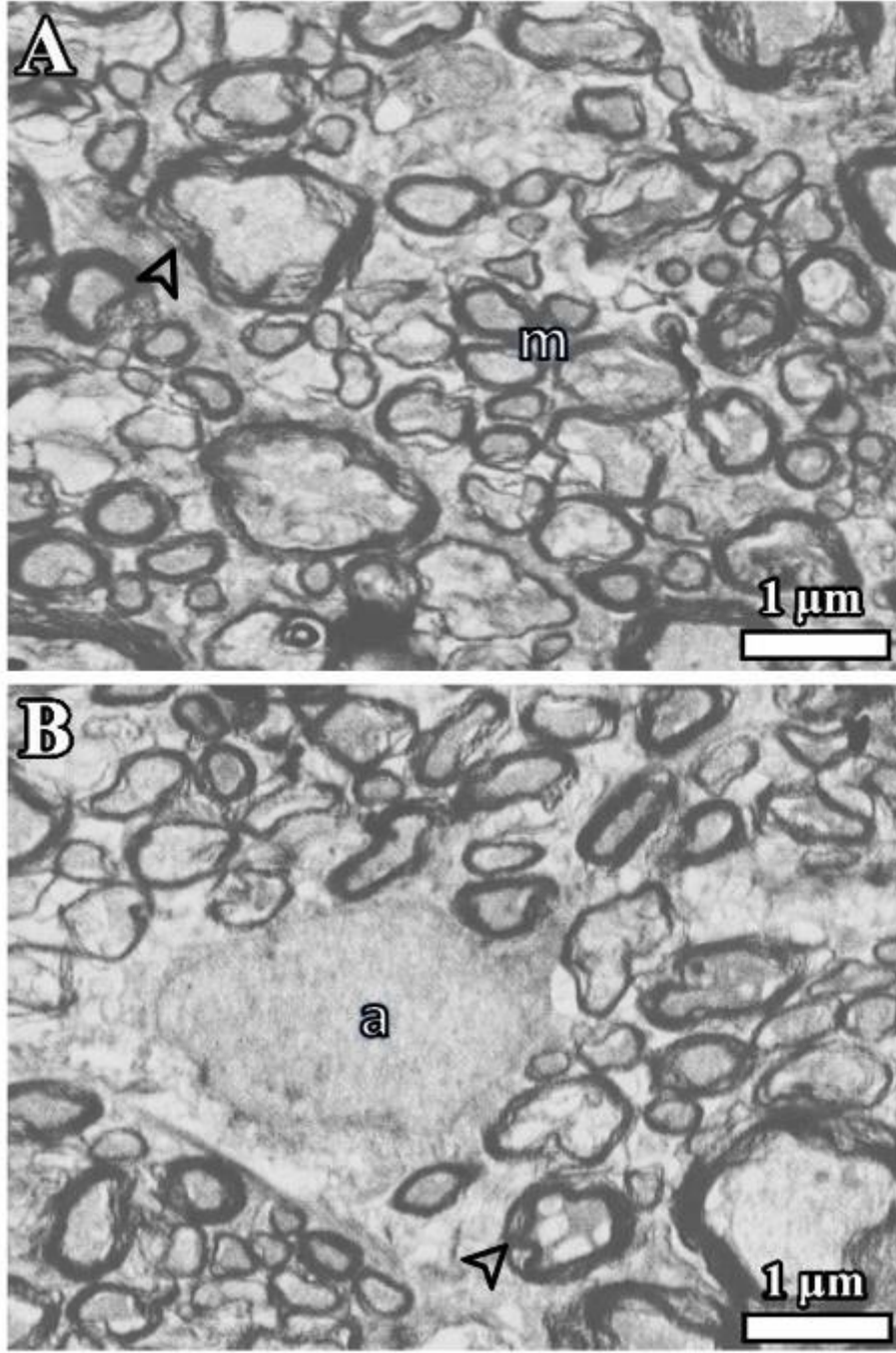
Şekil 21. (A, B) DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler gözlenmektedir. Sinir liflerinin etrafını astrositlere ait sitoplazmik uzantılar çevrelemektedir. Genel olarak liflerin morfolojilerinin korunduğu, çevre dokuları ile sınırlarının ayırt edilebildiği gözlemlendi. s: astrositik septa.



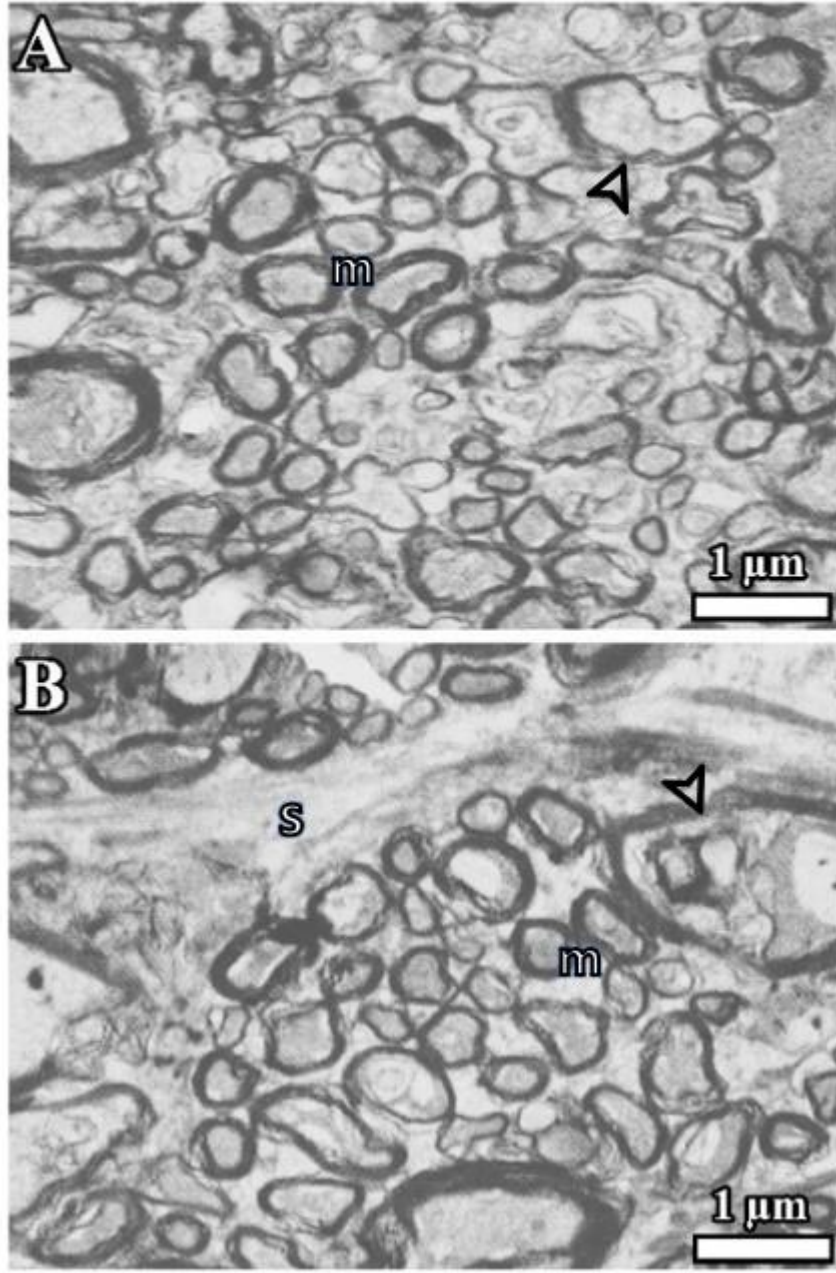
Şekil 22. (A, B) DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler gözlenmektedir. Sinir liflerinin etrafını astrositlere ait sitoplazmik uzantılar çevrelemektedir. Genel olarak liflerin morfolojilerinin korunduğu, çevre dokuları ile sınırlarının ayırt edilebildiği gözlemlendi. Küçük çaplı liflerin etrafını çevreleyen miyelin kılıf küçük çaplı liflerde daha iyi korunmuşken, büyük çaplı liflerin kılıflarının büyük oranda bozulduğu fark edildi. s: astrositik septa, m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



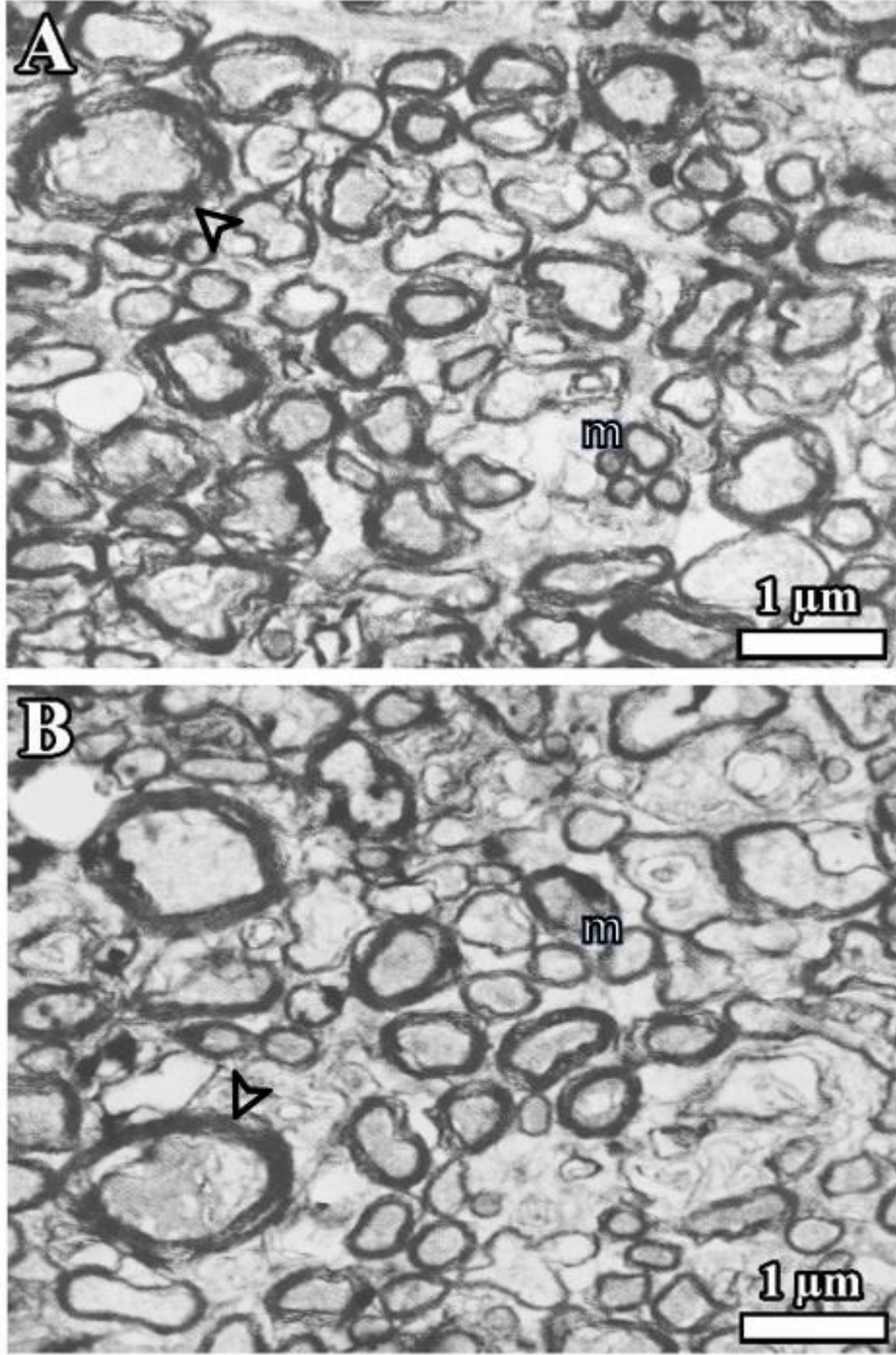
Şekil 23. (A, B) DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler gözlenmektedir. Büyük çaplı liflerin çoğunun miyelin kılıflarındaki lamellerin birbirinden ayrıldığı, buna karşın küçük çaplı sinir liflerinin daha iyi korunduğu gözlenmektedir. Astrositlere ait sitoplazmik uzantıların normal yapıda olduğu görüldü. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



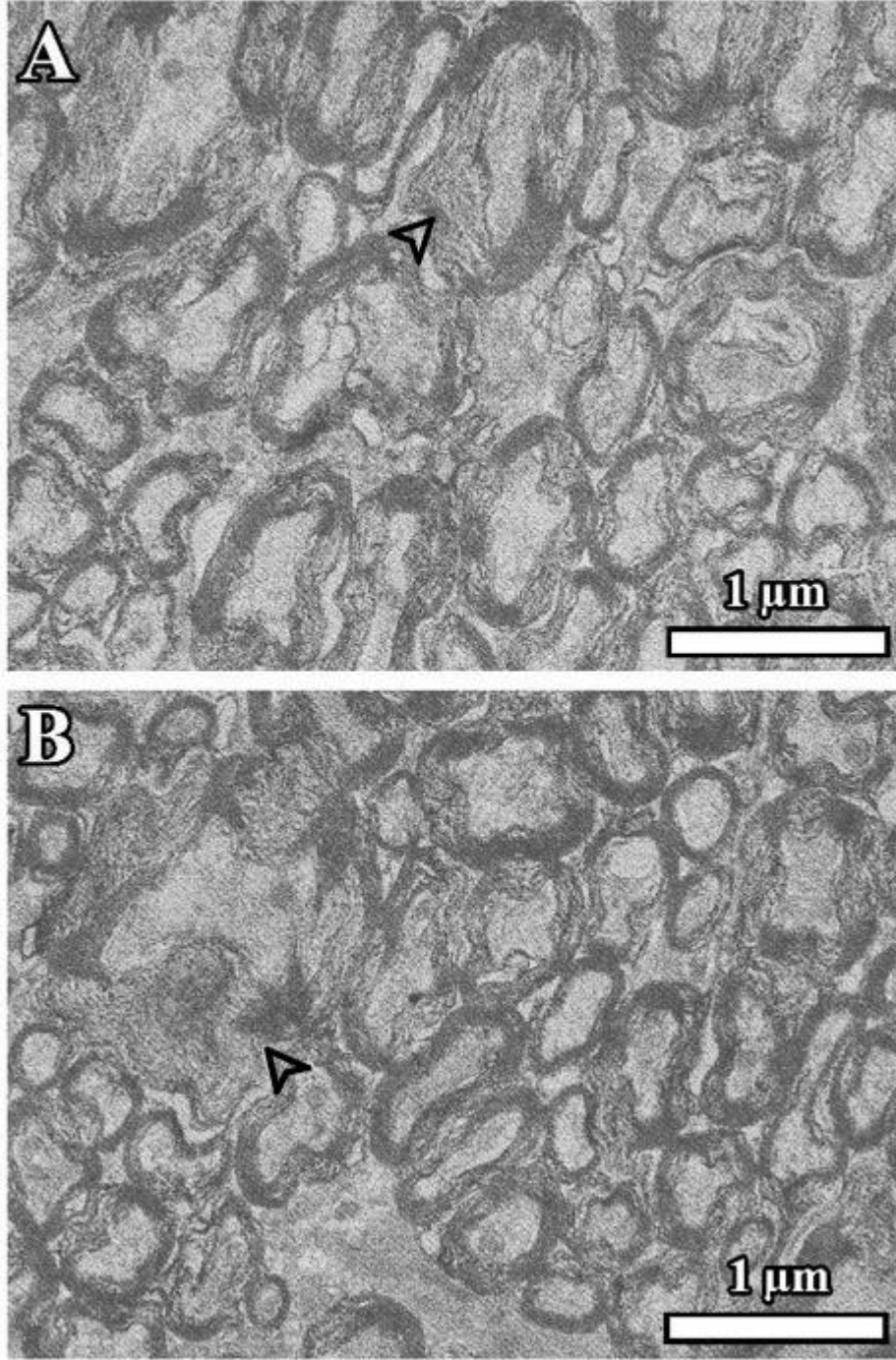
Şekil 24. (A, B) DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Çoğunluğunu küçük çaplı ve normal yapıda olan sinir liflerinin oluşturduğu dokuda, genelde lameller yapısı bozulmuş büyük çaplı sinir liflerinin eşlik ettiği gözlemlendi. Astrosite ait hücre çekirdeğinin ve diğer optik sinir elemanlarının sınırlarının belirgin olduğu ve normal morfolojiye sahip olduğu fark edildi. a: astrosit çekirdeği, m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



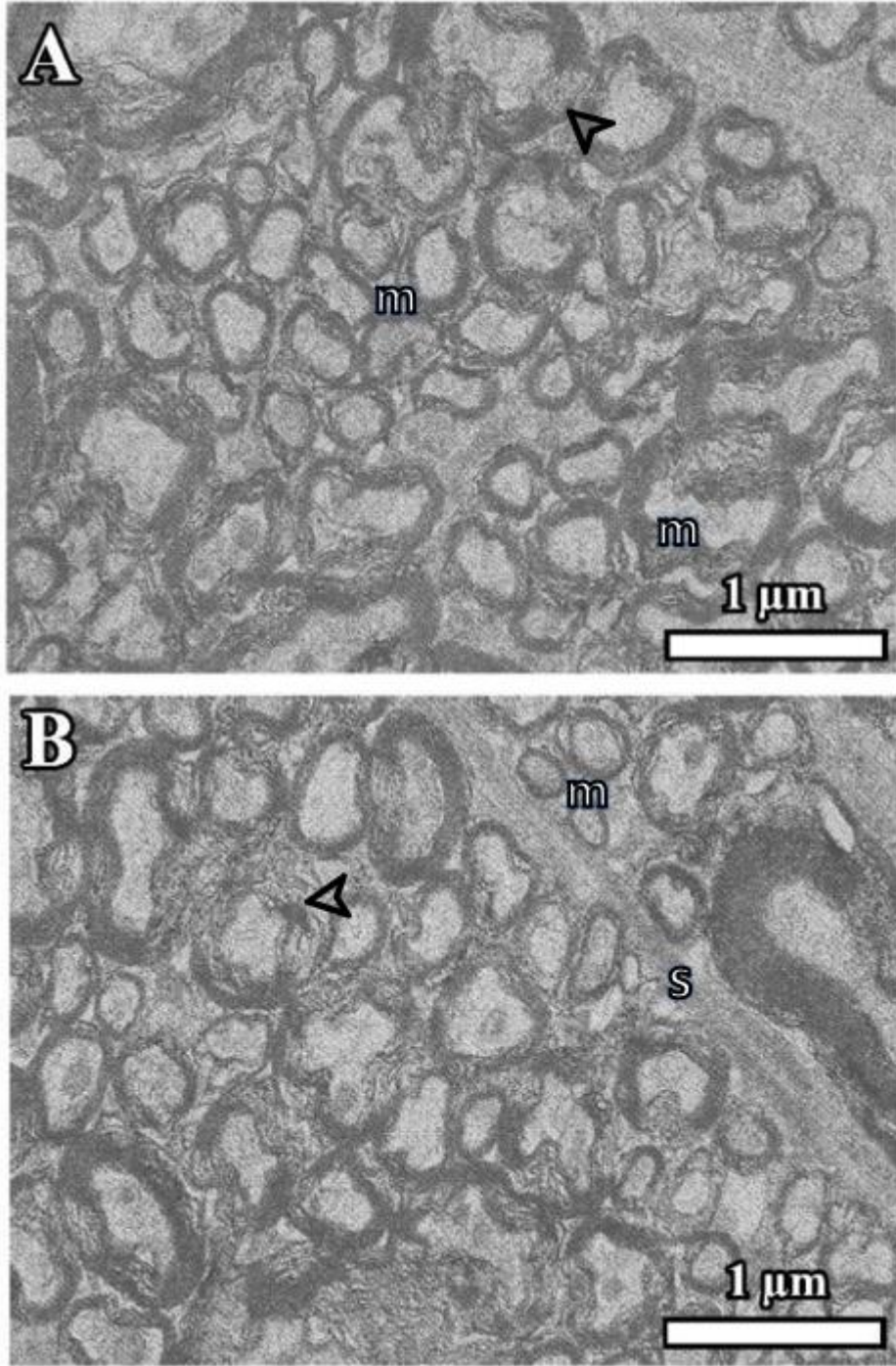
Şekil 25. (A, B) DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Çoğunluğunu küçük çaplı ve normal yapıda olan sinir liflerinin oluşturduğu dokuda, genelde lameller yapısı bozulmuş büyük çaplı sinir liflerinin varlığı gözlemlendi. Lifler arasındaki astroitik septalar dikkat çekmektedir. s: astroitik septa, m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



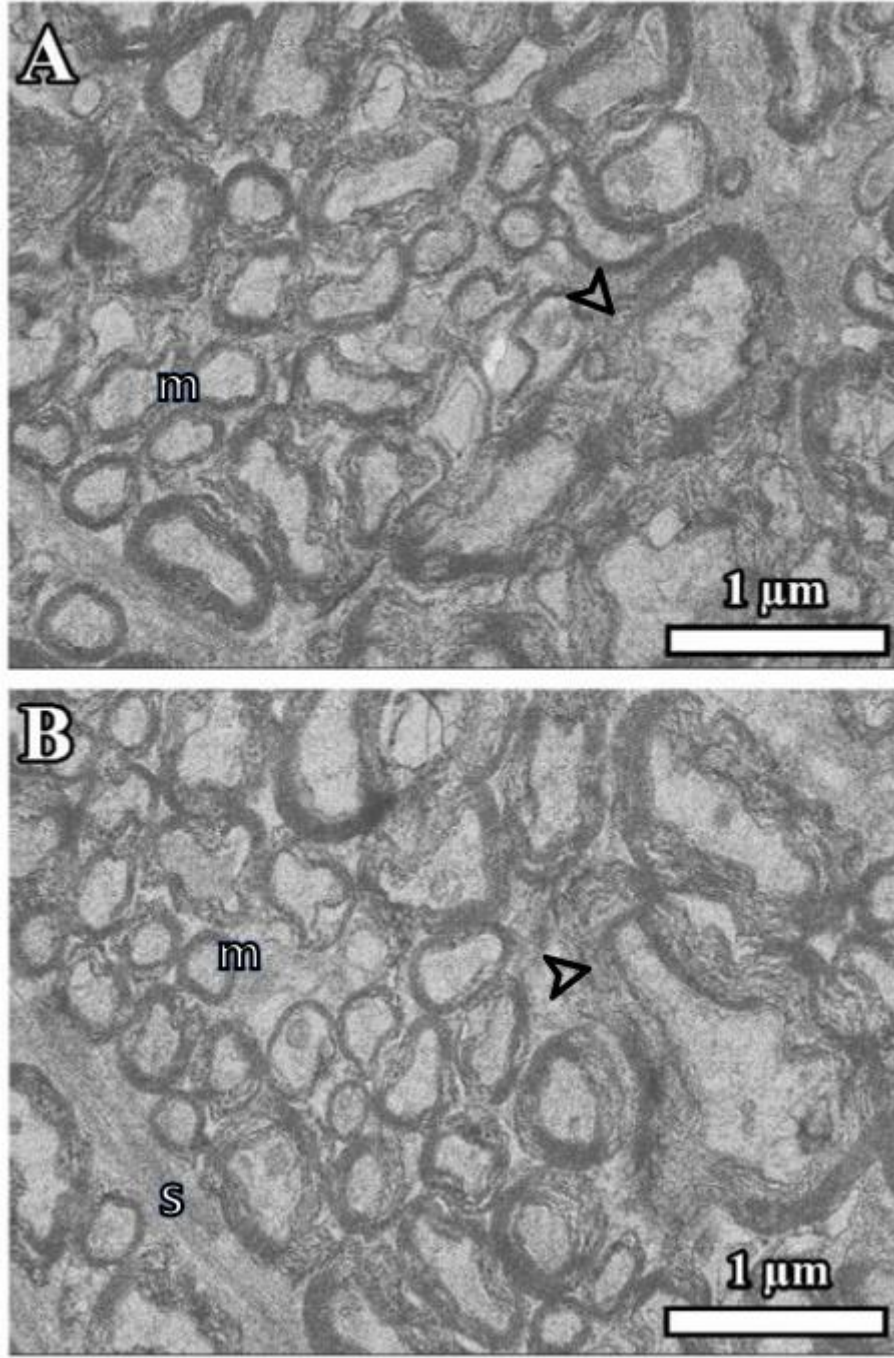
Şekil 26. DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Genelde iyi korunmuş küçük çaplı optik sinir liflerine karşın büyük çaplı liflerin etrafındaki miyelin kılıflarının bozulduğu gözlemlendi. Sinir lifleri arasında artan aralıklar, kaybedilen liflerin buldukları alanlar olabilir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



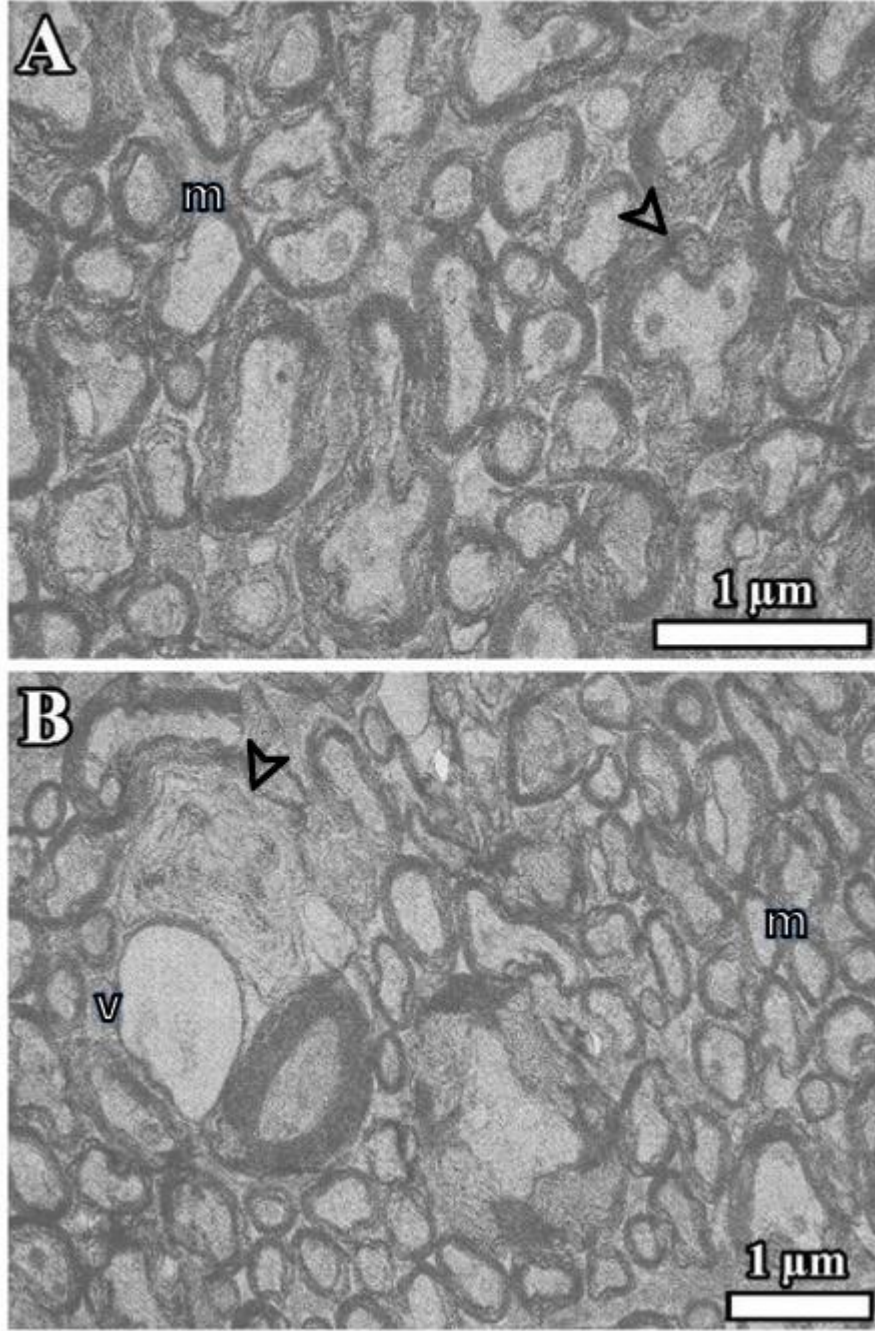
Şekil 27. (A, B) DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Orta ve büyük çaplı sinir liflerinin etrafını çevreleyen miyelin kılıflarının ileri derecede bozulduğu dikkati çekmektedir. ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



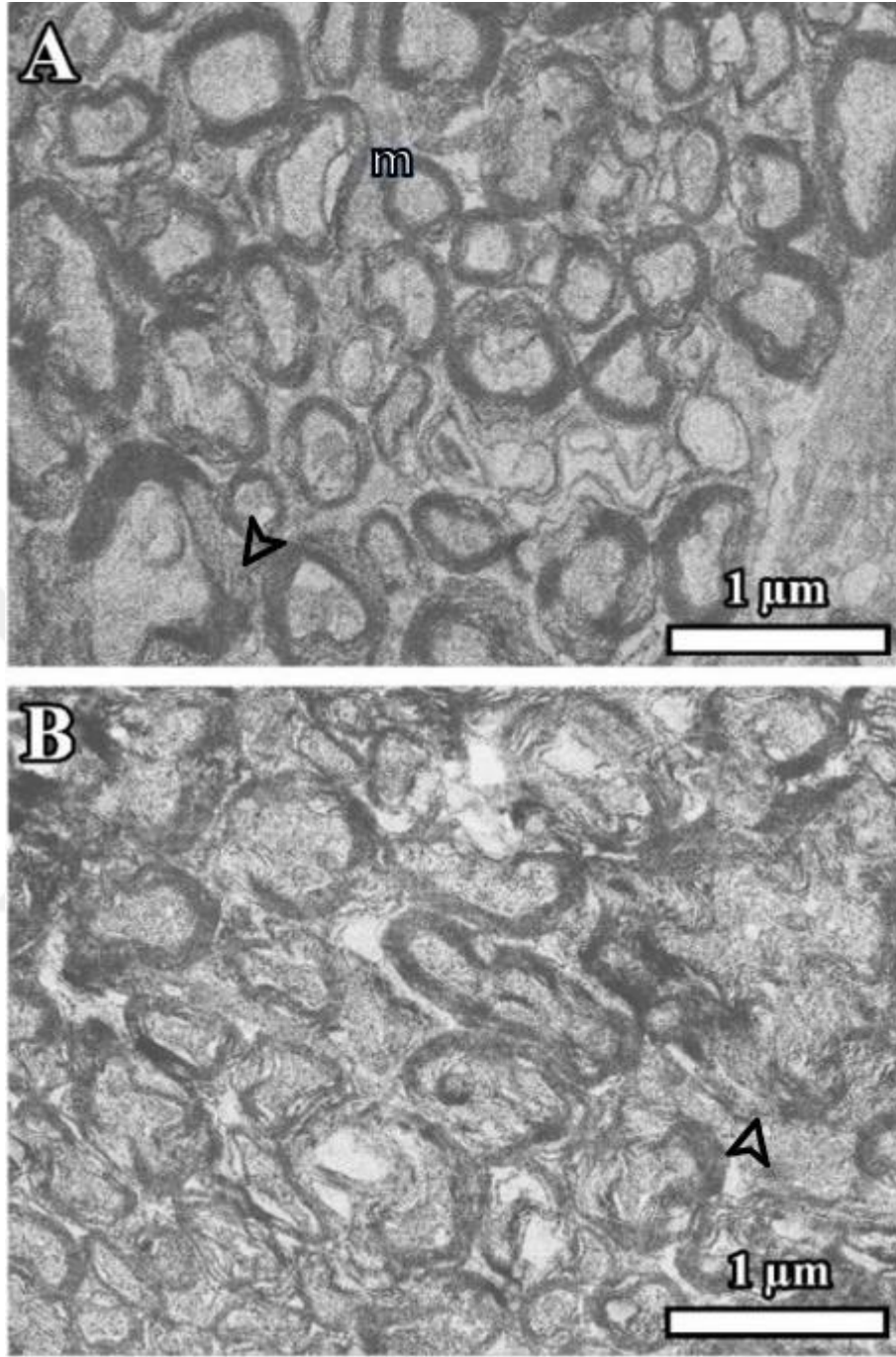
Şekil 28. (A, B) DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Büyük, küçük ve orta çaplı aksonlar görülmektedir. Genelde küçük çaplı liflerin etrafındaki miyelin kılıf korunmuşken, diğerlerin korunamadığı, normal yapılarının bozulduğu fark edilmektedir. Lifler arasında ince astrositik septalar görülmektedir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, s: astrositik septa.



Şekil 29. (A, B) DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Büyük, küçük ve orta çaplı aksonlar görülmektedir. Genelde küçük çaplı liflerin etrafındaki miyelin kılıf korunmuşken, diğerlerin korunamadığı, normal yapılarının bozulduğu fark edilmektedir. Miyelin kılıftaki bozulma özellikle büyük çaplı liflerin etrafında çok daha belirgindir. Lifler arasında ince astrositik septalar görülmektedir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, s: astrositik septa.



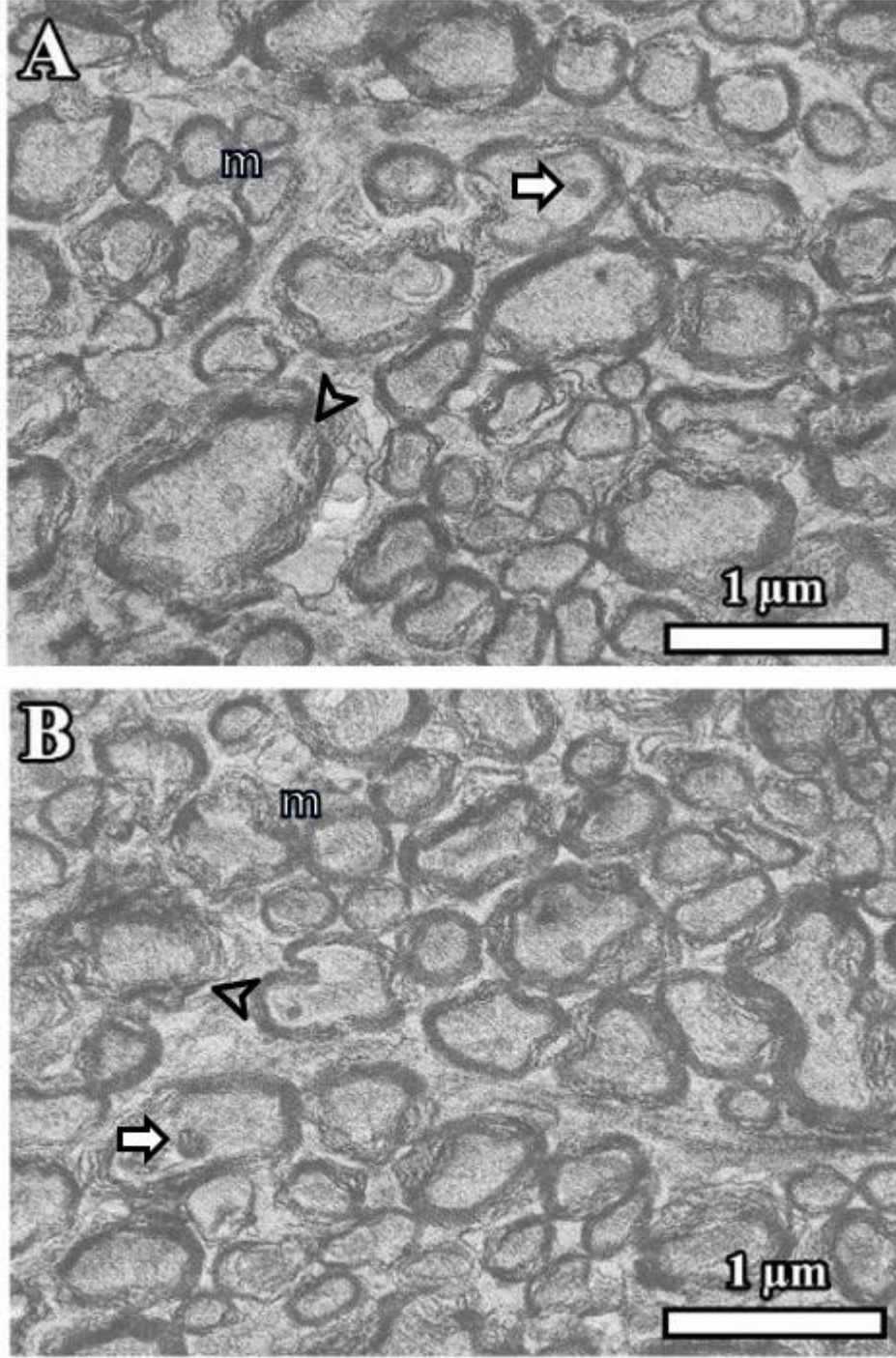
Şekil 30. (A, B) DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Farklı çaplarda (büyük, orta ve küçük) sinir lifleri görülmektedir. Genelde küçük çaplı liflerin etrafındaki miyelin kılıf korunmuşken, diğerlerin korunamadığı, normal yapılarının bozulduğu fark edilmektedir. (B) Merkezi bölgede bir sinir lifinin dejenerasyonu sonucunda o alanda lifsi bir yapı, hemen onun sağ tarafında ise henüz tamamen ortadan kaldırılmamış bir sinir lifi fark edilmektedir. Astrositik septalar lifler arasında ince alanlar olarak görülmektedir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, v: vakuol.



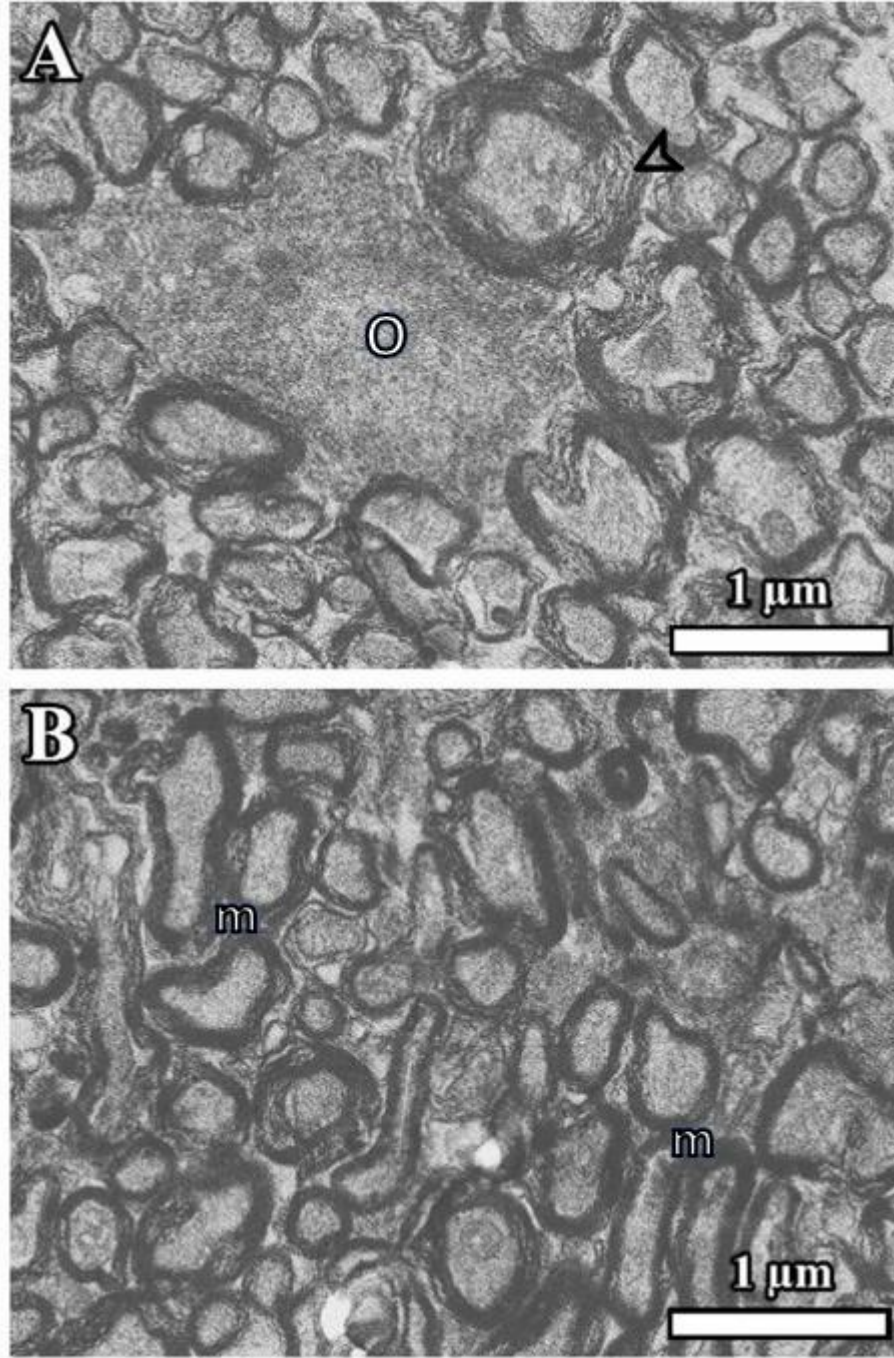
Şekil 31. (A, B) DK1 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. (A) Büyük, orta ve küçük çaplı aksonlar görülmektedir. Genelde küçük çaplı liflerin etrafındaki miyelin kılıf korunmuşken, diğerlerin korunamadığı, normal yapılarının bozulduğu fark edilmektedir. (B) Tüm alandaki sinir liflerinin miyelin kılıflarının ileri derecede bozulduğu gözlenmektedir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.

4.2.5. DK2 Grubu TEM Bulguları

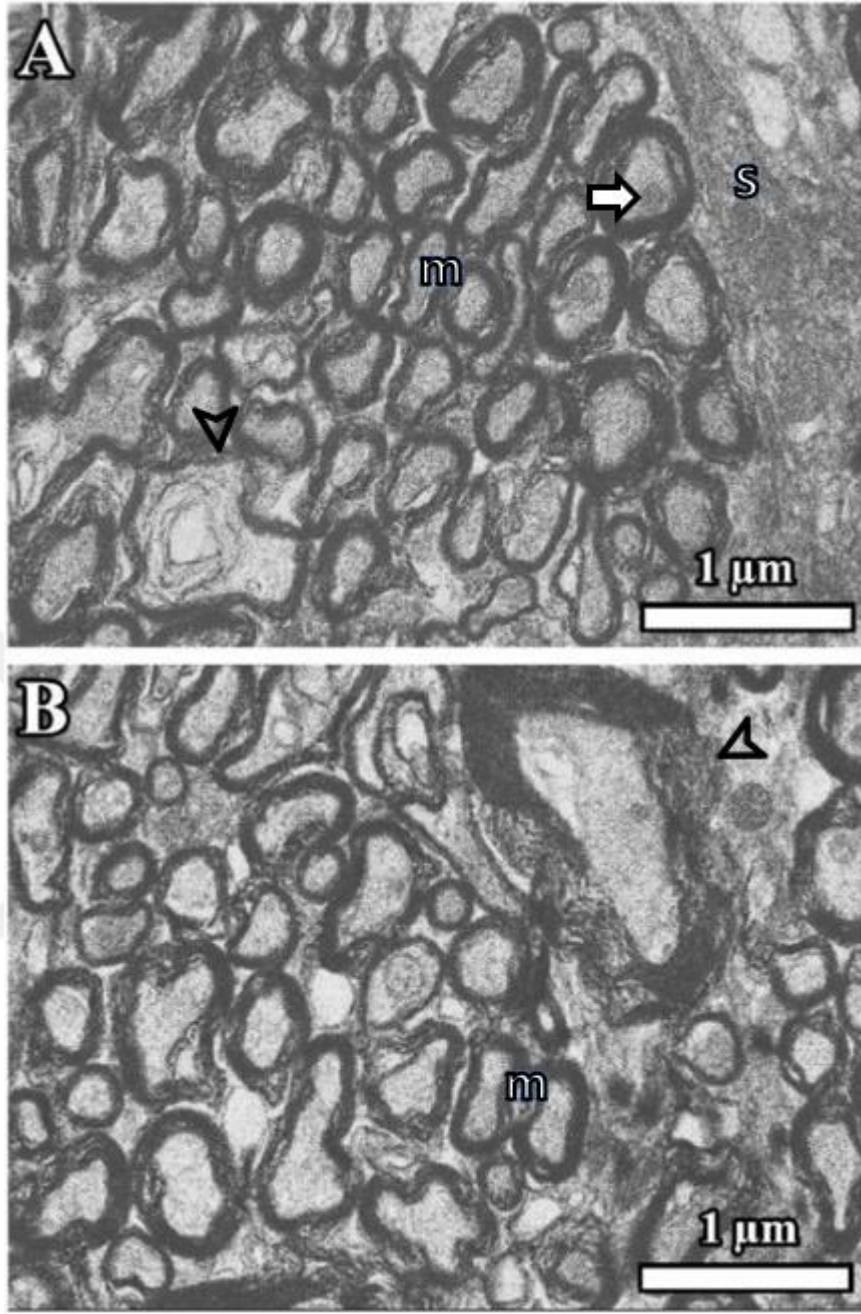
DK2 grubuna ait optik sinirlerin ince yapısı incelendiğinde; büyük, orta ve küçük çapta optik sinir lifleri genelde normal morfolojiye sahipken, bazı küçük çaplı liflerin miyelin kılıflarında bozulmalar gözlemlendi (Şekil 32). Bazı büyük çaplı liflerde yer yer bozulmalar fark edildi (Şekil 33, 34). Ayrıca bazı alanlarda oligodendrositler kolayca görülebilmekteydi (Şekil 33, 36). Astrosite ait sitoplazmik uzantıların sinir liflerinin etrafında ağ oluşturdukları gözlemlendi (Şekil 33, 39). Yoğunluğunu küçük liflerin oluşturduğu bir alanda küçük liflerin iyi korunduğu görülürken, büyük liflerin miyelin kılıflarında yer yer bozulmaların olduğu fark edildi (Şekil 35, 36, 37). Ayrıca sinir liflerinin arasında diyabetin oluşturduğu hasardan kaynaklı olduğu düşünülen vakuollerin yaygın bir biçimde olması dikkat çekiciydi (Şekil 37). Bazı alanlarda ise yoğunluğu küçük sinir liflerinden olduğu ve bu liflerin normal yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 38). Farklı çaplarda liflerin olduğu yerlerde özellikle büyük çapa sahip liflerin miyelin kılıflarında bozulmalar çok şiddetliydi (Şekil 39). Miyelin kılıf bozulmalarına, aksosomayı ayıran şişmiş vakuoller eşlik etmekteydi (Şekil 40).



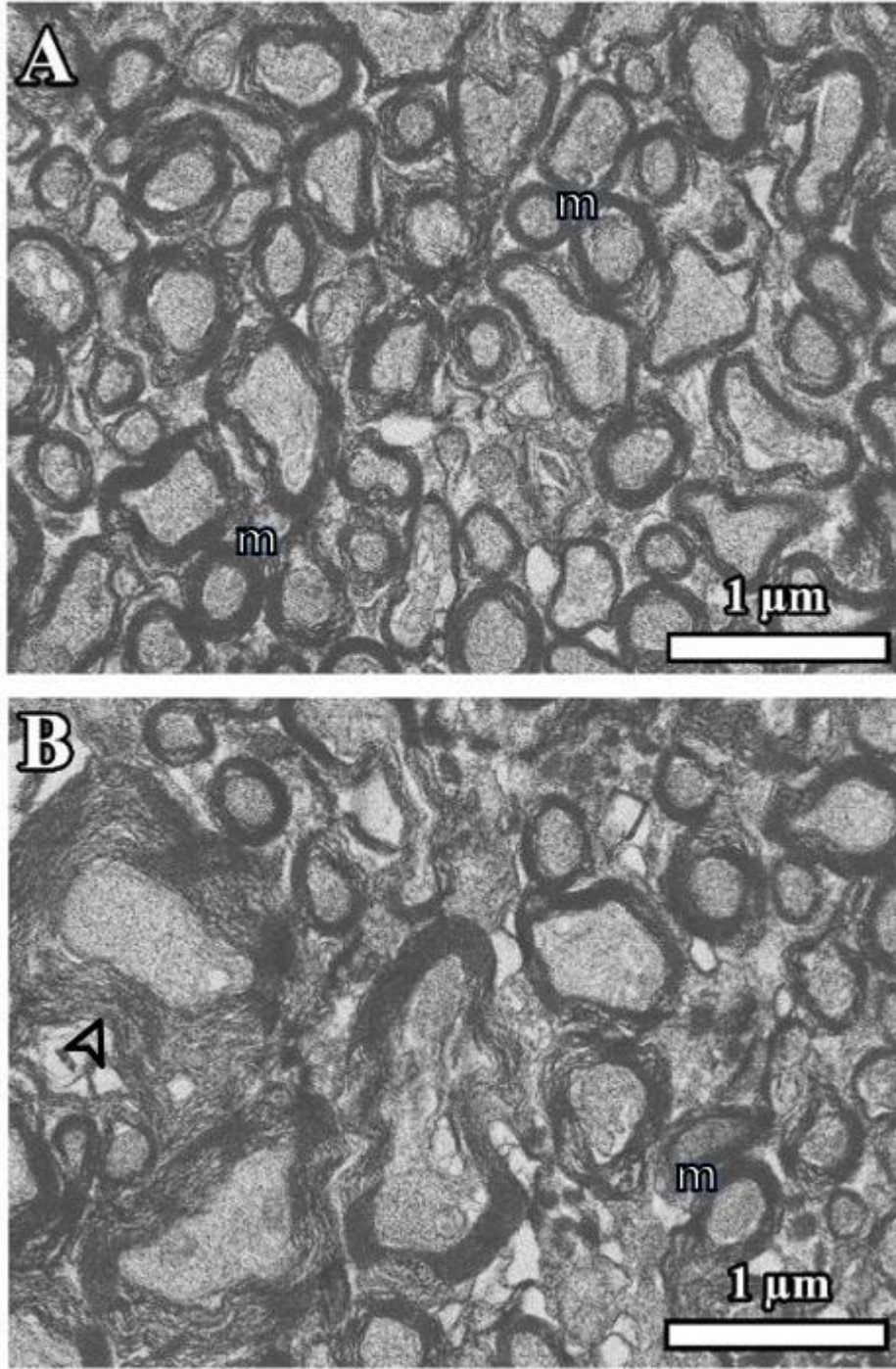
Şekil 32. (A, B) DK2 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Kesitlerde büyük, orta ve küçük çaplı aksonlar fark edilmektedirler. Genelde küçük çaplı liflerin etrafındaki miyelin kılıf korunmuşken, özellikle büyük çaplı olanlarda korunamadığı, normal yapılarının bozulduğu gözlemlendi. Bazı aksoplazmalarda mitokondrionlar bulunmaktadır. m: miyelin kılıf, ok işareti: mitokondriyon, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



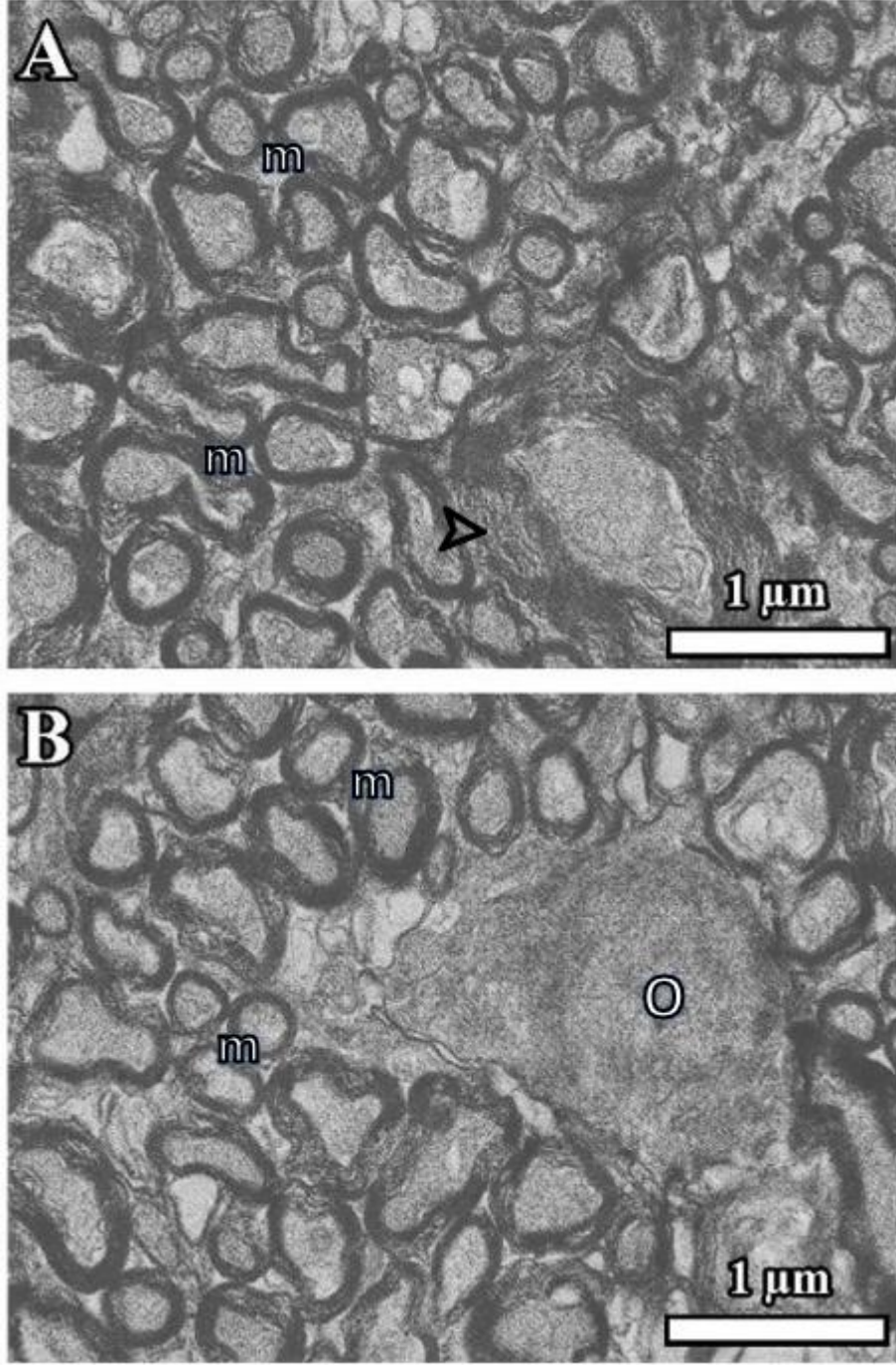
Şekil 33. (A, B) DK2 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Kesitlerde farklı çaplarda aksonlar gözlenmektedir. Liflerin çoğunun iyi korunduğu, bazı büyük çaplı akson etrafındaki miyelin kılıfta yer yer bozulmaların varlığı dikkat çekmektedir. (A) Merkezi yerleşimli bir oligodendroglia görülmektedir. (B) Optik sinir liflerinin morfolojilerinin normal yapıda olduğu görülmektedir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, O: oligodendrosit çekirdeği.



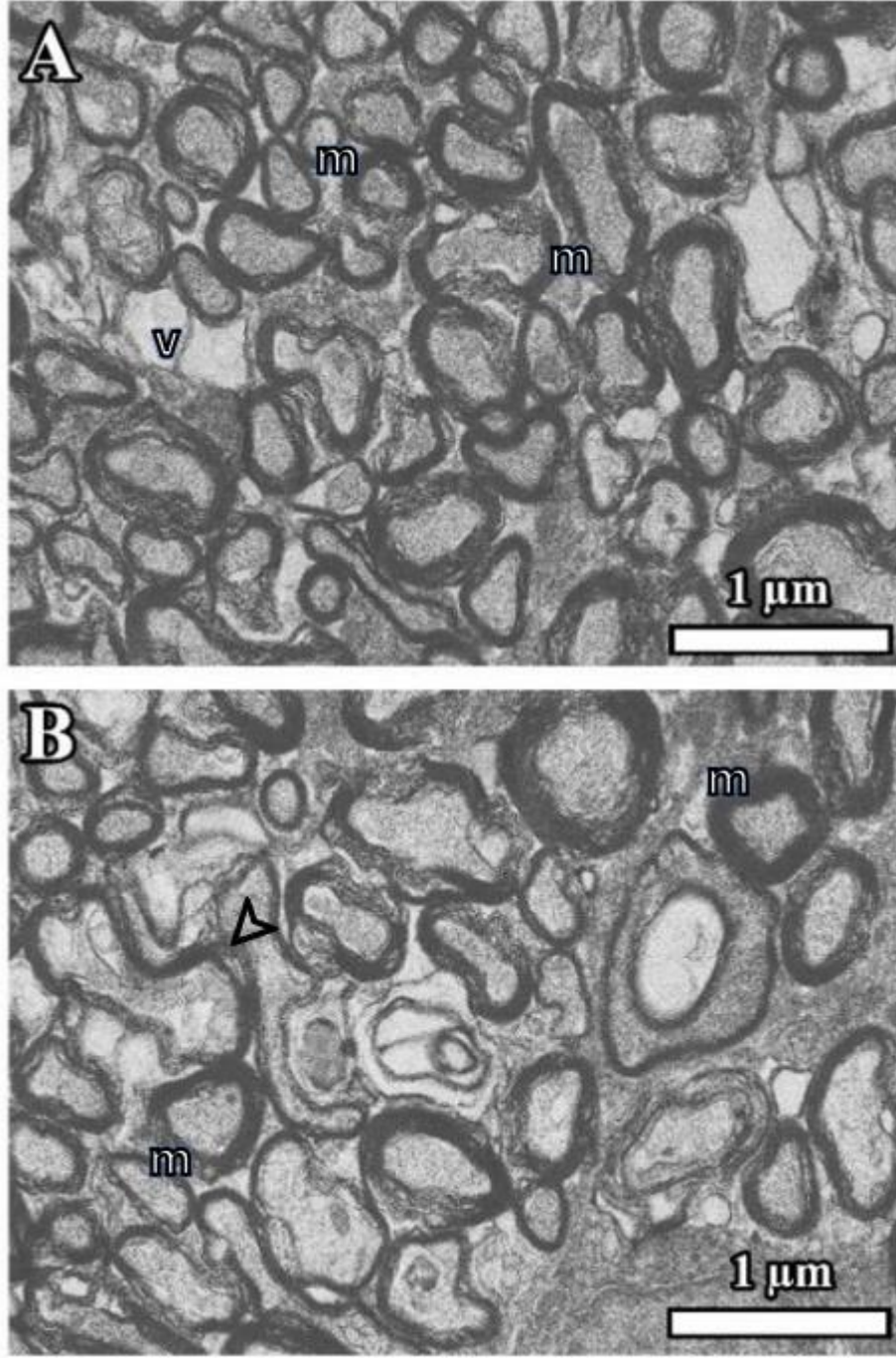
Şekil 34. (A, B) DK2 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Kesitlerde farklı çaplarda aksonlar gözlenmektedir. Liflerin çoğunun iyi korunduğu, buna karşın bazı büyük çaplı aksonların etrafındaki miyelin kılıfta yer yer bozulmaların varlığı dikkat çekmektedir. (A) Astrosit sitoplazmik uzantı görülmektedir. (B) Çoğu sinir liflerinin normal morfolojiye sahip olduğu, büyük çaplı bir sinir lifini çevreleyen miyelin kılıfta yer yer dejenerasyon gözlemlendi. m: miyelin kılıf, ok işareti: mitokondriyon, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, s: astrositik septa.



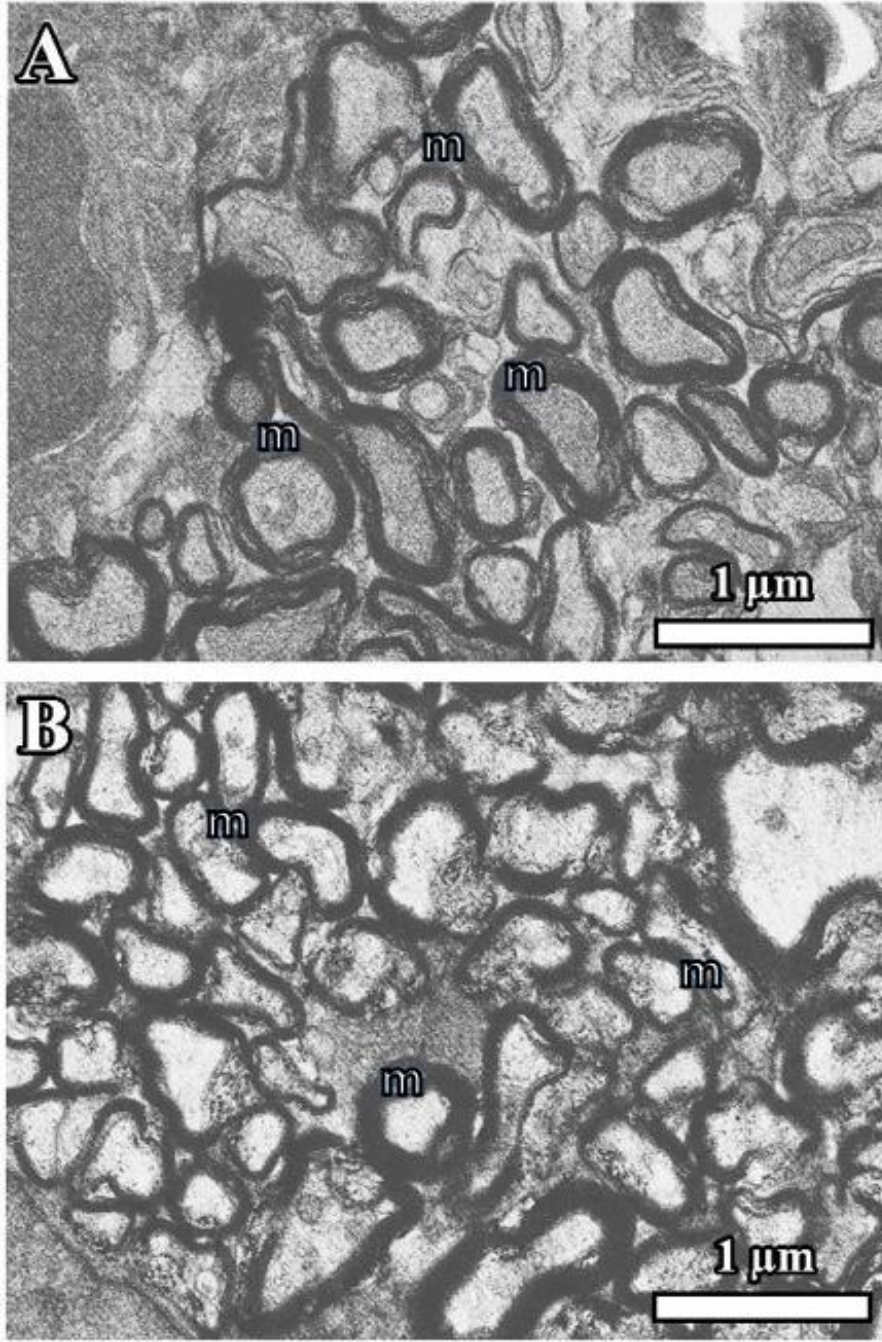
Şekil 35. (A, B) DK2 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Çoğunluğunu küçük çaplı liflerin oluşturduğu sinir kesitinde bu liflerin normal yapılarının iyi korunduğu gözlemlenmiştir. (B) Çoğu küçük çaplı sinir lifleri normal morfolojiye sahipken büyük çaplı bir sinir lifini çevreleyen miyelin kılıfında yer yer dejenerasyonun varlığı gözlemlenmiştir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



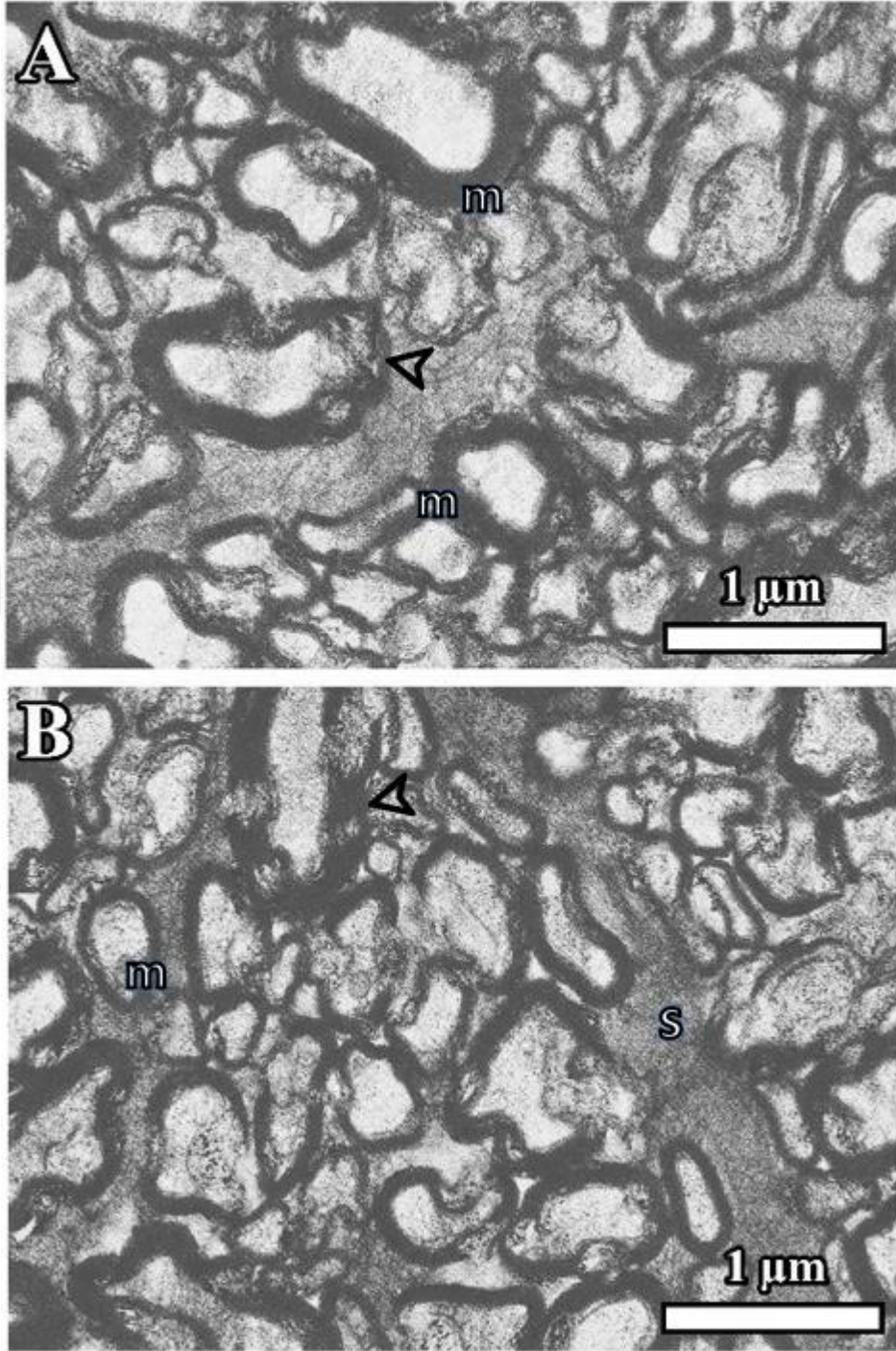
Şekil 36. (A, B) DK2 grubuna ait optik sinirden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Çoğunluğunu küçük çaplı liflerin oluşturduğu sinir kesitinde bu liflerin normal yapılarının iyi korunduğu buna karşın büyük çaplı liflerde bu durum olmadığı gözlemlendi. (B) Merkezi yerleşimli bir oligodendroglia bulunmaktadır. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, O: oligodendrosit çekirdeği.



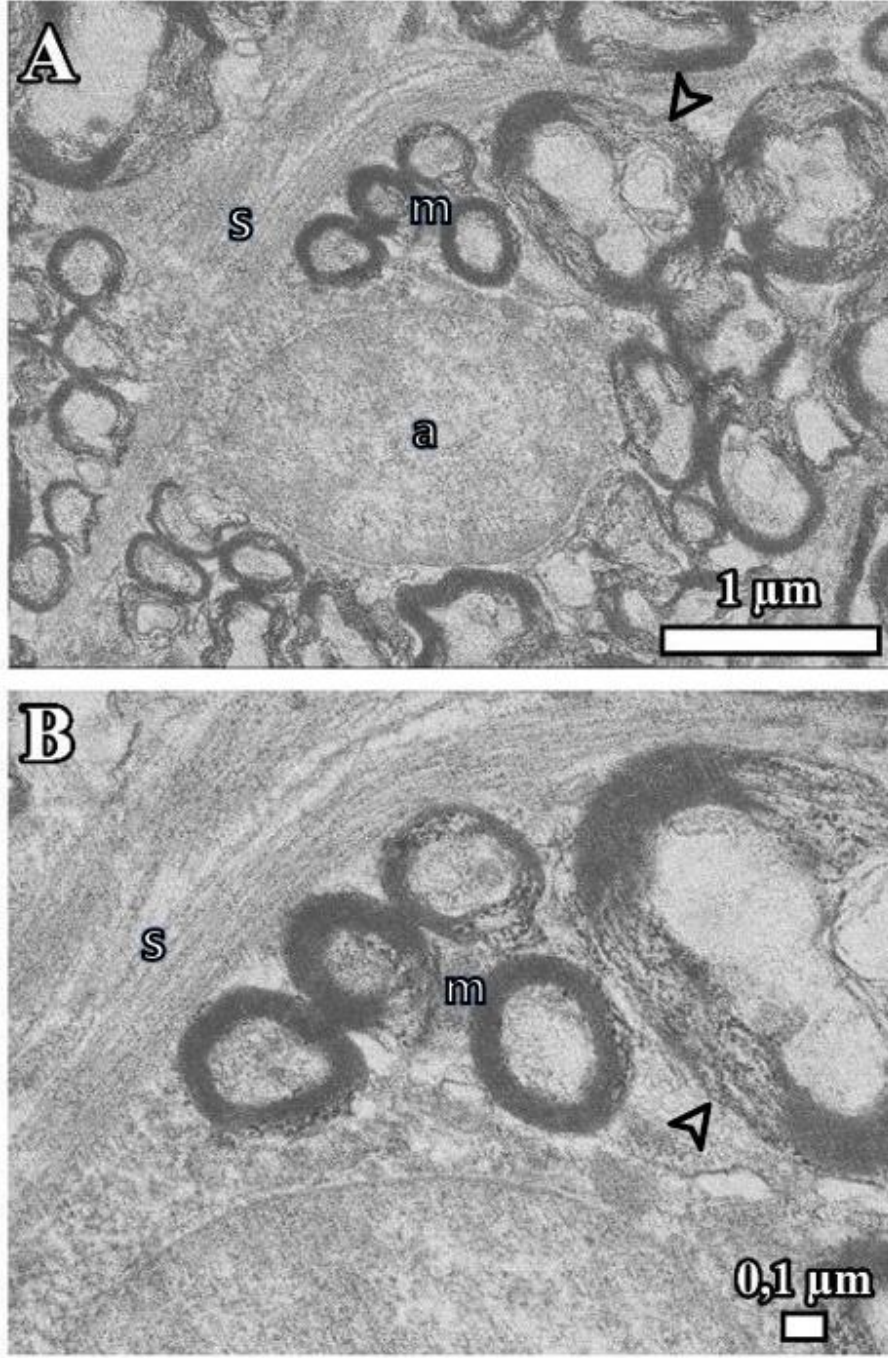
Şekil 37. (A, B) DK2 grubuna ait optik sinirden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Çoğunluğunu küçük çaplı liflerin oluşturduğu sinir kesitinde, bu liflerin normal yapılarının iyi korunduğu, buna karşın büyük çaplı liflerde bu durum olmadığı gözlemlendi. Lifler arasında görülen vakuollerin, sinir liflerinin dejenerasyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, v: vakuol.



Şekil 38. (A, B) DK2 grubuna ait optik sinirden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Çoğunluğunu küçük çaplı liflerin oluşturduğu sinir kesitinde, bu liflerin normal yapılarının iyi korunduğu gözlemlendi. m: miyelin kılıf.



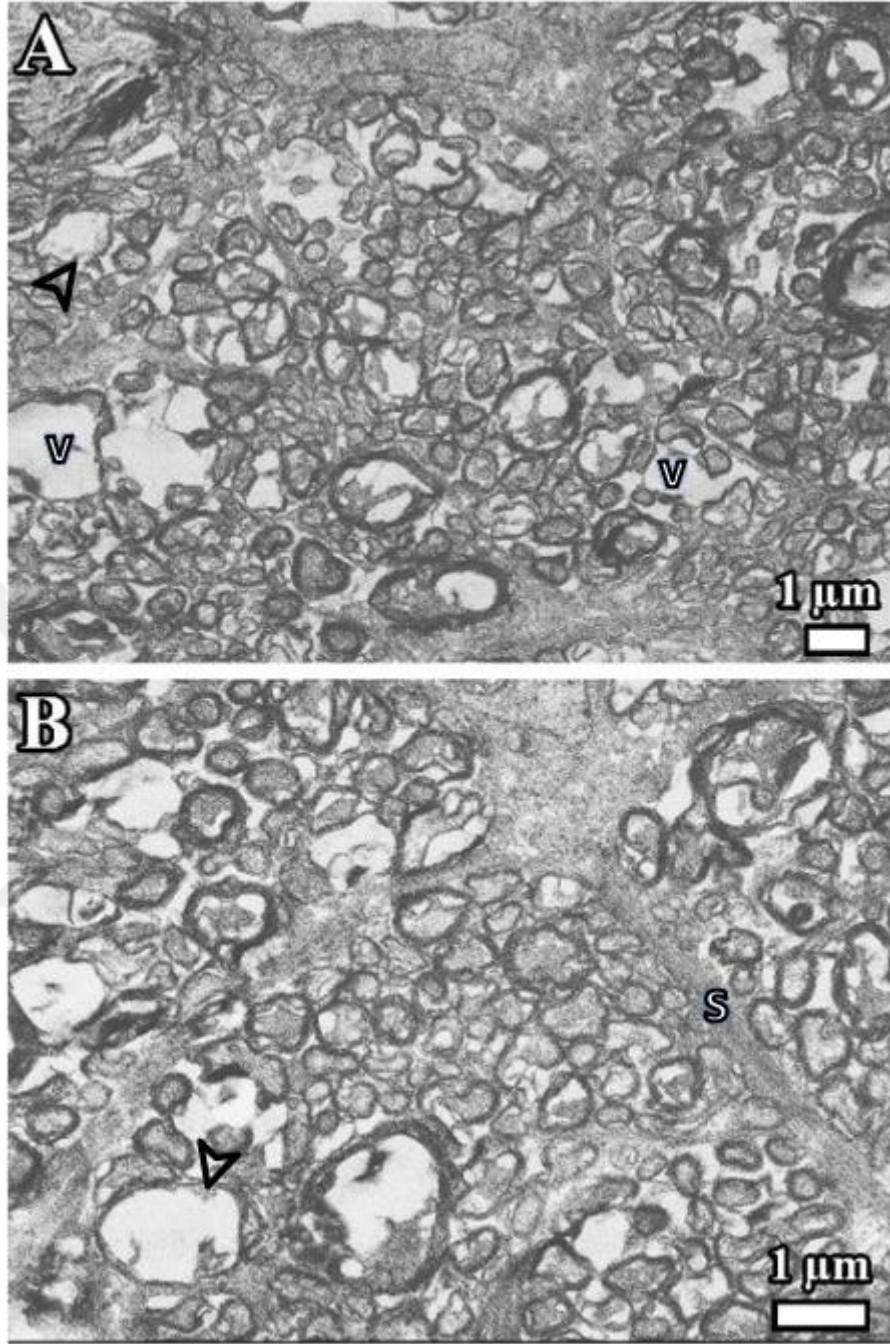
Şekil 39. (A, B) DK2 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Kesitlerde farklı çaplarda aksonlar gözlenmektedir. Liflerin çoğunun iyi korunduğu, buna karşın bazı büyük çaplı aksonların etrafındaki miyelin kılıfta yer yer bozulmaların varlığı dikkat çekmektedir. Sinir lifleri arasında astrosit sitoplazmik uzantıları görülmektedir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, s: astrositik septa.



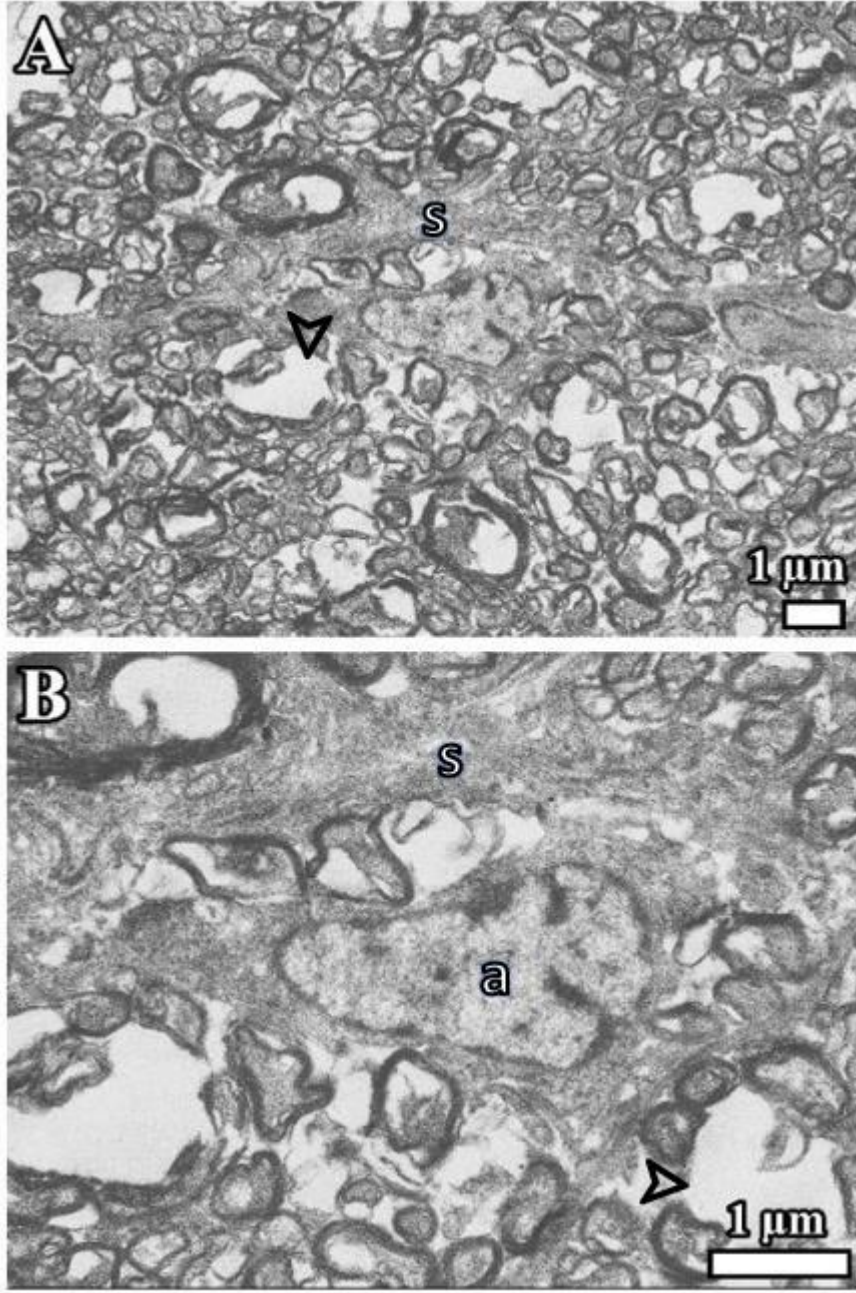
Şekil 40. (A, B) DK2 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Kesitlerde farklı çaplarda aksonlar gözlenmektedir. Liflerin çoğunun iyi korunmasına karşın bazı büyük çaplı aksonların etrafındaki miyelin kılıfta önemli derecede bozulmaların varlığı dikkat çekmektedir. Astrosit ve astrosite ait ara filamentler görülmektedir. Orta ve hafif derecede miyelin kılıf hasarı ve miyelin kılıf ve aksolemmayı ayıran şişmiş vakuoller görülmektedir. m: miyelin kılıf, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, s: astrositik septa, a: astrosit çekirdeği.

4.2.6. DK3 Grubu TEM Bulguları

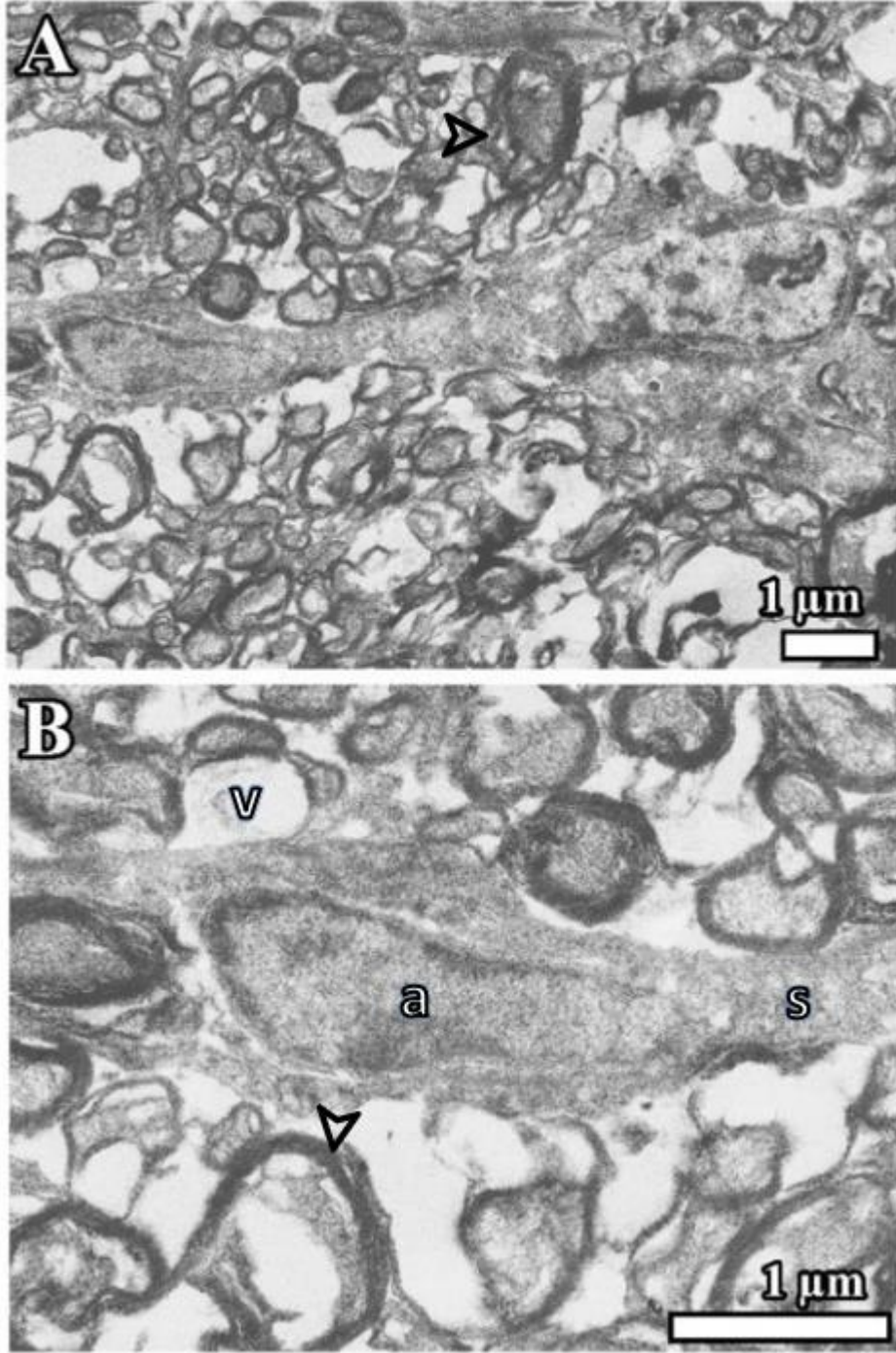
DK3 grubuna ait optik sinirlerin ince yapısı incelendiğinde; farklı çaplara sahip sinir liflerinin dejenere olduğu görülmektedir. Şişmiş ve içi boşalmış aksonlar, vakuoller, aksondan ayrılmış miyelin kılıflar, içe katlanmış miyelin kılıflar yoğun olarak gözlemlendi. Çoğu normal yapısını koruyamamış sinir lifleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar fark edildi (Şekil 41). Önemli derecede bozulmuş sinir lifleri ve hasara bağlı dokuda kayıplar gözlemlendi. Kayıp liflerin yerini vakuollerin alması da dikkat çekmekteydi. Astrosit ve uzantıları da bozulmuş dokunun arasında yer almaktaydı (Şekil 42). Ağır hasara uğramış optik sinir aksonları ve miyelin kılıfları, şişmiş vakuolleri, astrositler ile sitoplazmik uzantıları yaygın olarak görülmekteydi (Şekil 43). Bu grupta da büyük çaplı liflerin daha çok dejenere olduğu gözlemlendi (Şekil 44, 45, 47). Bazı alanlarda büyük çaplı sinir liflerinde akson büzülerek merkeze toplanmasına karşın miyelin kılıfının sağlam kalması dikkat çekiciydi (Şekil 46, 47). Astrosit septalarının kısmen korunduğu ve normal morfolojide olduğu alanları da görmek mümkündür (Şekil 48, 49).



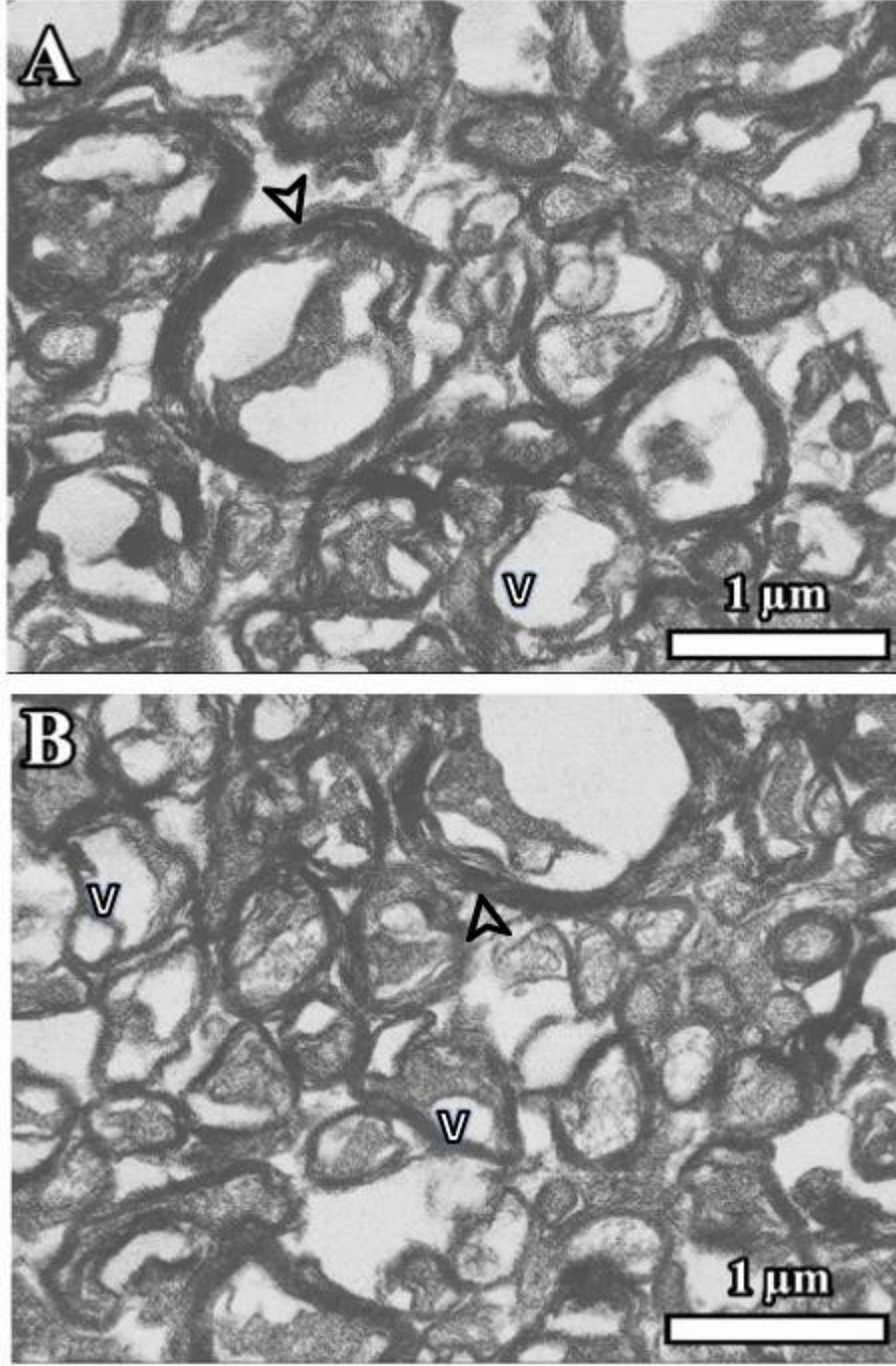
Şekil 41. (A, B) DK3 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Büyük, orta ve küçük çaplı aksonların dejenere olduğu görülmektedir. Şişmiş ve içi boşalmış aksonlar, vakuoller, aksondan ayrılmış miyelin kılıflar, içe katlanmış miyelin kılıflar görülmektedir. Çoğu normal yapısını koruyamamış sinir lifleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantıları fark edilmektedir. ok başı: şişmiş içi boşalmış akson, s: astrositik septa, v: vakuol.



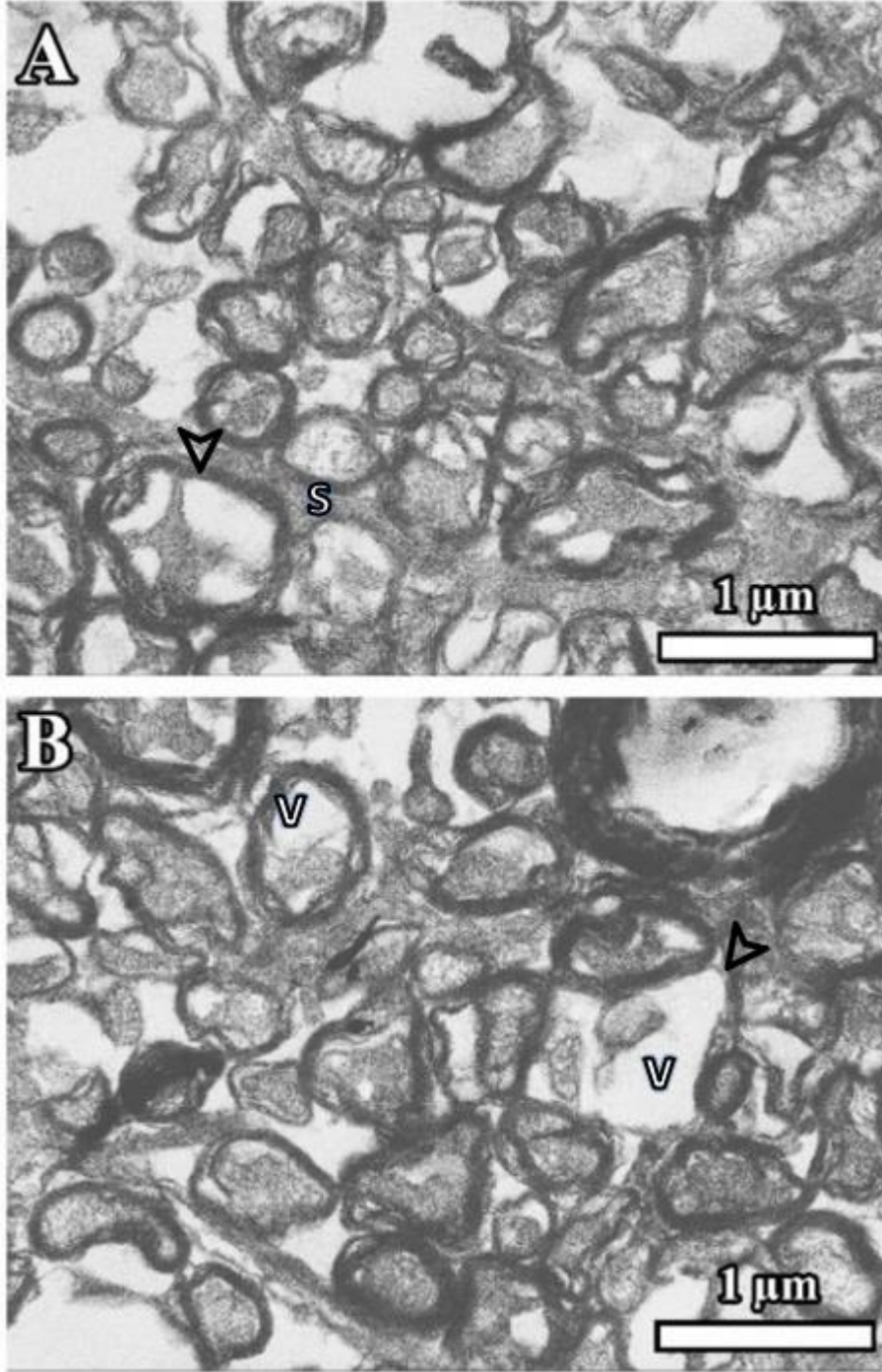
Şekil 42. (A, B) DK3 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Optik sinir kesitine bakıldığında lif yapısının önemli derecede bozulduğu, doku bütünlüğünün tamamen kaybolduğu fark edilmektedir. Merkezi yerleşimli astrosit ve ondan çıkan sitoplazmik uzantıların oluşturduğu septalar gözlenmektedir. Çoğu alanda kayıp olan liflerin yerinde geniş çaplı vakuoller bulunmaktadır. Çoğu sinir lifinin normal yapısını koruyamadığı gözlemlendi. ok başı: şişmiş içi boşalmış akson, s: astrositik septa, a: astrosit çekirdeği.



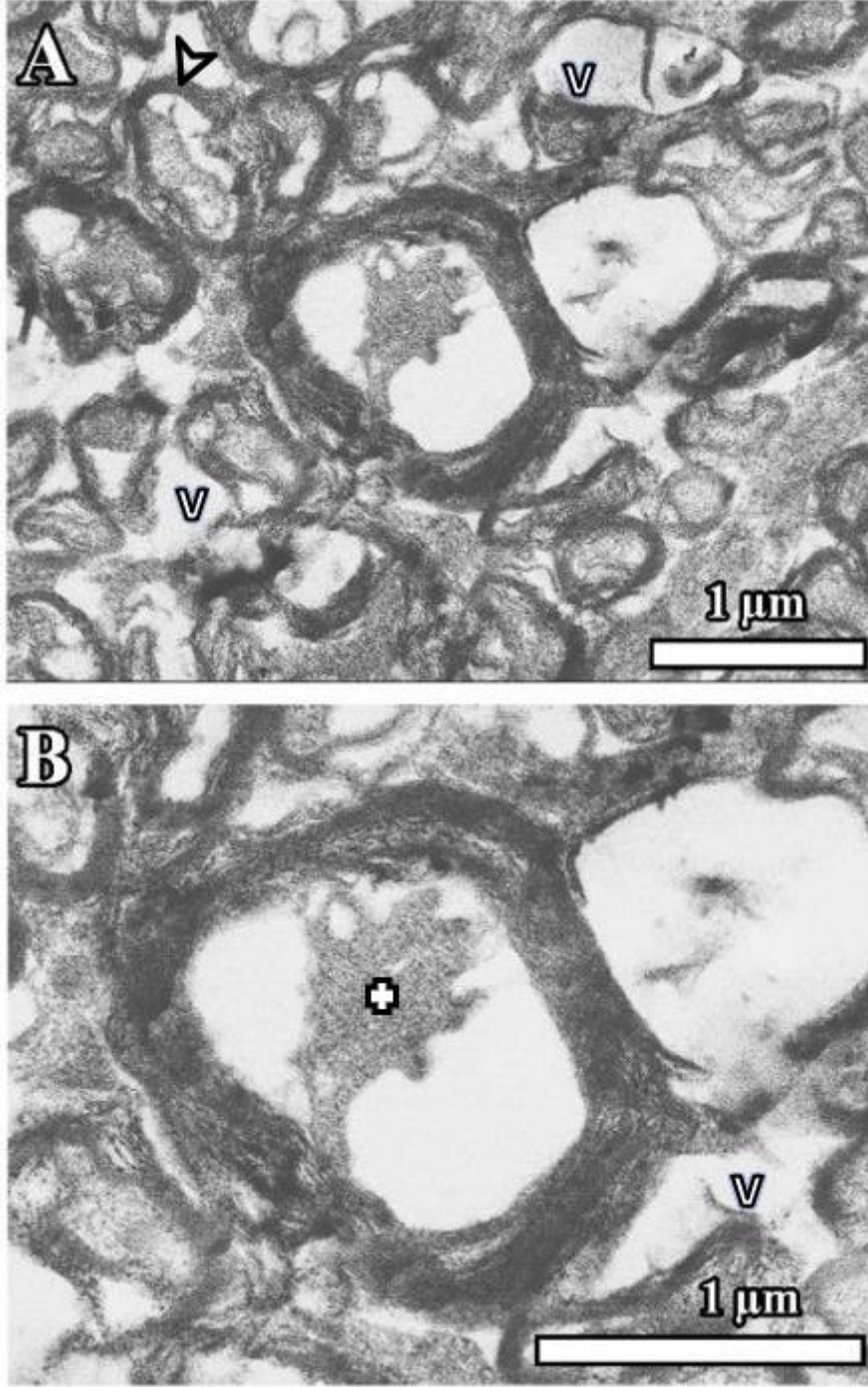
Şekil 43. (A, B) DK3 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Şiddetli bir biçimde hasara uğramış optik sinir aksonları ve miyelin kılıfları, şişmiş vakuolleri, astrositler ile astrosit uzantısını görmekteyiz. v: vakuol, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, s: astrositik septa, a: astrosit çekirdeği.



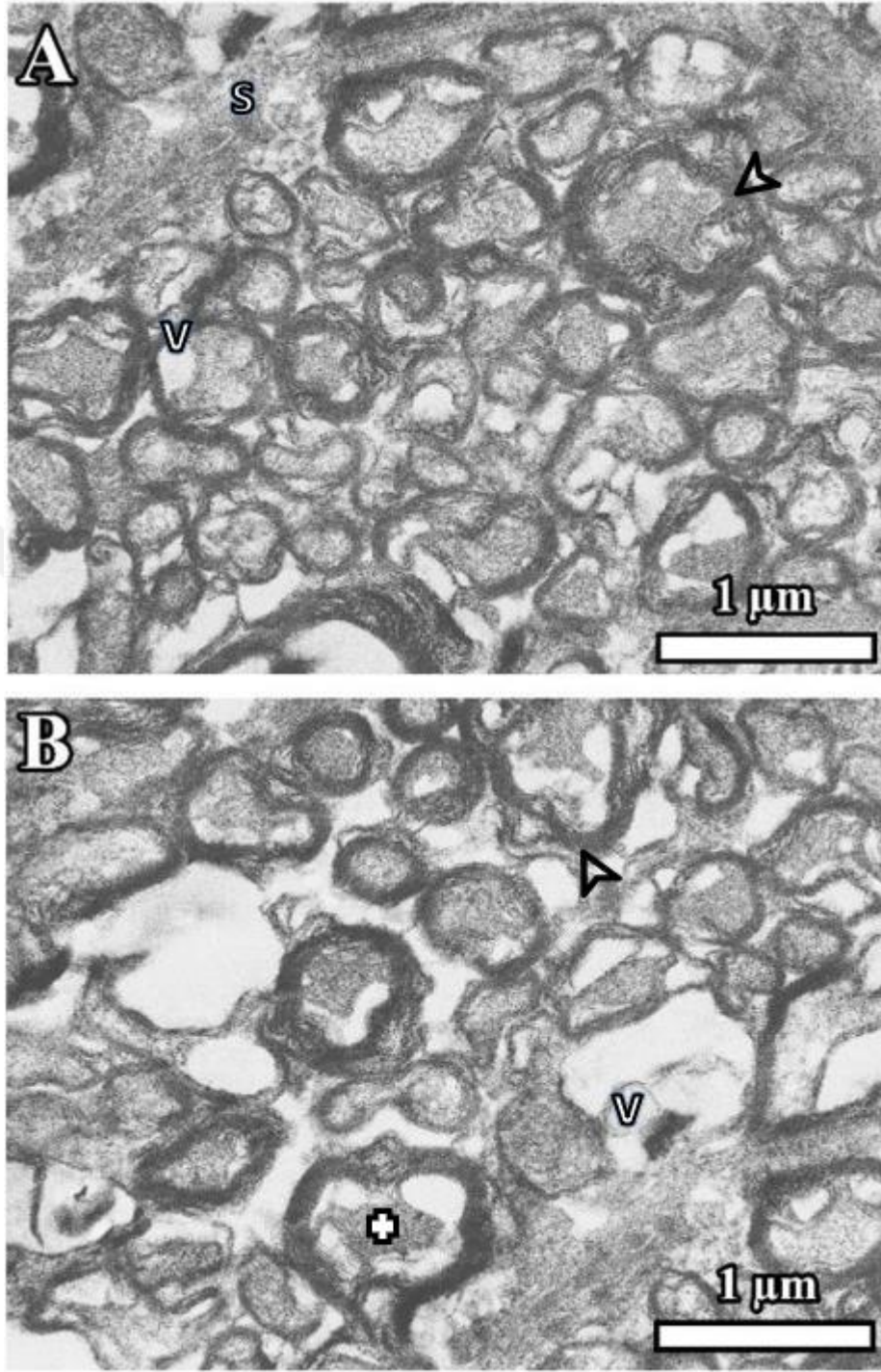
Şekil 44. (A, B) DK3 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Sinirdeki çoğu liflerin normal yapılarının bozulduğu, lifler arasında çok sayıda vakuollerin olduğu gözlemlendi. Büyük çaplı sinir liflerinde dejenerasyonun daha şiddetli olduğu fark edildi. v: vakuol, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



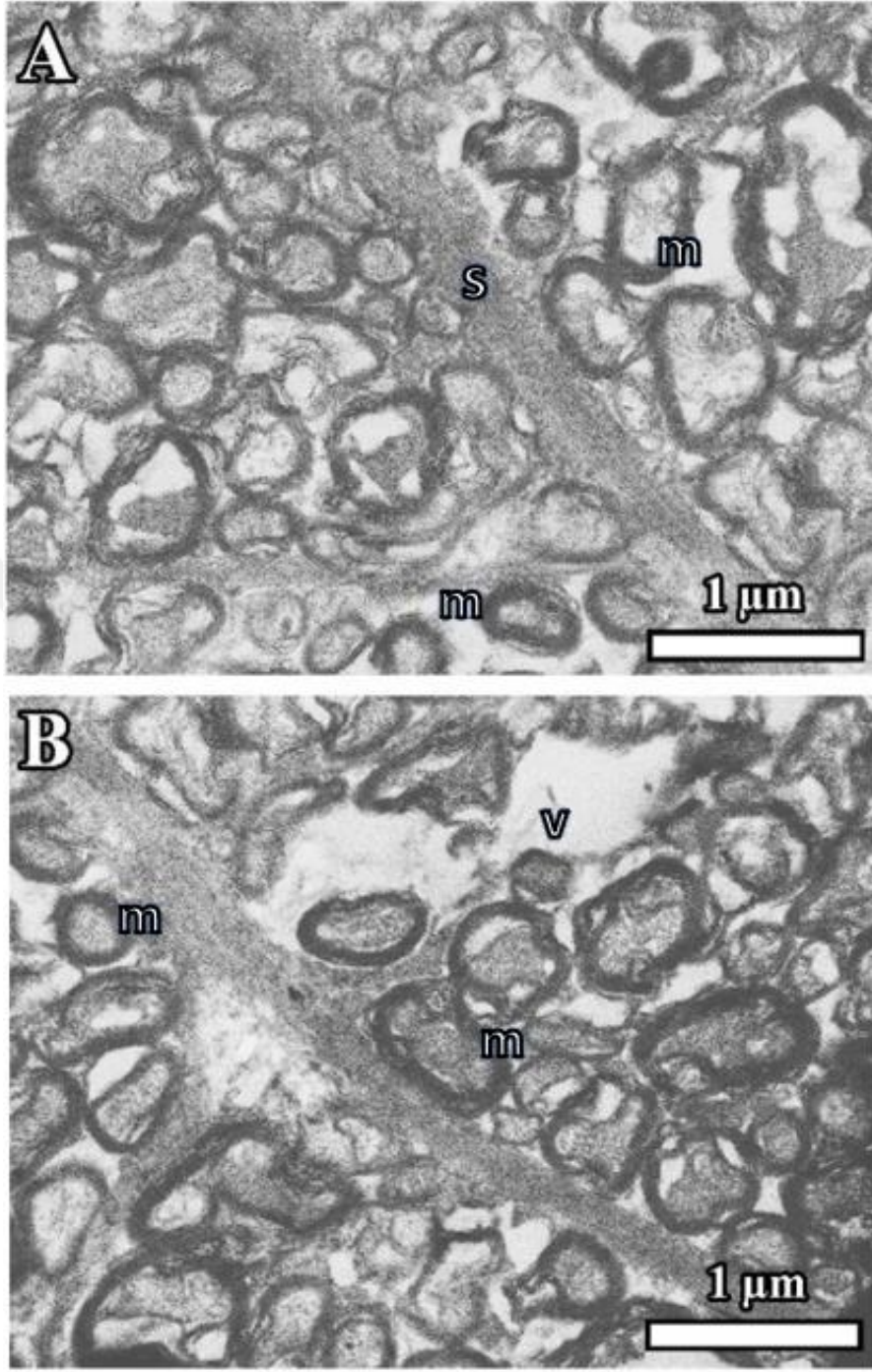
Şekil 45. (A, B) DK3 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Sinirdeki çoğu liflerin normal yapılarının bozulduğu, lifler arasında çok sayıda vakuollerin oluştuğu gözlemlendi. Büyük çaplı sinir liflerinde dejenerasyonun daha şiddetli olduğu fark edildi. Yer yer ince astrositik septalar gözlemlendi. . v: vakuol, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, s: astrositik septa.



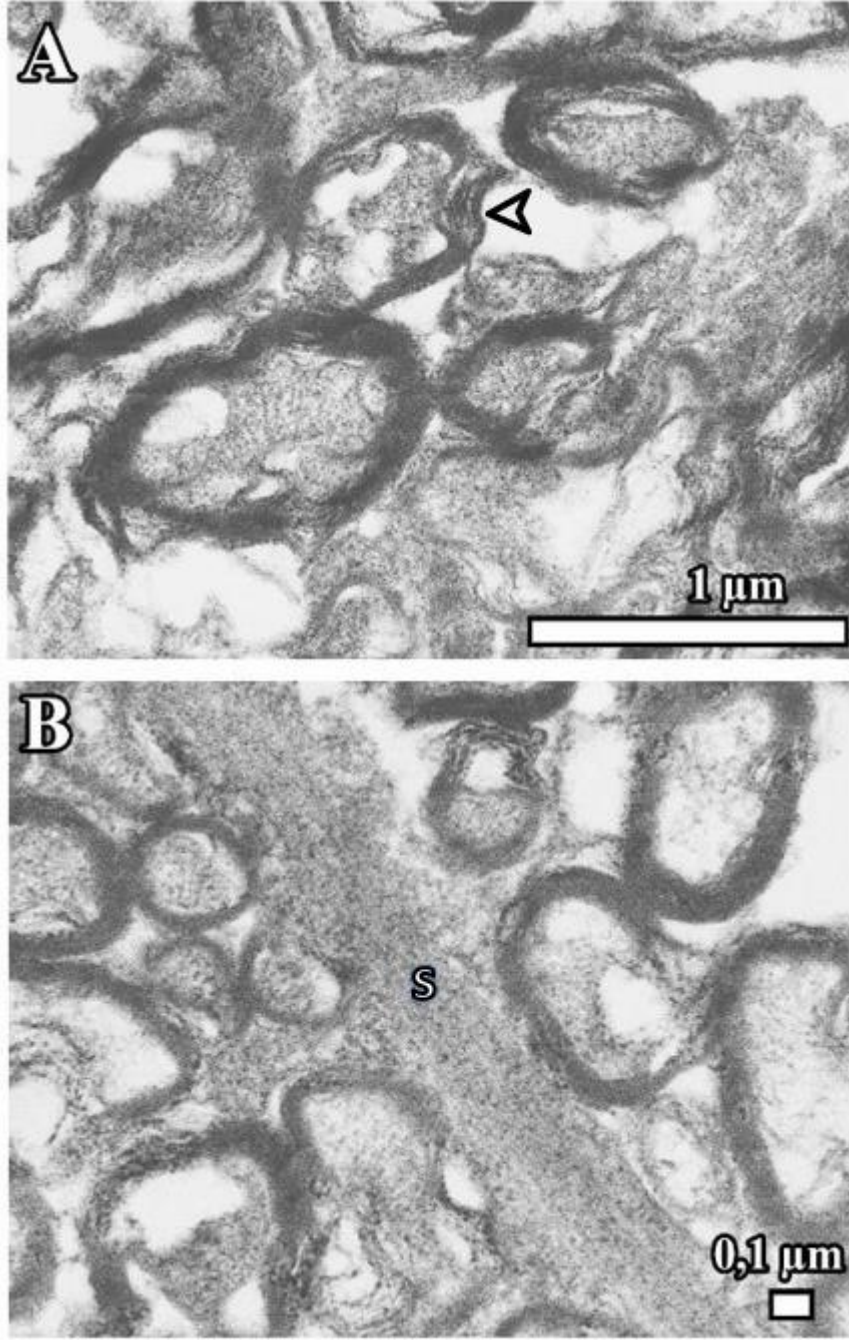
Şekil 46. (A, B) DK3 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Sinirdeki çoğu liflerin normal yapılarının bozulduğu, lifler arasında çok sayıda vakuollerin olduğu gözlemlendi. Büyük çaplı bir sinir lifinde aksonun büzülerek merkeze toplanması, buna karşın miyelin kılıfının sağlam kalması dikkat çekmektedir. v: vakuol, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, artı işareti: aksonun içe çekilmesi.



Şekil 47. (A, B) DK3 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Sinirdeki çoğu liflerin normal yapılarının bozulduğu, lifler arasında çok sayıda vakuollerin oluştuğu, ayrıca lifin aksoplazmasının büzüşerek merkezde toplandığı gözlemlendi. Lifler arasında ince de olsa astrositik septanın varlığı dikkat çekmektedir. v: vakuol, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, artı işareti: aksonun içe çekilmesi, s: astrositik septa.



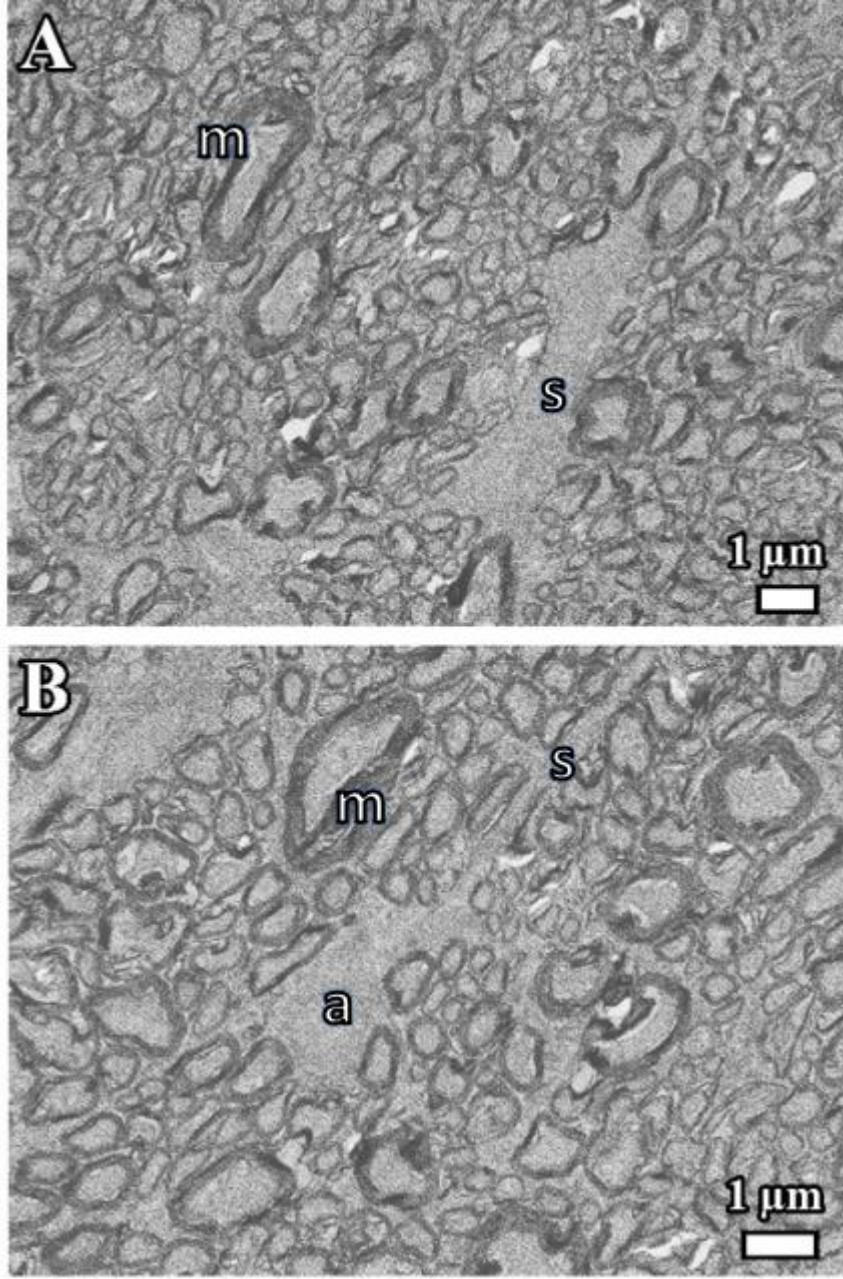
Şekil 48. (A, B) DK3 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Bu görüntülerin alındığı alanda çoğu sinir liflerinin normal yapılarını kısmen koruduğu, lifler arasında daha az sayıda vakuollerin oluştuğu gözlemlendi. Lifler arasında astrosit septalarının kısmen normal morfolojiye sahip oldukları fark edildi. v: vakuol, m: miyelin kılıf, s: astrositik septa.



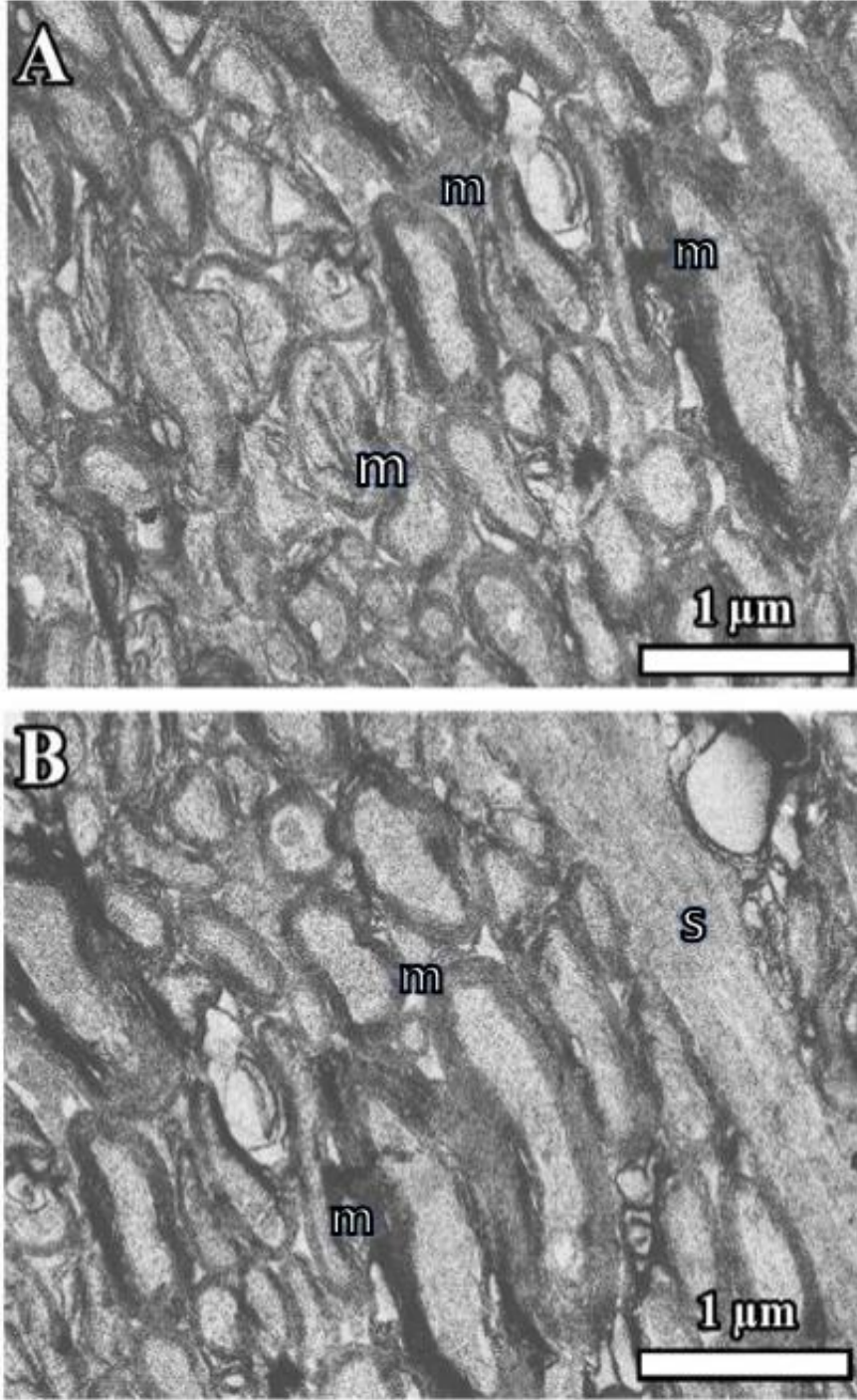
Şekil 49. (A, B) DK3 grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Çok şiddetli derecede optik sinir liflerinin ve etrafındaki miyelin kılıfının bozulduğu gözlenmektedir. (B) Lifler arasında astrositik septanın kalınlığı ve filamentöz yapısı dikkat çekmektedir. ok başı: bozulmuş miyelin kılıf, s: astrositik septa.

4.2.7. Cur Grubu TEM Bulguları

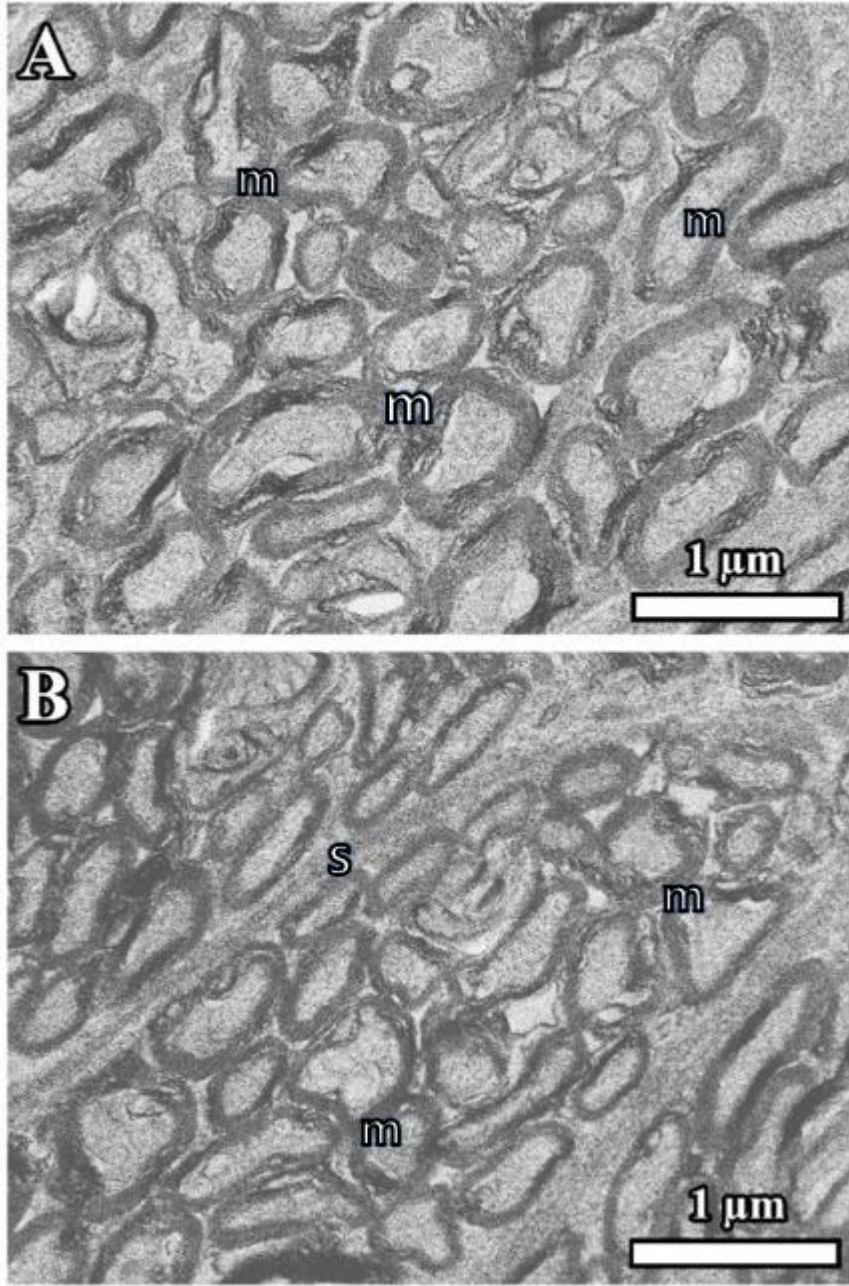
Cur grubuna ait optik sinirlerin ince yapısı incelendiğinde; sinirde farklı çaplarda aksonlar ve çeşitli kalınlıkta miyelin kılıflar görülmekle birlikte çok sayıda küçük çaplı akson olmasına karşın çok az sayıda büyük çaplı sinir lifinin varlığı dikkat çekmekteydi. Astrosit ve uzantıları, sinir lifleri arasında yer almaktaydı. Boş alanların kesit alırken dökülen dokulardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Şekil 50). Miyelin kılıflar ve aksonlar normal morfolojideydi (Şekil 51). Normal yapıdaki ince astrositik septalar, sıkı ve düzgün paketlenmiş organize miyelin kılıflar ve sağlıklı lifler bulunmaktaydı (Şekil 52). Bu gruba ait optik sinir kesitlerinde çoğunlukla normal morfolojide olan sinir liflerinin etrafında iyi korunmuş miyelin kılıfı, astrosite ait çekirdek ve astrositik septalar görülmekteydi (Şekil 53, 54). Bazı liflerde ise büzüşme belirgindi (Şekil 55, 56). Periferik sinire ait olduğu düşünülen bir sinir lifi demetinin etrafı düzenli sıkıbağ dokusu ile çevriliydi. Bu dokuda küçük çaplı miyelinli sinir liflerinin yanında çok sayıda miyelinsiz sinir lifi demetlerinin olduğu gözlemlendi (Şekil 57). Miyelinli sinir lifinin etrafındaki Schwann hücresi ve çekirdeği nispeten büyük çaplıydı (Şekil 58). Ayrıca Schwann hücrelerinin sitoplazmik ceplerinde çok sayıda miyelinsiz sinir liflerinin varlığı gözlemlendi (Şekil 59).



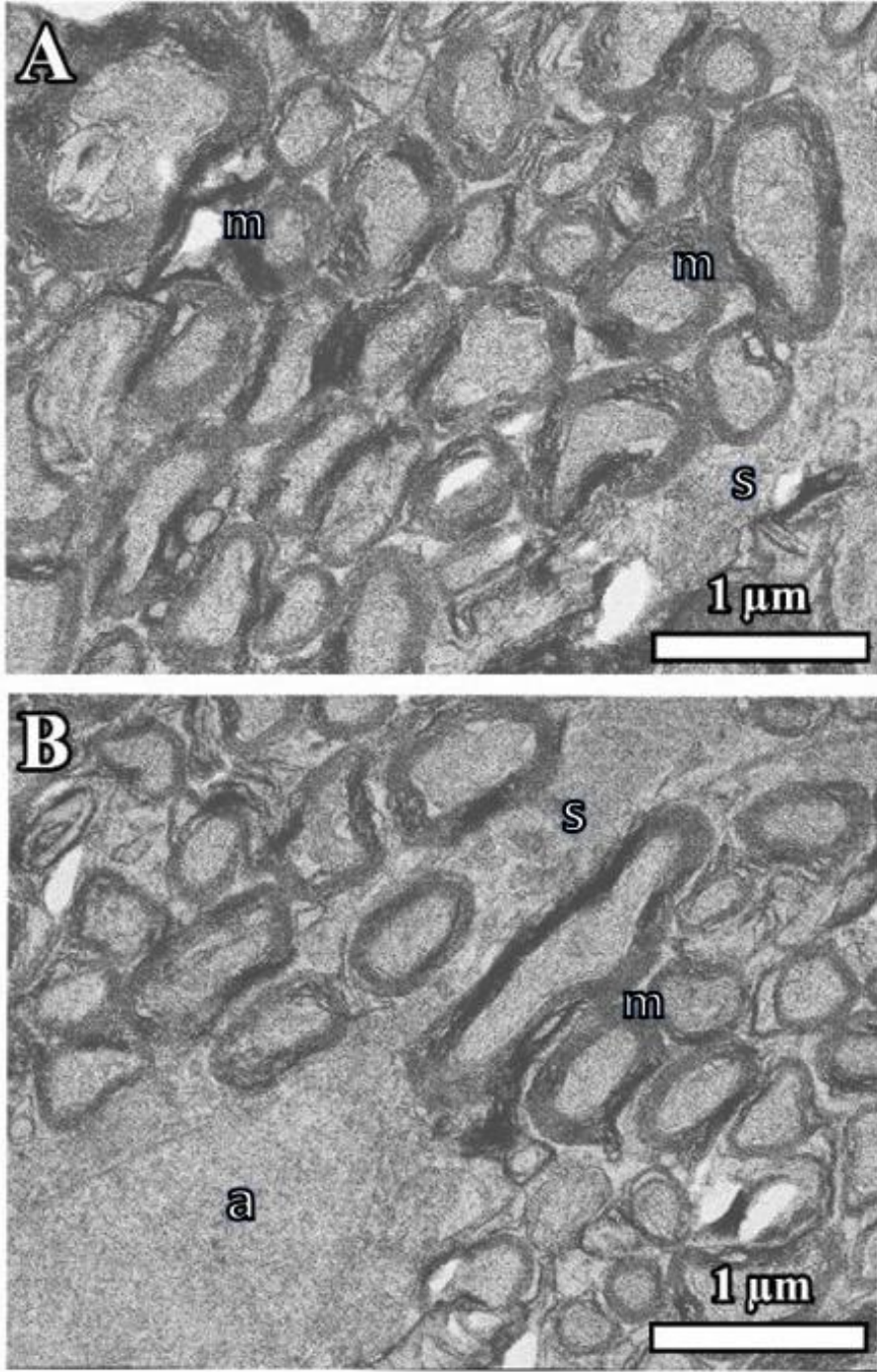
Şekil 50. (A, B) Cur grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Farklı çaplarda aksonlar ve onların etrafını çevreleyen çeşitli kalınlıkta miyelin kılıflar görülmektedir. Çok sayıda küçük çaplı akson gözlenirken az sayıda büyük çaplı sinir lifinin varlığı dikkat çekmektedir. Astrosit ve ondan çıkan uzantılar lifler arasında görülmektedir. Doku kesitinde görülen açık alanların kesit esnasında dokudan dökülen parçaların bulunduğu yerler olarak düşünülmektedir. a: astrosit, m: miyelin kılıf, s: astrositik septa.



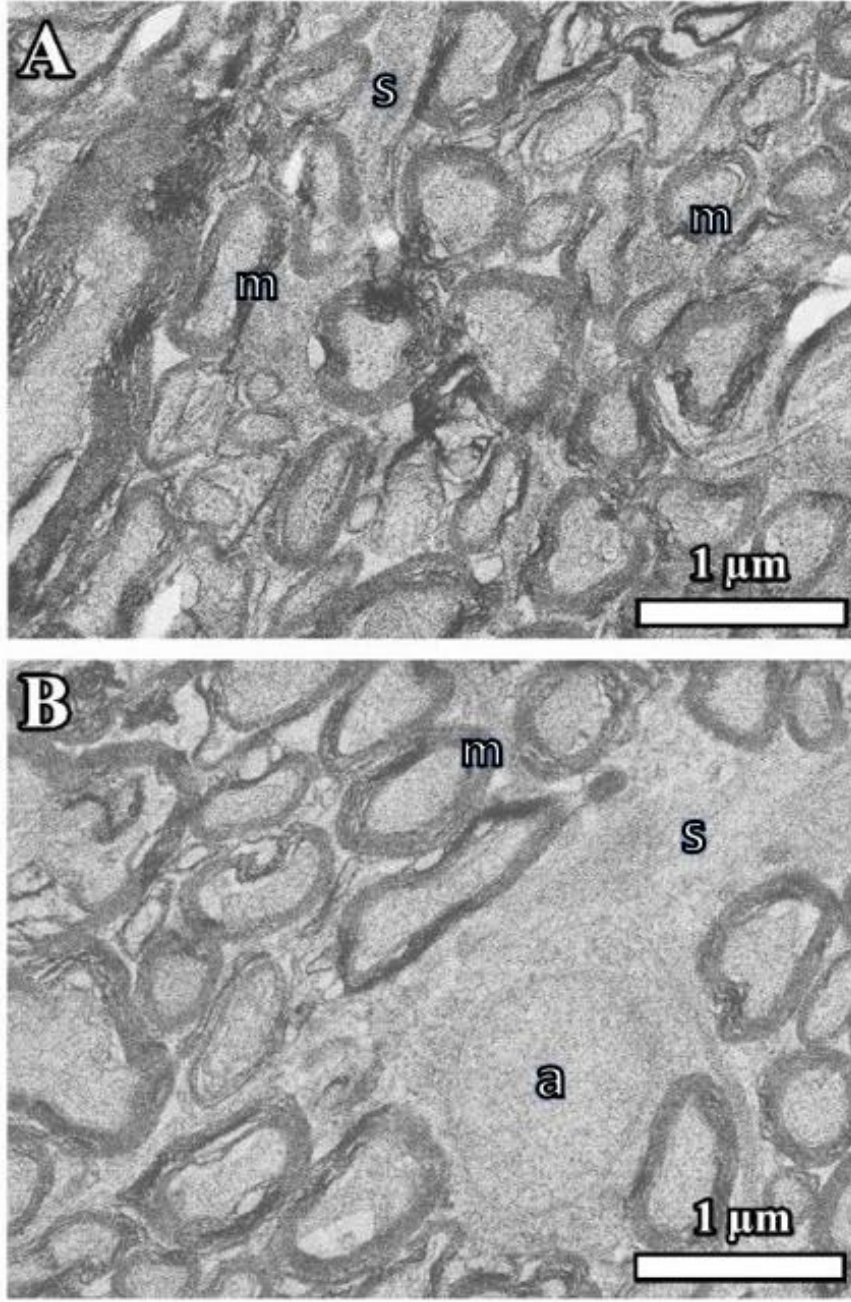
Şekil 51. (A, B) Cur grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Kesitte gözlenen liflerinin çoğunun normal yapıda olduğu ve lifler arasındaki astroitik septaların varlığı dikkat çekmektedir. m: miyelin kılıf, s: astroitik septa.



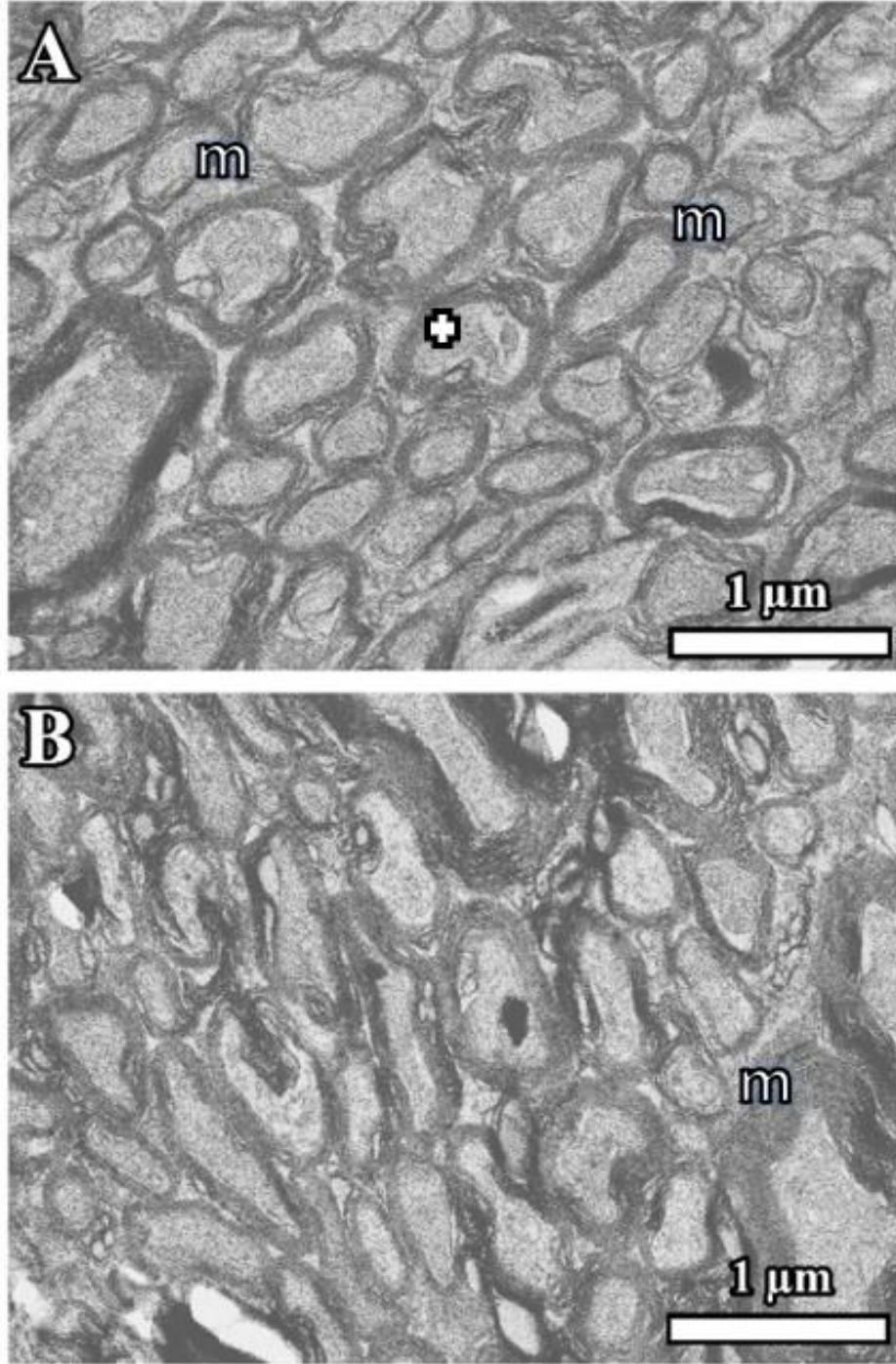
Şekil 52. (A, B) Cur grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Kesitte gözlenen liflerinin çoğunun normal morfolojide olduğu ve lifler arasındaki astroitik septaların korunmuş yapısı dikkat çekmektedir. Liflerin sıkı paketlenmiş ve organize durumları ile normal yapıdaki aksoplazmaları gözlenmektedir. İnce astroitik septalar fark edilmektedir. m: miyelin kılıf, s: astroitik septa.



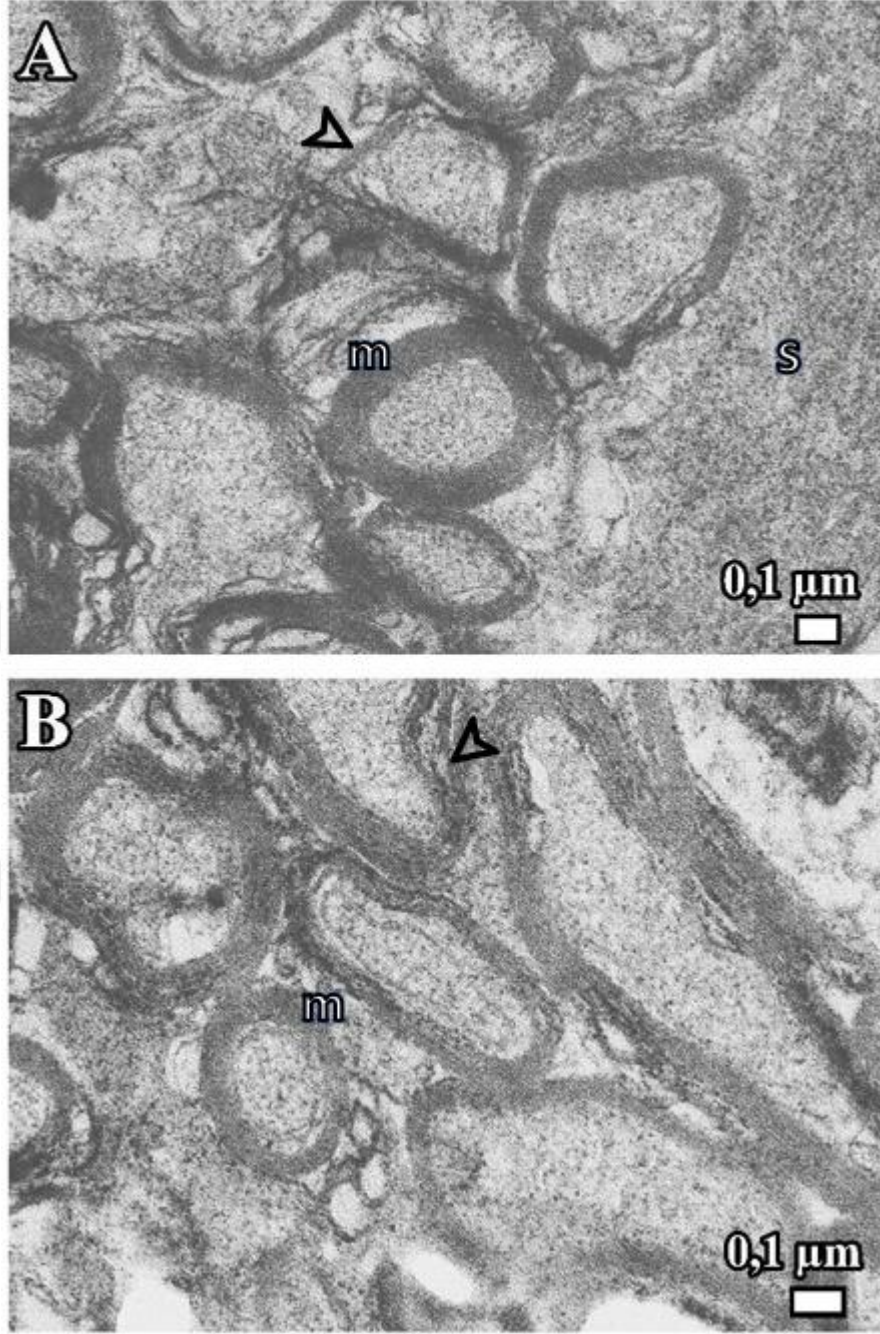
Şekil 53. (A, B) Cur grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Kesitte gözlenen liflerinin çoğunun normal yapıda olduğu ve lifler arasındaki astroitik septaların varlığı dikkat çekmektedir. (B) Astrosite ait çekirdek ve sitoplazmik uzantısı gözlenmektedir. m: miyelin kılıf, s: astroitik septa, a: astrosit çekirdeği.



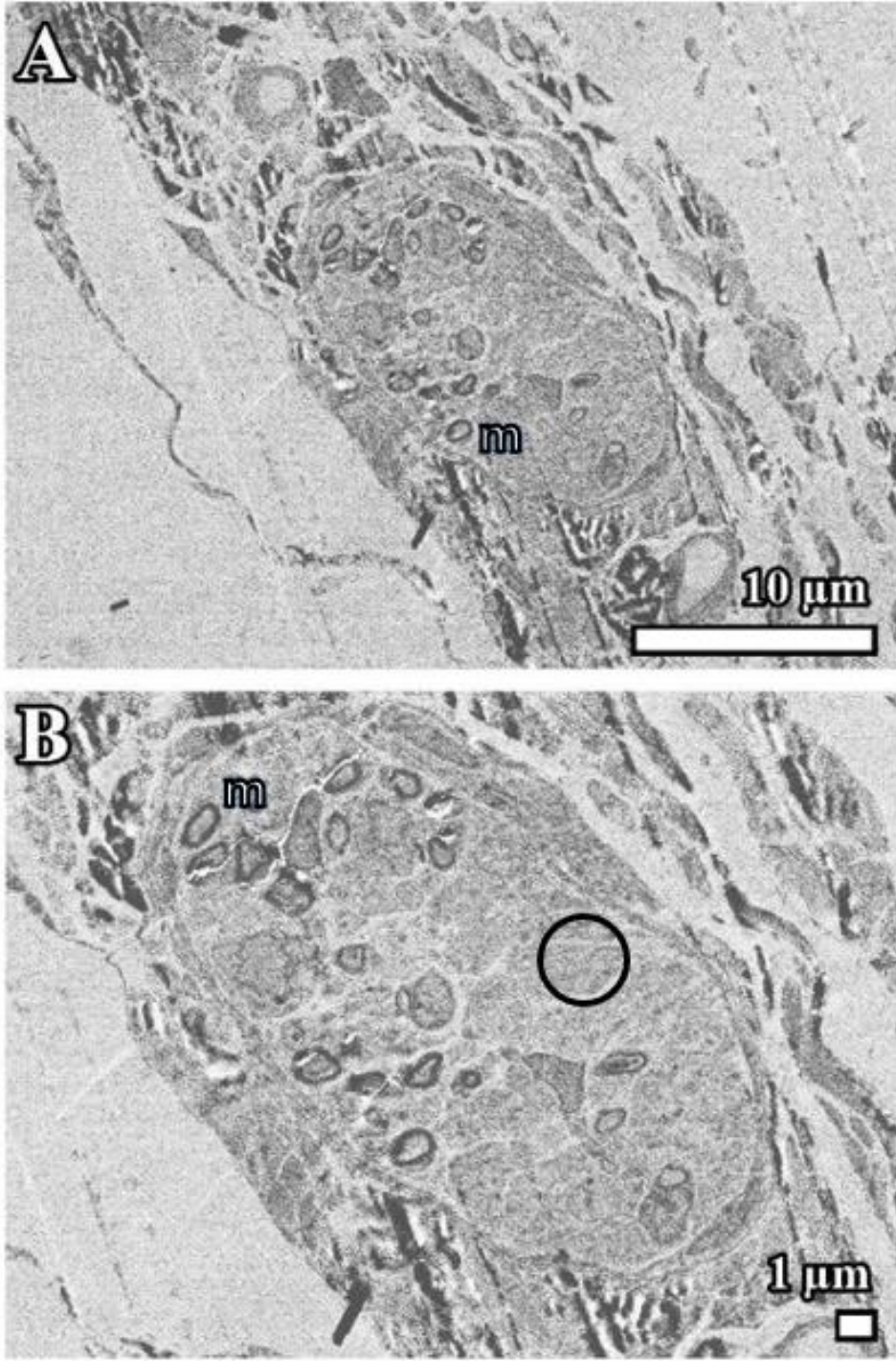
Şekil 54. (A, B) Cur grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Kesitte gözlenen liflerinin çoğunun normal yapıda olduğu ve lifler arasındaki astroitik septaların korunmuş morfolojileri dikkat çekmektedir. (B) Astrosite ait çekirdek ve sitoplazmik uzantısı gözlenmektedir. m: miyelin kılıf, s: astroitik septa, a: astrosit çekirdeği.



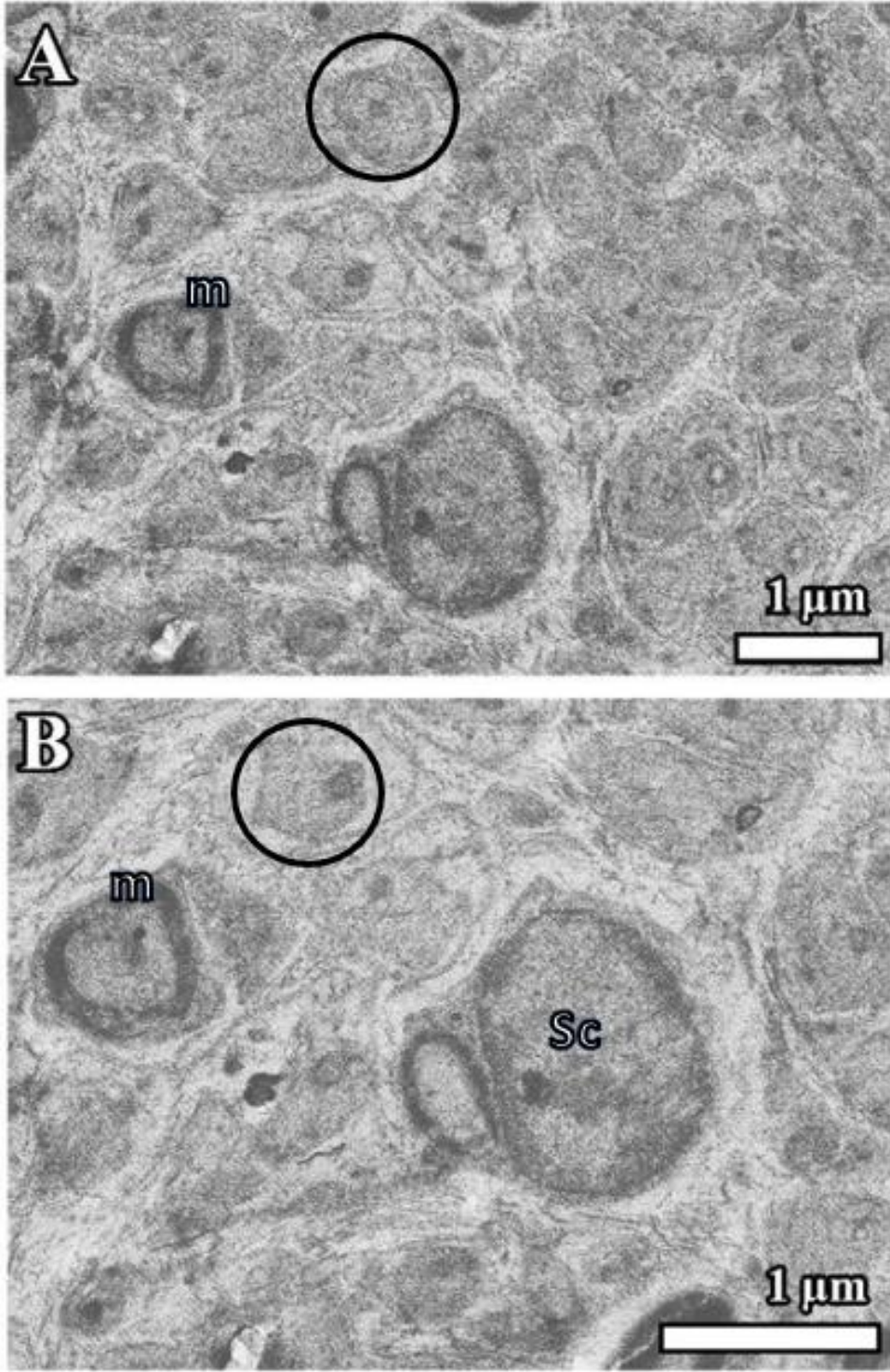
Şekil 55. (A, B) Cur grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Çoğunlukla normal ve sağlıklı akson ve onların etrafını çevreleyen miyelin kılıflar görülmektedir. Genelde aksoplazma miyelin kılıfının hemen altından başlayarak bütünlüğünü koruduğu, bazı liflerde aksoplazmanın büzüştüğü gözlemlendi. m: miyelin kılıf, artı işareti: akson büzüşmesi.



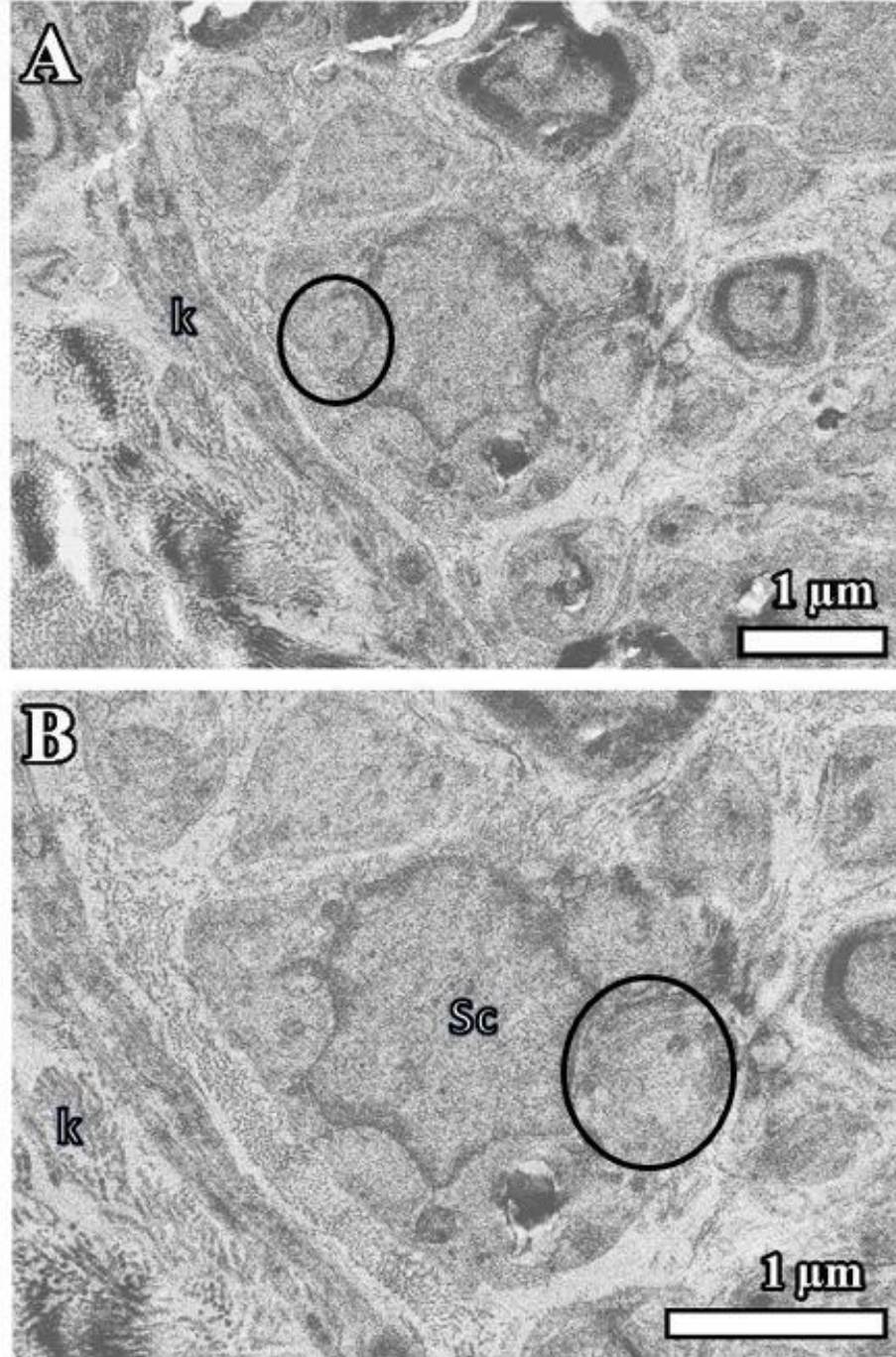
Şekil 56. (A, B) Cur grubuna ait optik sinir kesitlerinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. Kesitte gözlenen liflerinin bazıları normal yapıda iken bazılarının yapısını koruyamadığı gözlemlendi. (A) Lifler arasında astrositik septaların varlığı dikkat çekmektedir. m: miyelin kılıf, s: astrositik septa, ok başı: bozulmuş miyelin kılıf.



Şekil 57. (A, B) Cur grubuna ait bir sinir lifi demetinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Etrafi düzenli bağ dokusu ve hücreler ile çevrili olan bu yapının içinde küçük çaplı miyelinli sinir liflerinin yanında çok sayıda miyelinsiz sinir lifi paketlerinin varlığı dikkat çekmektedir. m: miyelin kılıf, daire: miyelinsiz sinir lifleri.



58. (A, B) Cur grubuna ait bir sinir lifi demetinden alınan elektron mikroskobik görüntüler görülmektedir. Küçük çaplı miyelinli sinir liflerinin yanında çok sayıda miyelinsiz sinir lifi topluluğunun varlığı dikkat çekmektedir. Miyelinli sinir lifinin etrafındaki Schwann hücre çekirdeği nispeten büyük çaplıdır. m: miyelin kılıf, daire: miyelinsiz sinir lifleri, Sc: Schwann hücre çekirdeği.



Şekil 59. (A, B) Cur grubuna ait bir sinir lifi demeti kesitinden alınan elektron mikroskopik görüntüler görülmektedir. (B) Merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip olan Schwann hüresinin sitoplazmik ceplerinde çok sayıda miyelinsiz sinir liflerinin varlığı dikkat çekmektedir. Bağ dokusundaki kollajen liflerin enine ve boyuna kesitleri gözlenmektedir. daire: miyelinsiz sinir lifleri, Sc: Schwann hücre çekirdeği, k: kollajen lifleri.

5. TARTIŞMA

Dünya üzerinde en önemli bulaşıcı olmayan epidemik hastalıklardan biri olan diyabetin insidansı son 30 yılda hızla artmaktadır. Uluslararası Diyabet Federasyonu'na göre, dünya çapında diyabetli insan sayısının 2019'da 463 milyona ulaştığı ve 2045'e kadar 700 milyon yetişkin olacağı tahmin edilmektedir (IDF, 2019). Küresel olarak, tip 2 DM ve komplikasyonları, tüm dünyada mortalite ve sağlık maliyetini önemli derecede arttırmaktadır (Cai ve Kang, 2003). Diyabet komplikasyonları arasında olan DN'de periferik sinir üzerine odaklanılırken, merkezi sinir sistemi elemanı olan optik sinirin bu süreçten nasıl etkilendiği konusundaki çalışmaların yetersizliği de dikkat çekmektedir. Sunulan çalışma, STZ ile indüklenmiş diyabetik sıçanların optik sinirinde hipergliseminin etkilerini ve kurkuminin muhtemel nöroprotektif rolünü araştırmak için yapılmıştır.

STZ ile indüklenen hipergliseminin yani diyabetin optik sinirdeki etkilerini incelemek için güvenilir bir deneysel model olduğu söylenebilir (Lennertz ve ark., 2011). Daha önce bu model kullanılarak yapılan optik sinir ve optik yoldaki değişikliklerin araştırıldığı çalışmada kan-beyin bariyerinde farklılıklar gözlenmiştir (Alemán ve ark., 2016). Diyabetin optik sinire ait toplam akson sayısı üzerindeki etkilerinin araştırıldığı birkaç çalışma bulunmaktadır. Bununla ilgili çalışmalardan bir tanesi, toplam akson sayısı hesaplamalarında proksimal taraftaki optik sinirde akson sayısı kontrol grubu ile deney grubu arasında anlamlı fark göstermemesine karşın ($p>0,05$), distal taraftaki akson sayısı hesaplamasında kontrol grubu ile diyabet grubu arasında anlamlı bir farkın olduğu bildirmiştir ($p\leq 0,01$) (Dorfman ve ark., 2015). Fernandez ve ark. (2012), altı hafta boyunca diyabet olan hayvanlarda yaptıkları bir çalışmada distal optik sinirde büyük çaplı aksonların önemli derecede kaybını gözlemlemişlerdir. Aynı zamanda diyabete maruz kalan hayvanların optik sinirlerinde akson sayısı ve akson alanında da ileri düzeyde bir azalma saptamışlardır ($p\leq 0,01$). Ayrıca, g oranı analizinde (iç akson çapının toplam dış çapa oranı) gruplar arasında bir farkın olmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$). Başka bir çalışmada da optik sinirde sadece büyük çaplı liflerin kaybı tespit edilmiştir (Aleman-Flores ve ark., 2000). İlgili başka bir çalışmada ise toplam akson sayısında kontrol grubuna göre diyabetik deney grubunda anlamlı derecede bir azalma gözlenmemiştir (Bui ve ark., 2009). Mevcut çalışmalar akson sayısı konusunda ortak bir sonuca varamasa da, literatürle uyumlu olarak

çalışmamızdaki stereolojik analizler, DM grubu optik sinirine ait miyelinli akson sayısının, kontrol grubuna göre anlamlı derecede bir azalma gösterdiği yönündedir ($p<0,0001$). Özellikle merkezi sinir sistemi mikroçevresi içinde artan makrofaj ve mikroglia yoğunluğu aksonal kayıplarla ilişkilendirilmektedir (Peterson ve ark., 2001; Kuhlmann ve ark., 2002). Diyabetin neden olduğu hasara verilen enflamatuvar yanıt mekanizmasıyla aksonal kayıpların olduğu düşünülebilir. Bu mekanizmaların daha iyi aydınlatılabilmesi için ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.

Optik sinir, retinal gangliyon hücrelerinden köken alan aksonlardan oluşmakla birlikte büyük, orta ve küçük olmak üzere üç farklı boyutta akson içerir ve aksonlar sıçanlarda ortalama 0,2-3,0 μm çapa sahiptir (Sugimoto ve ark., 1984). Ochodnická ve ark. (1995), diyabet indüksiyonundan sekiz hafta sonra diyabetik sıçanlarda aksonal alanda anlamlı derecede bir azalma olmadığını bildirmiştir. Diyabetik sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada da benzer biçimde optik sinirin proksimal ve distal kısmından alınan sinir kesit alanlarında kontrol grubu ile diyabet grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir ($p>0,01$) (Dorfman ve ark., 2015). Sonuçlarımız da literatürle uyumlu olarak diyabet grubu hayvanları ile kontrol grubu arasında akson alanında anlamlı bir değişikliğin olmadığını göstermiştir ($p>0,05$). Optik sinirde yapılan deneysel diyabet ve glokom modellerinde, büyük aksonların küçük aksonlardan daha savunmasız ve hasar durumunda ilk etkilenen aksonlar olduğu gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2000; Moreno ve ark., 2005; Belforte ve ark., 2010; Fernandez ve ark., 2012). Araştırmalar diyabet sürecinde periferik sinirlerin akson alanlarında oluşan daralmanın doku hiperozmolaritesine bağlı olarak dehidratasyon ile oluşabileceğini ileri sürmektedirler (Sugimura ve ark., 1980; Dyck ve ark., 1981). Alan değişimine neden olacak başka bir etmen ise nörofilamentlerdir. Aksonal çap temel olarak nörofilamentler tarafından belirlenir (Hoffman ve Griffin, 1993). Nörofilamentler büyük boyutlu aksonların hücre iskeletini oluşturan orta büyüklükteki filamentlerdir. Kontrol ve diyabetik sıçanlardan alınan retinalar üzerinde yapılan bir immunohistokimyasal çalışmada, diyabet grubunda nörofilament protein birikimleriyle oluşan şişmiş akson sayısında bir artış gözlenmiştir (Gastinger ve ark., 2001). Nöropatide görülen aksonal şişlikler incelendiğinde, şişmiş aksonların mikrotübüller ve ubikitinle ilişkili protein bileşenleri, mitokondriyon, veziküler organeller ve nörofilament birikimini içerdiği gözlenmiştir (Lauria ve ark., 2003; Ebenezer ve ark.,

2007). Tip 1 ve tip 2 diyabetli kişilerin periferik sinir dokusunda da benzer aksonal şişlikler gözlenmiştir (Schmidt ve ark., 1997). Bu anormallikler hem periferik sinir hem de diyabetik sıçanların optik sinirinde azalmış aksonal taşınmadan kaynaklanabilir (Alberghina, 1986; Zhang ve ark., 1998; Zhang ve ark., 2000). Sonuçlarımızda da olduğu gibi kontrol ve DM grubu arasında akson alanında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemesinin nedeni, diyabetik hayvanların optik sinirinde kaybolan büyük çaplı aksonlara rağmen kalan aksonlarda, diyabetin etkisiyle birikmiş nörofilamentlerin şişkinlik oluşturması olabilir.

Hipergliseminin miyelin kılıf kalınlığında oluşturduğu değişiklikler daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Bui ve ark. (2009), bir çalışmalarında, optik sinirde, miyelin kılıfı kalınlığı analizlerinde STZ ile diyabet oluşturulduktan 12 hafta sonra incelenen diyabet grubu hayvanlarında anlamlı bir azalma bulmuşlardır ($p \leq 0,05$). Aleman-flores ve Mompeo-corredera (2018), diyabetin retinal sinir lifleri ve glia hücrelerinde oluşturduğu değişiklikleri incelemek üzere yaptıkları çalışmada, optik sinirlerde miyelin kılıfı kalınlığı ölçümleri yapmışlardır. Çalışmada, serum fizyolojik enjeksiyonu yapılan kontrol grubu hayvanları ile STZ enjeksiyonu ile diyabetik duruma getirilen deney grubu hayvanları altı ve 12 hafta sonra incelenmiştir. Altı ve 12 haftalık kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında miyelin kılıfı kalınlığında anlamlı bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir. Benzer şekilde çalışmamızdaki, diyabet gruplarındaki hayvanların miyelin kılıfı kalınlıkları, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında miyelin kılıf kalınlığında anlamlı bir azalma saptanmamıştır ($p > 0,05$). Bu bağlamda, diyabet grupları ile ve kontrol grubu arasında miyelin kılıf kalınlığı bakımından anlamlı bir farkın görülmemesinin nedeni, belki de uygulanan diyabet süresinin miyelin kılıfta hasar oluşturacak kadar yeterli düzeyde olmaması olabilir. Ayrıca, akson sayısı açısından DM ve kontrol grubu arasında fark olmasına karşın miyelin kılıf kalınlığında herhangi bir fark bulunmamasının nedeni, aksonal dejenerasyona birçok faktörün katkıda bulunması olabilir. Böyle çok sayıda faktörün bir arada rol oynadığı durumlar demiyelinizasyonun mu, yoksa aksonopatinin mi önce oluştuğunun saptanmasını zorlaştırmaktadır. Miyelin kılıfının fiziksel ve trofik destek sağlamaması aksonal kayba katkıda bulunabilir (Griffiths ve ark., 1998; Yin ve ark., 1998). Bununla birlikte, aksonal hasar her zaman demiyelinizasyon sonucu gerçekleşmez. Aksonopati, demiyelinizasyondan bağımsız olarak aksonların enflamatuar hücreler tarafından

saldırıya uğraması ve salgılanan enflamatuar sitokinlerin ve toksik maddelerin aksonlarda oluşturduğu etkiye atfedilmektedir (Griffiths ve ark., 1998; Yin ve ark., 1998; Smith ve ark., 2001; Kuhlmann ve ark., 2002). Stereolojik analizlere dayanarak diyabete karşı oluşan inflammatuar yanıt, miyelin kılıfta bozulma olmadan da aksonal kayıpla sonuçlanmış olabilir yorumu yapılabilirken, doku kesitlerinin histolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda diyabetin miyelin kılıfın yapısında kontrollere göre önemli derecede bozulmalara neden olduğu, tedavi amaçlı kullanılan kurkumin ile bazı gruplarda büyük oranda bir iyileşmenin olduğu gözlemlendi.

Hiperglisemi, glikolitik ve trikarboksilik asit döngüsü yollarında akışın artmasını uyarır ve bu durum mitokondriyon içinde aşırı elektronlarla sonuçlanır (Madsen-bouterse ve Kowluru, 2008). Bu elektronlar oksijenle reaksiyona girer ve ROS oluşturur. Hücrelerin güç merkezi olan mitokondriyon da kendi başına ROS ürettiğinden, artan ROS tarafından zarar gören ilk elemandır. Zarar görmüş mitokondriyon hücrede azalmış mitokondriyal enerji üretimi ile sonuçlanır, daha sonra hücrede ve dokuda fonksiyon kaybına neden olur (Simó ve Hernández, 2014). Deneysel olarak diyabet oluşturulmuş hayvanların, insanlardakine benzeyen biyokimyasal, oksidatif ve metabolik değişiklikler gösterdiği bilinmektedir (Kandhare ve ark., 2012; Catanzaro ve ark., 2013; Rao ve ark., 2014; Visnagri ve ark., 2014).

Oksidatif stres, kronik diyabetin karakteristik özelliklerinden biridir ve STZ ile indüklenmiş diyabetik hayvanların farklı dokularında gözlenmiştir (Brownlee, 2001; Ozkaya ve ark., 2002; Suryanarayana ve ark., 2005; Kumar ve ark., 2005b; Okutan ve ark., 2005). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, diyabetik sıçanlarda optik sinir ve görsel kortekste malondialdehit (MDA) düzeyi ile gösterilebilen oksidatif stres seviyesinde belirgin bir artış gösterilmiştir (Catanzaro ve ark., 2017). MDA oksidatif stres sırasında ortaya çıkan lipid peroksidasyonunun en yaygın yan ürünlerinden biridir (Ayala ve ark., 2014). Ek olarak hem optik sinirde hem de görsel kortekste antioksidan olan GSH seviyelerinde azalma olduğu gözlenmiştir (Catanzaro ve ark., 2017). Bu sonuçlar optik sinir ve görsel kortekste oksidatif stres artışı ile birlikte nöronal iletim ve bütünlükte bozulma olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca diyabet sürecinde oluşan oksidatif stresin, çoğunlukla optik sinirde değişmiş sinir iletim hızının ve nöronal elektriksel fonksiyon bütünlüğünün bir belirteci olan Na/K-ATPaz enzim seviyelerini önemli ölçüde azalttığı da gösterilmiştir ($p \leq 0,05$) (Stahl, 1986; Catanzaro ve ark.,

2017). Sinyal iletim hızının ve elektriksel fonksiyon bütünlüğünün bozulması optik sinirde miyelin kılıf dejenerasyonuna işaret etmektedir (Long ve ark., 2017). Bu tür bir dejenerasyonu klinikte belirleyebilmek için Visual Evoked Potential (VEP) testi kullanılmaktadır. Bu test, parlak bir ışığa karşı verilen yanıtı elektrik sinyali biçiminde kaydederek latans farklılıklarını tespit etmeye dayanmaktadır (Nasralah ve ark., 2013; Hari kumar ve ark., 2016). Patern VEP testi ise klinik çalışmalarda diyabetik retinopati semptomlarının başlangıcından önce optik sinirden oksipital kortekse kadar herhangi bir kusuru ortaya çıkarabilmektedir (Heravian ve ark., 2012). Bu test ile belirlenen anormallikler, miyelinli optik sinir lifindeki yapısal hasarın ve nörodejenerasyonun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Moreo ve ark., 1995; Li ve Yang, 2001; Heravian ve ark., 2012).

Oksidatif stres, diyabetik komplikasyonların patogenezinde ve ilerlemesinde merkezi bir rol oynayabilir (Baynes, 1991; Brownlee, 2001). Bu nedenle antioksidan bileşiklerin diyabetik komplikasyonların ilerlemesini önleyeceği ve/veya geciktireceği muhtemeldir (Oberley, 1988; Suryanarayana ve ark., 2005).

Zerdeçalın en aktif bileşeni olan kurkumin, deneysel diyabette ve diyabet komplikasyonlarının tedavisinde potansiyel bir terapötik ajan olarak dikkat çekmektedir (Goel ve ark., 2008; Chuengsamarn ve ark., 2012; Pérez-torres ve ark., 2013). Polifenol kurkumin (diferuloilmetan) çoğu zerdeçal preparasyonunun %2-8'ini oluşturur ve genellikle güçlü anti-oksidan, anti-enflamatuar ve anti-karsinojenik özelliklere sahiptir. Arun ve Nalini (2002), kurkuminin diyabetin kontrol edilmesinde etkili olabildiğini, kurkumin uygulamasının kan şekeri ve HbA1c düzeylerini diyabetik sıçanlarda azaltabildiğini, fazla glikozun polioliol yoluna akışını azalttığını, ayrıca NADPH / NADP oranının ve GPx aktivitesinin artışına yardımcı olduğunu göstermişlerdir. Kurkuminin anti-diyabetik rolünü gösteren başka bir çalışmada, insülin üretimini uyaran ve pro-enflamatuar sitokinlerin baskılanmasına yardımcı olan glukagon benzeri peptid 1 (GLP-1) protein seviyesinin, “theracumin” (kurkuminin biyoyararlanımı daha fazla olan versiyonu) (Sasaki ve ark., 2011) uygulamasından sonra arttığı gösterilmiş ve buna bağlı olarak insülin intoleransının azaldığı ileri sürülmüştür (Kato ve ark., 2017). Kurkuminin, insülin reseptör substratı (IRS) ve insülin sinyal ağının sürekliliğinden, dağıtımından ve düzenlenmesinden sorumlu olan diyabet öncüsü insülin direncine karşı JNK / IRS yolunu hedeflediği düşünülmektedir (Ye ve ark., 2017; Draznin, 2006).

Ayrıca kurkumin, insülin reseptörü üzerindeki etkisiyle aktive edilen ve glikoz metabolizması ve taşınmasında önemli bir rol oynayan glikoz transpoterleri (GLUT) 1 ve 3 ile IRS / PI3K / Akt yolunu aktive ederek insülin direncini azalttığı gösterilmiştir (Farese, 2001; Wang ve ark., 2017). Tüm bu mekanizmalar ile kurkumin, metabolik olarak diyabeti kontrol edebilmekte, ayrıca diyabetin dokularda oluşturduğu hasarları ve diyabetik komplikasyonların gelişimini önlemede yardımcı olmaktadır (Suryanarayana ve ark., 2005). Kurkumin, antioksidan özelliğiyle diyabetik sıçanlarda ROS elemanlarının üretimini inhibe ederek, protein karbonillerdeki artışları ve antioksidan enzim aktivitelerindeki değişiklikleri düzenleyerek oksidatif stresi kontrol edebilir (Suryanarayana ve ark., 2007). Kurkuminin en sık görülen oftalmik bozuklukların patogenezinde yer alan, mitokondriyal aracılı oksidatif stresi ve enflamatuar tepkileri azaltmaya yardımcı olduğu bilinmektedir (Chrysostomou ve ark., 2013; Himori ve ark., 2013; Trujillo ve ark., 2014; Wong ve ark., 2015). Böylece oksidatif stresin dokuda oluşturduğu hasarlar kurkumin sayesinde ortadan kaldırılabilir.

Çalışmamızda kurkumin uygulanan gruplarda miyelinli akson sayısı baz alınarak yapılan istatistiksel karşılaştırmalarda, kontrol grubuna kıyasla, DK1 ve DK3 gruplarında anlamlı şekilde lif sayısının daha az olması, diyabetin oluşturduğu hasarı, uyguladığımız süre ve dozdaki kurkuminin koruyamadığını düşündürmektedir. Kurkuminin doz ayarlanması veya farklı sürelerde uygulanması ile diyabetik hasarın etkileriyle baş edebilmek mümkün olabilir. DK2 grubundaki miyelinli akson sayısı, DK1, DK3 ve DM gruplarına kıyasla anlamlı şekilde bir artış göstermiştir. DK2 grubunda, oksidatif stres ürünlerinin yoğun biçimde birikmiş olması ve kurkuminin güçlü antioksidan özelliğiyle yoğunlaşmış oksidatif strese daha iyi cevap vermesi nedeniyle DK2 grubunda, DK1, DK3 ve DM gruplarına kıyasla miyelinli sinir lifi sayısında anlamlı derecede artış olduğunu düşünmekteyiz. DM grubuna kıyasla DK2 grubunda gördüğümüz ileri derecede artış, kurkuminin bahsettiğimiz mekanizmalar aracılığıyla terapötik etkisini düşündürmektedir. STZ ile kurkuminin eş zamanlı uygulandığı DK3 grubunun STZ'ye maruziyetten 21 gün sonra kurkumin uygulanan DK2 grubundan daha az sayıda sinir lifine sahip olmasının nedeni, STZ ve kurkuminin eşzamanlı uygulaması sonucunda DK3 grubunda kurkuminin sitokrom p450 1A2 inhibitörü etkisi üzerinden muhtemelen sitokrom p450 1A2 enzimiyle metabolize olan STZ'nin toksik dozunu şiddetlendirmesi olabilir (Nahdi ve ark., 2017; Drugbank,

2020a). STZ ise bir sitokrom p450 1A2 uyarıcısı olduğu için kurkuminin metabolize olmasını hızlandırıp etkin doza gelmesini önlemiş olabilir (Volak ve ark., 2008; Drugbank, 2020b). Kurkumin, sahip olduğu nöroprotektif ve nörorejeneratif etkisinin yanı sıra, nörojeneze de katkıda bulunabildiği savunulmaktadır. Bunu destekleyen bir çalışmada, kurkuminin Wnt2 ekspresyonunu ve protein seviyelerini arttırdığını ve kurkumin tarafından arttırılmış nörojeneze yol açtığı bildirilmiştir (Tiwari ve ark., 2019). Kurkumin grubundaki miyelinli sinir lifi sayısı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemesi, kullanılan doz ve süredeki kurkuminin toksik olmadığını göstermektedir. Sham grubunun kurkumin ve kontrol gruplarına göre daha az sayıda sinir lifine sahip olmasının nedeni deney süresince bu gruptaki hayvanlara uygulanan enjeksiyonun oluşturduğu stres olabilir.

Kurkumin uyguladığımız grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında kontrol grubuna kıyasla kurkumin grubunda akson alanı bakımından anlamlı bir azalma görülmüştür. Ayrıca DK1 grubunun akson alanı da Sham ve kontrol gruplarına göre anlamlı bir azalma göstermiştir. İlginç olanı, kontrol ve DK1 grubu arasında akson alanı bakımından anlamlı bir fark olmasına karşın, DK2 grubu ile diğer gruplar arasında bir farkın görülmemesiydi ($p>0,05$). Benzer şekilde DK3 grubunun akson alanı diğer tüm gruplar ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark gözlenmedi. DK2 ve DK3'de görülen bu durumun açıklığa kavuşturulması için kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Miyelin, oligodendrositlerden ve Schwann hücrelerinden uzanan, sırasıyla merkezi ve periferik sinir sistemlerinde sinir aksonları etrafında bir yalıtım kılıfı oluşturan, lipit açısından zengin çok tabakalı bir membran yapısıdır (Baumann ve Pham-dinh, 2001). Miyelin kılıf hem altındaki akson, hem de dış çevre ile iletişim kuran ve sinir uyarılarının sıçrayıcı iletimi ile hızlı bir şekilde iletilmesini sağlayan dinamik bir sistemdir. Aksonların diyabetten etkilenmede merkezi sinir sisteminin miyelin kılıfını oluşturan oligodendrositlerden daha hassas olduğu düşünülmektedir (Feldman ve ark., 2017). Merkezi sinir sisteminde aksonlar enerji kaynağı olarak oligodendrositleri kullanmaktadır (Morrison ve ark., 2013). Diyabet sırasında oligodendrositlerin miyelinli aksonlara enerji sağlama yeteneklerini kaybetmesine ek olarak, bu süreçte temas ettikleri aksonlara toksik lipit türlerini transfer ederler (Feldman ve ark., 2017). Diyabette oligodendrositlerin glikolitik metabolizmasıyla ortaya çıkan fazla ürünlerini aksona aktarması, aksonal etkilenmenin önemli bir parçası olan mitokondrinin rolünü

düşündürmektedir (Bondan ve ark., 2006). Bu süreçte aksondaki mitokondriyonların bütünlüğü, hareketliliği ve akson boyunca lokalizasyonun olumsuz etkilenmesi, aksonun oligodendrositten daha hassas olduğunu düşündürmektedir (Fernyhough ve Mc Gavock, 2014; Fernyhough, 2015). Miyelin kılıf kalınlığı açısından elde edilen stereolojik veriler incelendiğinde, kurkumin uygulanan gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark görülmemiştir ($p>0,05$). Bu bilgiler göz önüne alındığında oligodendrositlerin diyabet durumunda daha dirençli olduğu, bu nedenle çalışma gruplarında miyelin kılıf kalınlığında bir değişime neden olmadığı ileri sürülebilir.

Diyabetin optik sinir üzerindeki etkilerini ince yapı düzeyinde inceleyen bir çalışmada diyabet grubundaki optik sinirlerin, özellikle küçük sinir liflerinde disorganize, aksolennadan ayrılmış ve incelmış miyelin kılıfların varlığı gözlenmiştir (Demir ve ark., 2003). Başka bir çalışmada, diyabetik deney gruplarının ince yapı analizlerinde organizasyonu bozulmuş miyelin kılıf, şişmiş mitokondriyonlar, dejenere lifler, kayıp ve yıkılmış aksonlar görülmüştür (Aleman-flores ve Mompeo-corredera, 2018). Dorfman ve ark. (2015) bir çalışmalarında diyabetik sıçanların proksimal kısımda görülmemekle birlikte distal optik sinirinde disorganize miyelin kılıfların yaygın olduğunu saptamışlardır. Başka bir çalışmada ise distal optik sinir incelendiğinde altı hafta boyunca diyabetik olan hayvanlarda miyelin organizasyonunun oldukça düzensiz bir hale gelmesinin yanı sıra sıklıkla lamelli membranöz cisimler gözlemlendiği belirtilmiştir (Fernandez ve ark., 2012). Bu bulgularla uyumlu olarak, çalışmamızda elektron mikroskopik kesitler incelendiğinde, diyabetik grupta miyelinli aksonların miyelin kılıflarından sıklıkla ayrıldığı saptanmıştır. Diyabete maruz kalan hayvanların optik sinirlerinde ince yapı düzeyinde önemli bozulmaların olduğu tespit edilmiştir. Bazı toksinlerin, muhtemelen sodyum kanal disfonksiyonuna bağlı ozmotik dengesizlik nedeniyle periaksonal ödemi indüklediği bilinmektedir (Love ve ark., 1986). Ayrıca, yüksek plazma galaktoz konsantrasyonları hiperozmolar perinöral bir ortam üretir, oligodendrositin periferik sinir sisteminde eşdeğeri olan Schwann hücrelerinde bulunan glikojen miktarını arttırır ve akson-miyelin ayrılmasına yol açar (Powell ve Myers, 1983; Myers ve Powell, 1984). Bu nedenle, diyabete maruz kalan hayvanların optik sinirine ait aksonlarda akson-miyelin ayrılmaları, hiperglisemi ve glia hücrelerinde glikoz birikmesi gibi nedenlerden dolayı olabilir. Ayrıca akson ve miyelin kılıfı arasındaki ayrılmalar, daha önce diyabetik sıçanlarda gösterildiği gibi, diyabetten

etkilenen sinir liflerinin paranodal bölgesindeki aksoglial disfonksiyonu da yansıtabilir (Sima ve ark., 1982).

Elektron mikroskopik görüntülerde yaptığımız analizler, diyabetin optik sinir yapısında oluşturduğu olumsuz etkiye karşı, kullanılan kurkuminin bazı gruplarda özellikle DK2 grubunda önemli derecede koruyucu olduğu gözlemlendi. Kurkumin neden diyabetin başlamasından 21 gün sonra kullanıldığında önemli derecede protektif oluyor da, diyabetin başlangıcından yedi gün sonra veya diyabet başlangıcı ile eş zamanlı olarak kullanılması DK2 grubundaki gibi benzer koruyucu sonucu vermiyor? Bu husus cevaplandırılması gereken önemli bir soru olarak durmaktadır. Bu farklılığın nedeni daha ileri çalışmalarla birlikte kurkuminin koruyucu potansiyeline rağmen genel olarak suda çözünürlüğünün zayıf olması (~ 11 ng/mL) ve düşük biyoyararlanımı dahil olmak üzere uygulamadaki bazı zorluklar nedeniyle bu maddenin zayıf tarafları olduğu ileri sürülebilir (Ammon ve ark., 1991; Kaminaga ve ark., 2003; Gupta ve ark., 2013). Çalışmamızda, 30 mg/kg kurkumin gavaj yoluyla sistemik olarak uygulanmıştır. Farelerde kurkuminin sistemik uygulanmasından sonra sadece eser miktarlarda (0,41 ug/g) merkezi sinir sistemine ulaşabildiği bildirilmiştir (Pan ve ark., 1999).

Diyabet sürecinde kanda artan hiperglisemi, optik sinirde morfolojik değişikliklere neden olmaktadır, bunlar; miyelin kılıfta lameller bozulma ve dejeneratif sinir lifi yoğunluğunda artış olarak ifade edilebilir (Aleman-Flores ve Mompeo-corredera, 2018). Yukarıda belirtilen değişiklikler, çalışmamızın diyabet grubu hayvanlarından alınan optik sinirlerinde de gözlemlendi. Çalışmamızla, kurkuminin optik sinirde diyabet sonrasında oluşan bozulmaların en azından DK2 grubu hayvanlarında ince yapı ve akson sayısı bakımından koruyucu bir madde olduğu gösterilmiştir.

İnce yapı analizlerimiz, diyabete maruz kalan liflerin miyelin kılıf lamellerin ileri derecede dejenere olduğunu, bütünlüğünü kaybeden miyelin kılıfları da dahil olmak üzere doku bütünlüğünün bozulduğunu göstermiştir. Özellikle büyük çaplı aksonların daha çok hasara uğraması dikkat çekiciydi. Büyük çaplı aksonların normal hücre gereksinimlerini gidermek için küçük çaplı aksonlardan daha fazla enerjiye gereksinimi doğaldır. Bu nedenle mitokondriyal faaliyetin fazla olması reaktif oksijen türlerinin daha fazla olmasıyla sonuçlanır. Oksidatif stresin büyük çaplı liflerde, küçük çaplı liflere göre daha fazla olması büyük lifleri hasara karşı daha hassas hale getirmektedir. Elektron mikroskopik değerlendirmede optik sinirlerdeki dejeneratif

liflerin ve bozulmuş miyelin yapılanmasının, farklı zaman periyotlarında (deneysel diyabet indüksiyonundan 7 ve 21 gün sonra) kurkumin uygulamasıyla azaldığı nitel gözlemlerimiz sonucu belirlendi. Diyabete daha uzun süre maruz kalan DK2 (21 gün) grubu daha kısa maruz kalan DK1 (7 gün) grubun kıyasla kurkuminin terapötik özelliğini daha iyi gösterdiğini gerek astrositik septa düzeninde gerekse miyelin kılıfı ve akson morfolojisi bazında gözlemledik.

Histopatolojik değerlendirme sonuçlarımız, kronik diyabetin etkilerine karşı kurkuminin daha etkili olduğunu düşündürmektedir. Diyabete uzun süre maruz kalan hücrelerde daha yüksek düzeyde oksidatif stres olduğu ve buna karşı kurkuminin antioksidan etkisini bu hücrelerde daha iyi gösterdiğini söyleyebiliriz. Bu farklılığa STZ ve kurkuminin eş zamanlı uygulanmasının optik sinirde kurkuminin ve STZ'nin daha önce bahsettiğimiz gibi sitokrom p450 1A2 üzerinden gerçekleşen etkiler neden olabilir. Kurkuminin miyelin kılıf hasarına karşı koruyuculuğuyla ilgili mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. Kemirgenlerde yapılan bazı çalışmalar, kurkuminin anti-enflamatuar etkisine odaklanmıştır. Kurkumin, pro-enflamatuar araçların ekspresyonunu ve üretimini azaltmak için NF- κ B transkripsiyon faktörlerini ve JAK-STAT yolağını inhibe etmektedir (Kim ve ark., 2003; Kang ve ark., 2004; Jung ve ark., 2006). Başka bir olası etki mekanizması ise kurkuminin demir birikiminin düzenlemesi aracılığıyla miyelin üzerindeki etkisidir. Demir, oligodendrositlerin miyelin üretmesi için gerekli bir bileşen olmakla birlikte, sinir hücresinde demir birikimi miyelinizasyondaki azalmalarla ilişkilendirilmiştir (Steiger ve ark., 2016). Oligodendrositler, demir üretememesi sebebiyle dışarıdan almalıdırlar. Enflamasyon sonrasında dokudaki demir durumunun değiştiği bilinmektedir, kurkumin takviyesi ile miyelin hasarının gerçekleştiği söylenebilir (Connor ve ark., 1992; Chin ve ark., 2014).

Elektron mikroskopunda dokuların histopatolojik düzeyde değerlendirmesine dayanarak, diyabet sonrası kurkumin uygulamasının optik sinir morfolojisinde koruyucu etki gösterdiği gözlemlendi. Buna karşın sayısal verilerin elde edildiği stereolojik analizlerimiz, DK2 grubu hariç, diyabet sonrası kullanılan kurkuminin yeterli düzeyde koruyucu olmadığını göstermiştir. Kurkuminin optik sinir yapısı ve fonksiyonu üzerindeki koruyucu veya olumsuz etkilerini tam olarak belirlemek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1- Sunulan çalışmada, diyabetin sıçanların optik sinir üzerindeki etkileri ve olası hasar durumunda kurkumin maddesinin olası koruyucu etkisi, toplam miyelinli akson sayısı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı gibi parametreler esas alınarak; güvenilir, tarafsız ve etkili değerlendirmeye imkân veren stereolojik yöntemler kullanılarak araştırıldı.
- 2- Hipergliseminin optik sinir üzerindeki etkilerini stereolojik yöntemlerle incelediğimizde, miyelinli akson sayısının DM grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir. Bu sonuca göre diyabet, optik sinirde miyelinli sinir lifi sayısında azalmaya neden olmaktadır.
- 3- Sham, DK1 ve DK3 gruplarının sahip oldukları miyelinli akson sayıları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre anlamlı derecede az sayıda sinir lifine sahip oldukları gözlenmiştir. Sham grubunda görülen lif sayısındaki azalma, gavaj uygulaması sonucunda oluşan stresin neden olabileceğini düşündürmektedir.
- 4- Cur grubundaki toplam miyelinli akson sayısı, kontrol grubundaki akson sayısı ile karşılaştırıldığında, her iki grup arasında anlamlı bir farkın olmadığı gözlemlendi. Bu durum çalışmada kullanılan kurkumin dozunun miyelinli akson sayısı üzerinde herhangi bir toksik etkisinin olmadığını göstermiştir.
- 5- Diyabetin uzun dönem etkilerini incelemek için kurguladığımız DK2 grubundaki miyelinli akson sayısı (tek doz 50 mg/kg STZ, 21 gün sonrasında 30 mg kurkumin/gün 14 boyunca), DK1, DK3 ve DM gruplarına kıyasla anlamlı derecede bir artış göstermiştir. Bu sonuç, diyabetin ileri evresinde (başlangıcından 21 gün sonra) hipergliseminin olumsuz etkilerine karşı kurkuminin sinir lifi sayısı bakımından koruyucu bir özellikte olduğunu düşündürmektedir.
- 6- DM grubunun miyelinli akson alanı, kontrol ve Sham grubunun aynı parametresi ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede bir azalma göstermiştir. Ayrıca kurkumin grubunda sinir lifi kesitsel alanının, kontrol grubuna göre

daha küçük olduğu gözlendi. Bu sonuç, kullanılan kurkumin dozunun, sinir lifi çapında azalmaya yani lifte bir büzüşmeye neden olduğunu düşündürmektedir. Gruplar arasında miyelin kılıf kalınlığı verileri bakımından anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

- 7- İnce yapı analizlerimizden elde edilen sonuçlar, diyabetin miyelin kılıf kalınlığında ve akson alanında oluşturduğu değişiklikleri kurkuminin iyileştirdiğini göstermiştir.
- 8- Histopatolojik bulgularımız, diyabetin miyelin kılıf ve aksonda orta ve ciddi düzeyde dejenerasyona, aksonal kayıplara, akson-miyelin arasında ayrılmalara, vakuol sayında artışa, astrositik septalarda bozulmalara neden olduğunu göstermiştir.
- 9- Histopatolojik bulgularımız, DK2 grubunda kurkuminin, DK1 ve DK3 gruplarına kıyasla miyelin kılıf disorganizasyonunu ve akson alanını iyileştirdiğini göstermiştir.
- 10- Sistemik uygulanan kurkuminin (30 mg/kg) dozuyla gerçekleşen olumlu etkiler olsa da diyabetin oluşturduğu hasarı yeterince giderememesi nedeniyle yeni doz düzenleme çalışmalarına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Acar M, Karacalar A, Ayyildiz M, Unal B, Canan S, Agar E, Kaplan S. The effect of autogenous vein grafts on nerve repair with size discrepancy in rats: an electrophysiological and stereological analysis. *Brain Res* 2008; 1198:171-181.
- ADA. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2018; 41(1):13–27.
- ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2014; 37(1): 81–90.
- Aiello LP, Gardner TW, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, Ferris FL 3rd, Klein R. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1998; 21(1):143-156.
- Alberghina M. Metabolic correlates and axonal transport in nerves during experimental diabetes. *Metab Pediatr Syst Ophthalmol* 1986; 9(2-4): 42-46.
- Alemán R, Mompeó B, Castaño I. Streptozotocin-induced diabetes, and the optic nerve blood barrier. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2016; 91(4):170-176.
- Aleman-Flores R, Mompeo-Corredera B, Ortega-Santana F, Limiñana-Cañal JM, Castaño-Gonzalez I. Optic nerve fibers and experimental diabetes. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2000; 75: 315–320.
- Aleman-flores R, Mompeo-corredera B. Glial cells and retinal nerve fibers morphology in the optic nerves of streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *J Ophthalmic Vis Res* 2018; 13(4): 433-438.
- Ali MM, Agha FG. Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopene. *Scand J Clin Lab Invest* 2009; 69(3): 371-379.
- Allegri P, Mastromarino A, Neri P. Management of chronic anterior uveitis relapses: efficacy of oral phospholipidic curcumin treatment. Long-term follow-up. *Clin Ophthalmol* 2010; 4:1201-1206.
- Altunkaynak BZ, Onger ME, Altunkaynak ME, Ayranci E, Canan S. A brief introduction to stereology and sampling strategies: Basic concepts of stereology. *Neuroquantology* 2012;10: 31-43.
- Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of curcuma longa. *Planta Med* 1991; 57(1):1-7.
- Ari S, Keklikci U, Caca I, Unlu K, Kayabasi H. wolfram syndrome: case report and review of literature. *Ann Ophthalmol* 2007; 19:1-3.
- Arun N, Nalini N. Efficacy of turmeric on blood sugar and polyol pathway in diabetic albino rats. *Plant Foods Hum Nutr* 2002; 57(1):41-52.

- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014: 360438.
- Bala K, Tripathy BC, Sharma D. Neuroprotective and anti-ageing effects of curcumin in aged rat brain regions. *Biogerontology* 2006; 7(2): 81-89.
- Barber AJ, Gardner TW, Abcouwer SF. The significance of vascular and neural apoptosis to the pathology of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(2): 1156-1163.
- Baumann N, Pham-dinh D. Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiol Rev* 2001; 81(2):871-927.
- Baydas G, Nedzvetskiib VS, Nerushc PA, Kirichenkob SV, Yoldasd T. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Life Sci* 2003; 73: 1907–1916.
- Baynes H. Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *J Diabetes Metab* 2015; 06(5): 2-2.
- Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405–412.
- Belforte N, Sande P, de Zavalía N, Knepper PA, Rosenstein RE. Effect of chondroitin sulfate on intraocular pressure in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51:5768–5775.
- Berry S, Lin WV, Sadaka A, Lee AG. Nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy: Cause, effect, and management. *Eye Brain* 2017; 9: 23-28.
- Bimonte S, Barbieri A, Palma G, Rea D, Luciano A, D’Aiuto M, Arra C, Izzo F. Dissecting the role of curcumin in tumour growth and angiogenesis in mouse model of human breast cancer. *Biomed Res Int* 2015; 2015:878134.
- Bondan EF, Lallo MA, Trigueiro AH, Ribeiro CP, Sinhorini IL, Graça DL. Delayed Schwann cell and oligodendrocyte remyelination after ethidium bromide injection in the brainstem of Wistar rats submitted to streptozotocin diabetogenic treatment. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39(5): 637-646.
- Boulton AJ, Kempner P, Ametov A, Ziegler D. Whither pathogenetic treatments for diabetic polyneuropathy? *Diabetes Metab Res Rev* 2013; 29(5): 327-333.
- Brouet I and Ohshima H. Curcumin, an anti-tumor promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 206(2): 533-540.

- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813–820.
- Bui BV, Loeliger M, Thomas M, Vingrys AJ, Rees SM, Nguyen CT, He Z, Tolcos M. Investigating structural and biochemical correlates of ganglion cell dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Exp Eye Res* 2009; 88(6): 1076-1083.
- Cai L, Kang YJ. Cell death and diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Toxicol* 2003; 3: 219–228.
- Calcutt NA, Cooper ME, Kern TS, Schmidt AM. Therapies for hyperglycaemia-induced diabetic complications: From animal models to clinical trials. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8(5): 417-429.
- Carrington AL, Litchfield JE. The aldose reductase pathway and nonenzymatic glycation in the pathogenesis of diabetic neuropathy: A critical review for the end of the 20th century. *Diabet Rev* 1999; 7(4): 275-299.
- Catanzaro O, Capponi JA, Michieli J, Labal E, Di martino I, Sirois P. Bradykinin B₁ antagonism inhibits oxidative stress and restores Na⁺K⁺ATPase activity in diabetic rat peripheral nervous system. *Peptides* 2013; 44:100-104.
- Catanzaro OL, Capponi JA, Di martino I, Labal ES, Sirois P. Oxidative stress in the optic nerve and cortical visual area of streptozotocin-induced diabetic Wistar rats: Blockade with a selective bradykinin B receptor antagonist. *Neuropeptides* 2017; 66: 97-102.
- Chen M, Hu DN, Pan Z, Lu CW, Xue CY, Aass I. Curcumin protects against hyperosmoticity-induced IL-1 β elevation in human corneal epithelial cell via MAPK pathways. *Exp Eye Res* 2010; 90(3): 437-443.
- Chin D, Huebbe P, Frank J, Rimbach G, Pallauf K. Curcumin may impair iron status when fed to mice for six months. *Redox Biol* 2014; 2:563-569.
- Chrysostomou V, Rezania F, Trounce IA, Crowston JG. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. *Curr Opin Pharmacol* 2013; 13(1):12-15.
- Chuengsamarn S, Rattanamongkolgul S, Luechapudiporn R, Phisalaphong C, Jirawatnotai S. Curcumin extract for prevention of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2012; 35(11): 2121-2127.
- Chung SH, Choi SH, Choi JA, Chuck RS, Joo CK. Curcumin suppresses ovalbumin-induced allergic conjunctivitis. *Mol Vis* 2012; 18: 1966-1972.
- Connor JR, Snyder BS, Beard JL, Fine RE, Mufson EJ. Regional distribution of iron and iron-regulatory proteins in the brain in aging and Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 1992;31(2):327-335.

- Craig ME, Hattersley A, Donaghue KC. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2009;10(12):3–12.
- Creager MA, Lüscher TF, Cosentino F, Beckman JA. Diabetes and vascular disease: Pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. *Circulation* 2003;108(12):1527-1532.
- Cruz-Orive LM. Stereology of single objects. *J Microsc* 1997; 186: 93–107.
- Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Saydah S, Imperatore G, Linder B, Divers J, Bell R, Badaru A, Talton JW, Crume T, Liese AD, Merchant AT, Lawrence JM, Reynolds K, Dolan L, Liu LL, Hamman RF. Search for diabetes in youth study. *JAMA* 2014; 311(17): 1778-1786.
- Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, Copeman JB, Cordell HJ, Pritchard LE, Reed PW, Gough SC, Jenkins SC, Palmer SM. A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature* 1994; 371:130–136.
- DeHoff RT. Probes, populations, samples, measurements and relations in stereology. *Image Anal Stereol* 2000; 19: 1–18.
- De Moraes CG. Anatomy of the visual pathways. *J Glaucoma* 2013; 22(5): 2-7.
- Demir N, Akkoyunlu G, Yargicoglu P, Agar A, Tanriöver G, Demir R. Fiber structure of optic nerve in cadmium-exposed diabetic rats: An ultrastructural study. *Int J Neurosci* 2003;113(3):323-337.
- Devendra D, Liu E, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: recent developments. *BMJ* 2004; 328(7442):750–754.
- Dorfman D, Aranda ML, Rosenstein RE. Enriched environment protects the optic nerve from early diabetes-induced damage in adult rats. *PLoS ONE* 2015;10(8): e0136637.
- Draznin B. Molecular mechanisms of insulin resistance: Serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and increased expression of p85alpha: The two sides of a coin. *Diabetes* 2006;55(8):2392-2397.
- Du XL, Edelstein D, Rossetti L, Fantus IG, Goldberg H, Ziyadeh F, Wu J, Brownlee M. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(22): 12222-12226.
- Dyck PJ, Lambert EH, Windebank AJ, Lais AA, Sparks MF, Karnes J, Sherman WR, Hallcher LM, Low PA, Service FJ. Acute hyperosmolar hyperglycemia causes axonal shrinkage and reduce nerve conduction velocity. *Exp Neurol* 1981; 71: 507-514.

- Ebenezer GJ, McArthur JC, Thomas D, Murinson B, Hauer P, Polydefkis M, Griffin JW. Denervation of skin in neuropathies: The sequence of axonal and Schwann cell changes in skin biopsies. *Brain* 2007; 130(10): 2703-2714.
- Eichberg J. Protein kinase C changes in diabetes: Is the concept relevant to neuropathy? *Int Rev Neurobiol* 2002; 50: 61–82.
- Farese RV. Insulin-sensitive phospholipid signaling systems and glucose transport. Update II. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001; 226(4): 283-295.
- Feldman EL, Nave KA, Jensen TS, Bennett DLH. New horizons in diabetic neuropathy: Mechanisms, bioenergetics, and pain. *Neuron* 2017; 93(6):1296-1313.
- Fernandez DC, Pasquini LA, Dorfman D, Aldana Marcos HJ, Rosenstein RE. Early distal axonopathy of the visual pathway in experimental diabetes. *Am J Pathol* 2012; 180: 303–313.
- Fernyhough P. Mitochondrial dysfunction in diabetic neuropathy: A series of unfortunate metabolic events. *Curr Diab Rep* 2015; 15(11): 89.
- Fernyhough P, McGavock J. Mechanisms of disease: Mitochondrial dysfunction in sensory neuropathy and other complications in diabetes. *Handb Clin Neurol* 2014; 126: 353-377.
- Flores RA, Corredera MB, Santana OF, Liminana Canal JM, Gonzalez IC. Optic nerve fibers and experimental diabetes. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2000; 75: 315–320.
- Fong DS, Aiello L, Gardner TW, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, Ferris FL, Klein R. Retinopathy in diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27:84-87.
- Forbes J, Cooper M. Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev* 2013; 93(1): 137-188.
- Fowler MJ. Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clin Diabetes* 2008; 26(2): 77-82.
- Fukui Y, Hayasaka S, Bedi KS, Ozaki HS, Takeuchi Y. Quantitative study of the development of the optic nerve in rats reared in the dark during early postnatal life. *J Anat* 1991; 174: 37–47.
- Gastinger MJ, Barber AJ, Khin SA, McRill CS, Gardner TW, Marshak DW. Abnormal centrifugal axons in streptozotocin-diabetic rat retinas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42(11): 2679–2685.
- Geraldes P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res* 2010; 106: 1319–1331.

- Geuna S, Gigo-benato D, Rodrigues Ade C. On sampling and sampling errors in histomorphometry of peripheral nerve fibers. *Microsurgery* 2004;24(1):72-76.
- Geuna S, Raimondo S, Fornaro M, Robecchi MG. Morpho-quantitative stereological analysis of peripheral and optic nerve fibers. *Neuroquantology* 2012; 10(1): 76-86.
- Gkogkolou P, Böhm M. Advanced glycation end products: Key players in skin aging? *Dermatoendocrinol.* 2012; 4(3): 259-270.
- Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol* 2008; 75(4): 787-809.
- Goodwin, PC, Johnson, B, Frevert, CW. Microscopy, immuno-histochemistry, digital imaging, and quantitative microscopy. Treuting PM, Dintzis SM, Montine KS, editors. *Comparative Anatomy and Histology A Mouse, Rat, and Human Atlas*, 2nd Ed., London, Academic Press, an imprint of Elsevier 2018; 53–66.
- Grama CN, Suryanarayana P, Patil MA, Raghu G, Balakrishna N, Kumar MNVR, Reddy GB. Efficacy of biodegradable curcumin nanoparticles in delaying cataract in diabetic rat model. *PLoS One* 2013; 8(10): e78217.
- Griffiths I, Klugmann M, Anderson T, Klugmann M, Anderson T, Yool D, Thomson C, Schwab MH, Schneider A, Zimmermann F, McCulloch M, Nadon N, Nave KA. Axonal swellings and degeneration in mice lacking the major proteolipid of myelin. *Science* 1998; 280(5369): 1610-1613.
- Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, Mitch W, Smith SC Jr, Sowers JR. Diabetes and Cardiovascular Disease. *Circulation* 1999; 100(10): 1134-1146.
- Gundersen HJ. Estimators of the number of objects per area unbiased by edge effects. *Microsc Acta* 1978; 81(2): 107-117.
- Gundersen HJ. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: The edge effect. *J Microsc* 1977; 111: 219-223.
- Gundersen HJ. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *J Microsc* 1986; 143(1): 3-45.
- Gupta SC, Patchva S, Aggarwal BB. Therapeutic roles of curcumin: Lessons learned from clinical trials. *AAPS J* 2013; 15(1): 195-218.
- Hari kumar KV, Ahmad FM, Sood S, Mansingh S. Visual evoked potential to assess retinopathy in gestational diabetes mellitus. *Can J Diabetes* 2016; 40(2): 131-134.

- Hayreh S. Structure of the optic nerve. In: Ischemic optic neuropathies. Berlin, Springer. 2011: 7–34.
- Heravian J, Ehyaei A, Shoeibi N, Azimi A, Moghaddam HO, Yekta AA, Khoshsima MJ, Esmaily H. Pattern visual evoked potentials in patients with type II diabetes mellitus. *J Ophthalmic Vis Res* 2012; 7(3): 225-230.
- Himori N, Yamamoto K, Maruyama K, Ryu M, Taguchi K, Yamamoto M, Nakazawa T. Critical role of Nrf2 in oxidative stress-induced retinal ganglion cell death. *J Neurochem* 2013; 127(5): 669-680.
- Hoffman PN, Griffin JW. The control of axonal caliber. Dyck PJ, Thomas PK, editors. *Peripheral Neuropathy*. Philadelphia: WB Saunders, 1993: 389-402.
- Hosseini A, Abdollahi M. Diabetic neuropathy and oxidative stress: therapeutic perspectives. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013: 1–15.
- Howard V, Reed M. Stereology-geometrical quantification in 3D, *Unbiased Stereology, Three-Dimensional Measurement in Microscopy*. Garland Science, 2nd Ed., London, Garland Science 2004; 7.
- Huang J, Huang K, Lan T, Xie X, Shen X, Liu P, Huang H. Curcumin ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting the activation of the SphK1-S1P signaling pathway. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 365(2): 231-240.
- International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas, 9th edn*. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2019.
- Jackson GR, Barber AJ. Visual dysfunction associated with diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep* 2010; 10(5): 380-384.
- Jung KK, Lee HS, Cho JY, Shin WC, Rhee MH, Kim TG, Kang JH, Kim SH, Hong S, Kang SY. Inhibitory effect of curcumin on nitric oxide production from lipopolysaccharide-activated primary microglia. *Life Sci* 2006; 79(21): 2022-2031.
- Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, Boyko EJ, Bergman RN, Schwartz MW, Neifing JL, Ward WK, Beard JC, Palmer JP. Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects evidence for a hyperbolic function. *Diabetes* 1993; 42: 1663–1672.
- Kaminaga Y, Nagatsu A, Akiyama T, Sugimoto N, Yamazaki T, Maitani T, Mizukami H. Production of unnatural glucosides of curcumin with drastically enhanced water solubility by cell suspension cultures of *Catharanthus roseus*. *FEBS Lett* 2003; 555(2): 311-316.

- Kandhare AD, Raygude KS, Ghosh P, Ghule AE, Bodhankar SL. Neuroprotective effect of naringin by modulation of endogenous biomarkers in streptozotocin induced painful diabetic neuropathy. *Fitoterapia* 2012; 83(4): 650-659.
- Kang G, Kong PJ, Yuh YJ, Lim SY, Yim SV, Chun W, Kim SS. Curcumin suppresses lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression by inhibiting activator protein 1 and nuclear factor kappaB bindings in BV2 microglial cells. *J Pharmacol Sci* 2004; 94(3): 325-328.
- Kaplan S, Canan S, Altunkaynak ME, Odaci E, Aslan H, Unal B. An unbiased way to estimate total quantities: The fractionator technique. *Neuroquantology* 2012a;10: 54-65.
- Kaplan S, Eşrefoglu M, Aktaş A, Gül M, Onger ME, Altunkaynak ME, Ulkay MB, Ragbetli MÇ. The effect of prenatal exposure of a non-steroidal anti-inflammatory drug on the optic nerve of female rats: a stereological, histological, and electron microscopic study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013;26(18):1860- 1864.
- Kaplan S, Geuna S, Ronchi G, Ulkay MB, Von bartheld CS. Calibration of the stereological estimation of the number of myelinated axons in the rat sciatic nerve: a multicenter study. *J Neurosci Methods* 2010; 187(1): 90-99.
- Kaplan S, Odaci E, Canan S, Onger ME, Aslan H, Unal B. The disector counting technique. *Neuroquantology* 2012b;10: 44-53.
- Kase S, Ishida S, Rao NA. Increased expression of α A-crystallin in human diabetic eye. *Int J Mol Med* 2011; 28(4): 505-511.
- Kato M, Nishikawa S, Ikehata A, Dochi K, Tani T, Takahashi T, Imaizumi A, Tsuda T. Curcumin improves glucose tolerance via stimulation of glucagon-like peptide-1 secretion. *Mol Nutr Food Res* 2017; 61(3): 1600471.
- Kempen JH, O'Colmain BJ, Leske MC, Haffner SM, Klein R, Moss SE, Taylor HR, Hamman RF. The prevalence of diabetic retinopathy among adults in the United States. *Arch Ophthalmol* 2004; 122(4): 552-563.
- Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes* 2015; 6(6): 850-867.
- Kim C, Newton KM, Knopp RH. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: A systematic review. *Diabetes Care* 2002; 25: 1862–1868.
- Kim HY, Park EJ, Joe EH, Jou I. Curcumin suppresses Janus kinase-STAT inflammatory signaling through activation of Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase 2 in brain microglia. *J Immunol* 2003; 171(11): 6072-6079.
- Kubo E, Urakami T, Fatma N, Akagi Y, Singh DP. Polyol pathway-dependent osmotic and oxidative stresses in aldose reductase-mediated apoptosis in human lens

- epithelial cells: role of AOP2. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 314: 1050-1056.
- Kuhad A, Chopra K. Curcumin attenuates diabetic encephalopathy in rats: behavioral and biochemical evidences. *Eur J Pharmacol* 2007; 576(1-3): 34-42.
- Kuhlmann T, Lingfeld G, Bitsch A, Schuchardt J, Brück W. Acute axonal damage in multiple sclerosis is most extensive in early disease stages and decreases over time. *Brain* 2002; 125(10): 2202-2212.
- Kumar PA, Haseeb A, Suryanarayana P, Ehtesham NZ, Reddy GB. Elevated expression of alphaA- and alphaB-crystallins in streptozotocin-induced diabetic rat. *Arch Biochem Biophys* 2005b; 444(2): 77-83.
- Kumar PA, Suryanarayana P, Reddy PY, Reddy GB. Modulation of alpha-crystallin chaperone activity in diabetic rat lens by curcumin. *Mol Vis* 2005a; 11: 561-568.
- Kumar PJ, Clark M. *Textbook of Clinical Medicine*. 8th Edition, Saunders, London, UK. 2002;1099-1121.
- Lauria G, Morbin M, Lombardi R, Borgna M, Mazzoleni G, Sghirlanzoni A, Pareyson D. Axonal swellings predict the degeneration of epidermal nerve fibers in painful neuropathies. *Neurology* 2003; 61: 631–636.
- Lennertz RC, Medler KA, Bain JL, Wright DE, Stucky CL. Impaired sensory nerve function and axon morphology in mice with diabetic neuropathy. *J Neurophysiol* 2011; 106(2): 905–914.
- Li J, O W, Li W, Jiang ZG, Ghanbari HA. Oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Int J Mol Sci* 2013; 14(12): 24438-24475.
- Li P, Yang Y. Pattern reversal visual evoked potentials analysis in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2001; 26(3): 283-284.
- Liu XF, Hao JL, Xie T, Mukhtar NJ, Zhang W, Malik TH, Lu CW, Zhou DD. Curcumin, a potential therapeutic candidate for anterior segment eye diseases: A review. *Front Pharmacol* 2017; 8: 66.
- Long P, Wan G, Roberts MT, Corfas G. Myelin development, plasticity, and pathology in the auditory system. *Dev Neurobiol* 2017; 78(2): 80–92.
- Losiewicz MK, Fort PE. Diabetes impairs the neuroprotective properties of retinal alpha-crystallins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(9): 5034-5042.
- Love S, Cruz-höfling MA, Duchon LW. Morphological abnormalities in myelinated nerve fibres caused by Leiurus, Centruroides and Phoneutria venoms and their prevention by tetrodotoxin. *Q J Exp Physiol* 1986; 71(1): 115-122.

- Lu CW, Hao JL, Yao L, Li HJ, Zhou DD. Efficacy of curcumin in inducing apoptosis and inhibiting the expression of VEGF in human pterygium fibroblasts. *Int J Mol Med* 2017; 39(5): 1149-1154.
- Maahs DM, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39(3):481–497.
- Madsen-bouterse SA, Kowluru RA. Oxidative stress and diabetic retinopathy: pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Rev Endocr Metab Disord* 2008; 9(4): 315-327.
- Maiti P, Dunbar GL. Use of Curcumin, a Natural Polyphenol for Targeting Molecular Pathways in Treating Age-Related Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci* 2018; 19(6): 1637-1637.
- Maiti P, Hall TC, Paladugu L, Kolli N, Learman C, Rossignol J, Dunbar GL. A comparative study of dietary curcumin, nanocurcumin, and other classical amyloid-binding dyes for labeling and imaging of amyloid plaques in brain tissue of 5×-familial Alzheimer's disease mice. *Histochem Cell Biol* 2016; 146(5): 609-625.
- Malcangio M, Tomlinson DR. A pharmacologic analysis of mechanical hyperalgesia in streptozotocin/diabetic rats. *Pain* 1998; 76(1-2): 151-157.
- Malone JJ. Diabetic Central Neuropathy: CNS Damage Related to Hyperglycemia. *Diabetes* 2016; 65(2): 355-357.
- Manikandan R, Thiagarajan R, Beulaja S, Chindhu S, Mariammal K, Sudhandiran G, Arumugam M. Anti-cataractogenic effect of curcumin and aminoguanidine against selenium-induced oxidative stress in the eye lens of Wistar rat pups: An in vitro study using isolated lens. *Chem Biol Interact* 2009; 181(2): 202-209.
- Manikandan R, Thiagarajan R, Beulaja S, Sudhandiran G, Arumugam M. Effect of curcumin on selenite-induced cataractogenesis in Wistar rat pups. *Curr Eye Res* 2010; 35(2): 122-129.
- Matough FA, Budin SB, Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos Univ Med J* 2012; 12(1): 5-18.
- Miller NR, Arnold AC. Current concepts in the diagnosis, pathogenesis and management of nonarteritic anterior ischaemic optic neuropathy. *Eye* 2015; 29(1): 65-79.
- Moore K, Persaud T, Torchia M. Development of Eyes and Ears. The developing human. 10th ed. Philadelphia, Elsevier, 2016; 417-419.

- Moreno MC, Marcos HJ, Oscar Croxatto J, Sande PH, Campanelli J, Jaliffa CO, Benozzi J, Rosenstein RE. A new experimental model of glaucoma in rats through intracameral injections of hyaluronic acid. *Exp Eye Res* 2005; 81: 71-80.
- Moreo G, Mariani E, Pizzamiglio G, Colucci GB. Visual evoked potential in NIDDM: A longitudinal study. *Diabetologia* 1995; 38: 573-576.
- Morrison BM, Lee Y, Rothstein JD. Oligodendroglia: Metabolic supporters of axons. *Trends Cell Biol* 2013; 23(12): 644-651.
- Myers RR, Powell HC. Galactose neuropathy: Impact of chronic endoneurial edema on nerve blood flow. *Ann Neurol* 1984; 16(5): 587-594.
- Nahdi AMTA, John A, Raza H. Elucidation of Molecular Mechanisms of Streptozotocin-Induced Oxidative Stress, Apoptosis, and Mitochondrial Dysfunction in Rin-5F Pancreatic- Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:7054272.
- Nakamura M, Kanamori A, Negi A. Diabetes mellitus as a risk factor for glaucomatous optic neuropathy. *Ophthalmologica* 2005; 219(1): 1-10.
- Nasrallah Z, Robinson W, Jackson GR, Barber AJ. Measuring visual function in diabetic retinopathy: Progress in basic and clinical research. *J Clin Exp Ophthalmol* 2013; 4: 306.
- Niedowicz DM, Daleke DL. The role of oxidative stress in diabetic complications. *Cell Biochem Biophys* 2005; 43: 289–330.
- Oates PJ. Aldose reductase, still a compelling target for diabetic neuropathy. *Curr Drug Targets* 2008; 9(1): 14-36.
- Oberley LW. Free radicals and diabetes. *Free Radic Biol Med* 1988; 5: 113–124.
- Obrosova IG. Increased sorbitol pathway activity generates oxidative stress in tissue sites for diabetic complications. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 1543-1552.
- Ochodnická E, Ochdnický M, Belej K, Fuseková E, Bosel'ová L. Quantitative analysis of myelinated nerve fibers of peripheral nerve in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Mol Chem Neuropathol* 1995; 25(2-3): 225-233.
- Okutan H, Ozcelik N, Yilmaz HR, Uz E. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. *Clin Biochem* 2005; 38: 191–196.
- Ormazabal V, Nair S, Elfeky O, Aguayo C, Salomon C, Zuñiga FA. Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol* 2018; 17(1): 122.

- Ozkaya YG, Agar A, Yargicoglu P, Hacıoglu G, Bilmen-Sarikcioglu S, Ozen I, Alicigüzel Y. The effect of exercise on brain antioxidant status of diabetic rats. *Diabetes Metab* 2002; 28: 377–384.
- Ozturk Y, Altan VM, Yildizoğlu-ari N. Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol Rev* 1996; 48(1): 69-112.
- Önder F. Diabetik optik nöropatiler. *Ret-Vit Özel Sayı* 2014; 22: 170-173.
- Önger ME. Obez ve nonobez ratlarda bazı nöroprotektif maddelerin periferik sinir rejenerasyonuna etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Doktora Tezi*, 2003; 35-39.
- Pakkenberg B, Gundersen HJ. Neocortical neuron number in humans: effect of sex and age. *J Comp Neurol* 1997; 384(2): 312-320.
- Pan MH, Huang TM, Lin JK. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metab Dispos* 1999; 27(4): 486-494.
- Peterson JW, Bo L, Mork S, Chang A, Trapp BD. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001; 50: 389–400.
- Pérez-torres I, Ruiz-ramírez A, Baños G, El-hafidi M. Hibiscus sabdariffa Linnaeus (Malvaceae), curcumin and resveratrol as alternative medicinal agents against metabolic syndrome. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2013; 11(1): 25-37.
- Powell HC, Myers RR. Schwann cell changes and demyelination in chronic galactose neuropathy. *Muscle Nerve* 1983; 6(3): 218-227.
- Prasad S, Gupta SC, Tyagi AK, Aggarwal BB. Curcumin, a component of golden spice: From bedside to bench and back. *Biotechnol Adv* 2014; 32(6): 1053-1064.
- Quigley HA, Miller NR, Green WR. The pattern of optic nerve fiber loss in anterior ischemic optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 1985; 100(6): 769-776.
- Radha A, Devi Rukhmini S, Vilasini S, Rajan Sakunthala P, Sreedharan B, Puzhavorparambil Velayudhan M, Abraham A. Bioactive derivatives of curcumin attenuate cataract formation in vitro. *Chem Biol Drug Des* 2012; 80(6): 887-892.
- Raimondo S, Fornaro M, Di scipio F, Ronchi G, Giacobini-robecchi MG, Geuna S. Chapter 5: Methods and protocols in peripheral nerve regeneration experimental research: part II-morphological techniques. *Int Rev Neurobiol* 2009; 87: 81-103.
- Rao BS, Reddy KE, Parveen K, Narendra BL, Shekhar SC, Mangala L. Effects of Cleome viscosa on hyperalgesia, oxidative stress and lipid profile in STZ induced diabetic neuropathy in Wistar rats. *Pak J Pharm Sci* 2014; 27(5): 1137-1145.

- Remington, LA. Visual Pathway. Remington, LA, editor. *Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System*. 3rd ed. Elsevier, 2012; 233–252.
- Ritz E, Orth SR. Nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1999; 341(15): 1127-1133.
- Rootman J, Butler D. Ischaemic optic neuropathy--a combined mechanism. *Br J Ophthalmol* 1980; 64(11): 826-831.
- Ryle C, Donaghy, M. Non-enzymatic glycation of peripheral nerve proteins in human diabetics. *J Neurol Sci* 1995;129(1): 62-68.
- Sadun AA. *Anatomy and Physiology*. Yanoff M, Duker JS, editors, *Ophthalmology*, 4th ed, Elsevier 2014; 866-868e1.
- Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; 414(6865): 799-806.
- Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL, McCullough PA, Kasiske BL, Kelepouris E, Klag MJ, Parfrey P, Pfeffer M, Raij L, Spinosa DJ, Wilson PW. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease. *Hypertension* 2003; 42(5): 1050-1065.
- Sasaki H, Sunagawa Y, Takahashi K, Imaizumi A, Fukuda H, Hashimoto T, Wada H, Katanasaka Y, Kakeya H, Fujita M, Hasegawa K, Morimoto T. Innovative preparation of curcumin for improved oral bioavailability. *Biol Pharm Bull* 2011; 34: 660e5.
- Schmidt RE, Beaudet LN, Plurad SB, Dorsey DA. Axonal cytoskeletal pathology in aged and diabetic human sympathetic autonomic ganglia. *Brain Res* 1997; 769(2): 375-383.
- Schneider A, Hossain I, VanderMolen J, Nicol K. Comparison of remicade to curcumin for the treatment of Crohn's disease: A systematic review. *Complement Ther Med*. 2017;33:32- 38.
- Sharma S, Kulkarni SK, Agrewala JN, Chopra K. Curcumin attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 2006; 536(3): 256-261.
- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 87(1): 4-14.
- Shehzad A, Lee YS. Curcumin: Multiple molecular targets mediate multiple pharmacological actions a review. *Drug Future* 2010; 35(2): 113-119.

- Sima AA, Lorusso AC, Thibert P. Distal symmetric polyneuropathy in the spontaneously diabetic BB-wistar rat. An ultrastructural and teased fiber study. *Acta Neuropathol* 1982; 58(1): 39-47.
- Simó R, Hernández C. Neurodegeneration in the diabetic eye: New insights and therapeutic perspectives. *Trends Endocrinol Metab* 2014; 25(1): 23-33.
- Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: A review. *Diabetologia* 2001; 44:129-146.
- Singh R, Kishore L, Kaur N. Diabetic peripheral neuropathy: Current perspective and future directions. *Pharmacol Res* 2014; 80: 21-35.
- Singleton JR, Smith AG. The diabetic neuropathies: practical and rational therapy. *Semin Neurol* 2012; 32(3): 196-203.
- Smith KJ, Kapoor R, Hall SM, Davies M. Electrically active axons degenerate when exposed to nitric oxide. *Ann Neurol* 2001; 49: 470-476.
- Sridharan G, Shankar AA. Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility. *J Oral Maxillofac Pathol* 2012; 16(2): 251-255.
- Srinivasan KR. A chromatographic study of the curcuminoids in *Curcuma longa*, L. *J Pharm Pharmacol* 1953; 5(7): 448-457.
- Stahl WL. The Na, K-ATPase of nervous tissue. *Neurochem Int* 1986; 8(4): 449-476.
- Steiger TK, Weiskopf N, Bunzeck N. Iron level and myelin content in the ventral striatum predict memory performance in the aging brain. *J Neurosci* 2016; 36(12): 3552-3558.
- Sugimoto T, Fukuda Y, Wakakuwa K. Quantitative analysis of a cross-sectional area of the optic nerve: A comparison between albino and pigmented rats. *Exp Brain Res* 1984; 54(2): 266-274.
- Sugimura K, Windebank AJ, Natarajan V, Lambert EH, Schmid HO, Dyck PJ. Interstitial hyperosmolarity may cause axis cylinder shrinkage in streptozotocin diabetic nerve. *J Neuropathol Exp Neurol* 1980; 39: 710-721.
- Suryanarayana P, Saraswat M, Mrudula T, Krishna TP, Krishnaswamy K, Reddy GB. Curcumin and turmeric delay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46(6): 2092-2099.
- Suryanarayana P, Satyanarayana A, Balakrishna N, Kumar PU, Reddy GB. Effect of turmeric and curcumin on oxidative stress and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat. *Med Sci Monit* 2007; 13(12): 286-292.

- Tesser RA, Niendorf ER, Levin LA. The morphology of an infarct in nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Ophthalmology* 2003; 110(10): 2031-2035.
- Thornalley PJ. Glycation in diabetic neuropathy: Characteristics, consequences, causes, and therapeutic options. *Int Rev Neurobiol* 2002; 50: 37-57.
- Tiwari SK, Agarwal S, Seth B, Yadav A, Nair S, Bhatnagar P, Karmakar M, Kumari M, Chauhan LK, Patel DK, Srivastava V, Singh D, Gupta SK, Tripathi A, Chaturvedi RK, Gupta KC. Curcumin-loaded nanoparticles potently induce adult neurogenesis and reverse cognitive deficits in Alzheimer's disease model via canonical Wnt/ β -catenin pathway. *ACS Nano* 2014; 8(1): 76-103.
- Tomlinson KC, Gardiner SM, Hebden RA, Bennett T. Functional consequences of streptozotocin-induced diabetes mellitus, with particular reference to the cardiovascular system. *Pharmacol Rev* 1992; 44(1): 103-150.
- Trujillo J, Granados- Castro LF, Zazueta C, Andérica- Romero AC, Chirino YI, Pedraza- Chaverri J. Mitochondria as a target in the therapeutic properties of curcumin. *Archiv der Pharmazie* 2014; 347(12): 873-884.
- Urano F. Wolfram Syndrome: diagnosis, management, and treatment. *Curr Diab Rep* 2016; 16(1): 6.
- Vermeulen I, Weets I, Asanghanwa M, Ruige J, Van Gaal L, Mathieu C, Keymeulen B, Lampasona V, Wenzlau JM, Hutton JC, Pipeleers DG, Gorus FK, Belgian diabetes registry. *Diabetes Care* 2011; 34(8): 1760-1765.
- Visnagri A, Kandhare AD, Chakravarty S, Ghosh P, Bodhankar SL. Hesperidin, a flavanoglycone attenuates experimental diabetic neuropathy via modulation of cellular and biochemical marker to improve nerve functions. *Pharm Biol* 2014; 52(7): 814-828.
- Volak LP, Ghirmai S, Cashman JR, Court MH. Curcuminoids inhibit multiple human cytochromes P450, UDP-glucuronosyltransferase, and sulfotransferase enzymes, whereas piperine is a relatively selective CYP3A4 inhibitor. *Drug Metab Dispos* 2008; 36(8): 1594-1605.
- Wang P, Su C, Feng H, Chen X, Dong Y, Rao Y, Ren Y, Yang J, Shi J, Tian J, Jiang S. Curcumin regulates insulin pathways and glucose metabolism in the brains of APP^{swe}/PS1^{dE9} mice. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2017; 30(1): 25-43.
- Weibel ER. *Stereological Methods: Practical methods for biological morphometry*. Academic Press, London. 1979;1.
- WHO 2006. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia: report of a WHO/IDF consultation. Geneva: World Health Organization. <http://www.who.int/iris/handle/10665/43588>, 2020.

- WHO 2016. Global report on diabetes. World Health Organization. <http://www.who.int/iris/handle/10665/204871>, 2020.
- Wilks T, Harvey A, Rodger J. Seeing with Two Eyes: Integration of Binocular Retinal Projections in the Brain. Signorelli F, Chirchiglia D, editors. Functional Brain Mapping and the Endeavor to Understand the Working Brain. Rijeka, Croatia, In Tech 2013; 227-250.
- Wong M, Li Y, Li S, Zhang S, Li W, Zhang P, Chen C, Barnstable CJ, Zhang SS, Zhang C, Huang P. Therapeutic Retrobulbar Inhibition of STAT3 Protects Ischemic Retina Ganglion Cells. *Mol Neurobiol* 2015; 52(3): 1364-1377.
- Yang F, Lim GP, Begum AN, Ubeda OJ, Simmons MR, Ambegaokar SS, Chen PP, Kayed R, Glabe CG, Frautschy SA, Cole GM. Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *J Biol Chem* 2005; 280(7): 5892-5901.
- Yanoff M, Sassani J. Diabetes Mellitus. Gabbedy R, Nash S, editors. *Ocular Pathology*. 6th ed. Philadelphia, Mosby Elsevier, 2009; 619-620.
- Ye M, Qiu H, Cao Y, Cao Y, Zhang M, Mi Y, Yu J, Wang C. Curcumin improves palmitate-induced insulin resistance in human umbilical vein endothelial cells by maintaining proteostasis in endoplasmic reticulum. *Front Pharmacol* 2017; 8: 148.
- Yin X, Crawford TO, Griffin JW, Tu Ph, Lee VM, Li C, Roder J, Trapp BD. Myelin-associated glycoprotein is a myelin signal that modulates the caliber of myelinated axons. *J Neurosci* 1998; 18(6): 1953-1962.
- Yu H, Ma L, Jiang J, Sun SQ. Protective effect of curcumin on neural myelin sheaths by attenuating interactions between the endoplasmic reticulum and mitochondria after compressed spinal cord. *J Spine* 2016; 5: 1-6.
- Yuan X, Ni H, Chen X, Feng X, Wu Q, Chen J. Identification of therapeutic effect of glucagon-like peptide 1 in the treatment of STZ-induced diabetes mellitus in rats by restoring the balance of intestinal flora. *Journal of Cellular Biochemistry* 2018;119(12):10067-10074.
- Yue YK, Mo B, Zhao J, Yu YJ, Liu L, Yue CL, Liu W. Neuroprotective effect of curcumin against oxidative damage in BV-2 microglia and high intraocular pressure animal model. *J Ocul Pharmacol Ther* 2014; 30(8): 657-664.
- Zeiss CJ, Tu DC, Phan I, Wong R, Treuting PM. Special Senses: Eye. Treuting PM, Dintzis SM, Montine KS, editors. *Comparative anatomy and histology: A mouse, rat, and human atlas* 2nd ed. Elsevier. 2018;461-463.
- Zhang DW, Fu M, Gao SH, Liu JL. Curcumin and diabetes: A systematic review. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 636053.

Zhang L, Fiala M, Cashman J, Sayre J, Espinosa A, Mahanian M, Zaghi J, Badmaev V, Graves MC, Bernard G, Rosenthal M. Curcuminoids enhance amyloid-beta uptake by macrophages of Alzheimer's disease patients. *J Alzheimers Dis* 2006; 10(1): 1-7.

Zhang L, Inoue M, Dong K, Yamamoto M. Retrograde axonal transport impairment of large- and medium-sized retinal ganglion cells in diabetic rat. *Curr Eye Res* 2000; 20: 131–136.

Zhang L, Inoue M, Dong K, Yamamoto M. Alterations in retrograde axonal transport in optic nerve of type I and type II diabetic rats. *Kobe J Med Sci* 1998; 44(5-6): 205- 215.

Zhang M, Bian F, Wen C, Hao N. Inhibitory effect of curcumin on proliferation of human pterygium fibroblasts. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2007; 27(3): 339-342.

Zhang N, Li H, Jia J, He M. Anti-inflammatory effect of curcumin on mast cell-mediated allergic responses in ovalbumin-induced allergic rhinitis mouse. *Cell Immunol* 2015; 298(1-2): 88-95.

Zhao J, Zhao Y, Zheng W, Lu Y, Feng G, Yu S. Neuroprotective effect of curcumin on transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res* 2008; 1229: 224-232.

Zhao L, Cui S. Curcumin improves sciatic nerve regeneration by up-regulating S100 expression in mice. *Biomed Res* 2016; 27(2): 322-327.

<https://www.drugbank.ca/drugs/DB11672/biointeractions#enzyme-tab> 2020a.
10.05.2020

<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00428/biointeractions#enzyme-tab> 2020b.
10.05.2020

EKLER

EK 1 Etik Kurul Belgesi



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 68489742-604-E.5361
Konu : HADYEK İzin Onayı Hak.

02/03/2018

PROF.DR. SÜLEYMAN KAPLAN
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Laboratuvar Hayvanları üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvuran Prof.Dr. Süleyman KAPLAN'ın 2017/53 Kabul nolu Streptozotosin ile Diabetes mellitus oluşturulan sıçan ovaryumunda Curcumin'in antihiperglisemik etkinliğinin araştırılması başlıklı projesi 24.11.2017 tarihli Kurul toplantısında OMU- HADYEK 'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur. Gereğini bilgilerinize arz/rica ederim

e-imzalıdır

Prof. Dr. Feri KOLBAKIR
HADYEK

Ek: 2017-53 Prof.Dr. Süleyman KAPLAN

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91
Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>

Kep Adresi: omu@hs01.kep.tr

Ali ÖZTÜRK
ali.ozturk@omu.edu.tr
Dahili Tel:2782

5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.
Evrak teyidi <https://ebysorgu.omu.edu.tr> adresinden 0MN6-8Z87-0TR2 kodu ile yapılabilir.



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 68489742-604.01.03-E.8100
Konu : HADYEK İzin Onayı Hk.

04/04/2018

PROF.DR. SÜLEYMAN KAPLAN
Proje Yürütücüsü

İlgi : 05/03/2018 tarihli ve 67652676-100-E.25374 sayılı yazınız.

İlgi yazı ile Proje kapsamında olmayan kadavra dokularının histopatolojik ve stereolojik analizlerde kullanılması için gerekli izin talebiniz, 30.03.2018 tarihli Kurul toplantısında değerlendirilmiş olup isteğiniz uygun görülmüştür. Aynı bir etik kurul iznine gerek duyulmamıştır. Gereğini bilgilerinize rica ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Feriŕat KOLBAKIR
HADYEK

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91
Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>

Kep Adresi: omu@hs01.kep.tr

Ali ÖZTÜRK
ali.ozturk@omu.edu.tr
Dahili Tel:2782

5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.
Evrak teyidi <https://ebysorgu.omu.edu.tr> adresinden ÖRDP-VBMB-0AH8 kodu ile yapılabilir.



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Sayı : 67652676-100-E.25374

05/03/2018

Konu : Proje kapsamında olmayan kadavra dokuları
hk.

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULUNA

Ekte bilgileri verilen yürütücüsü olduğum projelerde kullanılan hayvanlara ait proje kapsamında olmayan kadavra dokularının, histopatolojik ve stereolojik analizlerde kullanılması için gerekli iznin verilmesini saygılarımla arz ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN
Anabilim Dalı Başkanı

Ek:

- 1- 001
- 2- 201365
- 3- 201752
- 4- 201753
- 5- 201754

Adres: Tıp Fakültesi Dekanlığı Kurupelit/Samsun
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 41
Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>

Prof. Dr. S.Süleyman
KAPLAN

5070 Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.



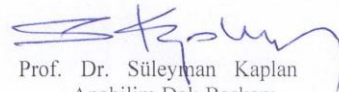
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
SAMSUN



HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULUNA

Yürütücüsü olduğum aşağıda belirtilen projelerde kullanılan hayvanlara ait proje kapsamında olmayan kadavra dokularından; akciğer, karaciğer, böbrek, böbreküstü bezi, kalp, dalak, beyin, siyatik sinir, optik sinir, omurilik, göz, mide, bağırsaklar, özefagus, pankreas, üreter, mesane, beyincik ve testis dokularının histopatolojik ve stereolojik yöntemler kullanılarak değerlendirilmesi için gerekli iznin verilmesini saygılarımla arz ederim.

1. 2013/65 Kabul nolu "Prenatal Dönemde Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Sıçan Hipokampusü Üzerine *Garcinia kola*, Timokinon ve *Momordica charantia*'nın Etkilerinin Araştırılması"
2. 2017/52 Kabul nolu "Hipertiroidin Hipofiz-Ovaryum Ekseni Üzerindeki Etkilerine Karşı E Vitaminin Koruyucu Rolü"
3. 2017/53 Kabul nolu "Streptozotosin ile Diabetes mellitus oluşturulan sıçan ovariumunda Curcumin'in antihiperlipidemik etkinliğinin araştırılması"
4. 2017/54 Kabul nolu "Östrodiol valerate ile oluşturulmuş polikistik over sendromu üzerine Amitriptilin'in olası etkilerinin araştırılması"


Prof. Dr. Süleyman Kaplan
Anabilim Dalı Başkanı

Ekler: 2013/65 karar sayılı etik kurul onay belgesi
2017/52 karar sayılı etik kurul onay belgesi
2017/53 karar sayılı etik kurul onay belgesi
2017/54 karar sayılı etik kurul onay belgesi

ÖZ GEÇMİŞ

Adı Soyadı: İzem Olcay Şahin

Doğum Yeri: Amasya

Doğum Tarihi: 25.01.1993

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): İstanbul Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümü (2017)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: -

E-posta: izemolcay@gmail.com