

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı**

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ GEBE
SIÇANLARA AİT FARKLI GELİŞİM DÖNEMİNDEKİ
FETUSLARDA DİYABETİN BÖBREK GELİŞİMİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

**Hazırlayan
Demet BOLAT**

**Danışman
Doç. Dr. Arzu YAY**

Yüksek Lisans Tezi

**Aralık 2020
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı**

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ GEBE
SIÇANLARA AİT FARKLI GELİŞİM DÖNEMİNDEKİ
FETUSLARDA DİYABETİN BÖBREK GELİŞİMİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Demet BOLAT**

Danışmanlar

- 1. Doç. Dr. Arzu YAY**
- 2. Dr. Öğr. Üyesi Münevver BARAN**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi BAP Birimi tarafından THD-2019-
8889 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Aralık 2020
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Demet BOLAT

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Streptozotosin İle Diyabet Oluşturulmuş Gebe Sıçanlara Ait Farklı Gelişim Dönemindeki Fetuslarda Diyabetin Böbrek Gelişimi Üzerine Etkisi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Demet BOLAT

Danışmanlar

Doç. Dr. Arzu YAY

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr.Birkan YAKAN

Doç. Dr. Arzu YAY danışmanlığında **Demet BOLAT** tarafından hazırlanan ‘**Streptozotosin İle Diyabet Oluşturulmuş Gebe Sıçanlara Ait Farklı Gelişim Dönemindeki Fetuslarda Diyabetin Böbrek Gelişimi Üzerine Etkisi**’ adlı çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

...../...../2020

JÜRİ

Danışman: Doç. Dr. Arzu YAY

.....

Üye: Prof. Dr. Birkan YAKAN

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Fatma FIRAT

.....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince yardım ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle daima yol gösterici olan, her zaman yanımda olan Sayın Hocam Doç. Dr. Arzu YAY'a, Dr. Öğr. Üyesi Münevver BARAN'a, çalışmamda ve bilgi ve önerilerini esirgemeyen bölüm hocalarımız Prof. Dr. Birkan YAKAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Esra BALCIOĞLU'na ve Dr. Öğr. Üyesi Gözde Özge ÖNDER'e,

Eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutlu olduğum, dostluklarını ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim bölüm arkadaşlarım Özge GÖKTEPE, Pınar SUNA, Pınar BİLGİCİ ile Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans ve doktora öğrenimini yapan ve yapmış olan tüm kıymetli arkadaşlarıma,

Tezin yapılmasında katkıları olan DEKAM yöneticileri ile çalışanlarına, tez çalışmasına maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi olarak desteklerini esirgemeyen, sevgilerini, güvenlerini hep hissettiğim hayatıma anlam katan aileme, arkadaşlarıma ve tüm sevdiklerime,

Sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ GEBE SIÇANLARA AİT FARKLI GELİŞİM DÖNEMİNDEKİ FETUSLARDA DİYABETİN BÖBREK GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Demet BOLAT

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji Embriyoloji Anabilim
Dalı Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2020
Danışman: Doç. Dr. Arzu YAY**

ÖZET

Diabetes mellitus tüm dünyada en yaygın görülen endokrin hastalık olup, diyabete bağlı mortalite ve morbiditenin önde gelen nedeni diyabetik nefropati' dir. Bu çalışmada, streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanların farklı gelişim dönemlerindeki fetal böbrek dokularının hem histopatolojik hem de immunohistokimyasal yöntemler ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada, ağırlıkları 200-250gr arasında değişen 48 adet Wistar albino türü gebe sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol ve streptozotsin olmak üzere başlıca 2 deney grubuna ayrıldı. Daha sonra her grup kendi içinde gelişimin 15,17 ve 19. günleri olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı. Böylece toplamda 6 deney grubu oluşturuldu. streptozotsin gruplarına sitrat tampon içerisinde hazırlanan tek doz streptozotsin (60 mg/kg) uygulaması yapılarak dişi sıçanlarda deneysel diyabet modeli oluşturuldu ve gebe bırakıldı. Daha sonra hem kontrol hem de streptozotsin gruplarına ait gebe sıçanların fetusları gelişimin 15, 17 ve 19. günlerinde toplandı. Gelişimin 15, 17 ve 19. gününe ait fetuslarda, diyabetin böbrek gelişimi üzerine etkileri Hematoksilen&Eozin, Masson trikrom ve Periyodik asit shif boyamaları ile histopatolojik olarak değerlendirilirken, Urotensin II ve TGF- β 1 ekspresyon düzeyleri immunohistokimyasal boyama metodu ile gösterildi.

Çalışmadan elde edilen histopatolojik bulgular, diyabetin diğer gelişim dönemlerine oranla 15. günde böbrek gelişimini olumsuz yönde etkilediğini gösterdi. Ayrıca hem kontrol hem de streptozotosin grubunda Urotensin II ve TGF- β 1'in immunreaktivite yoğunluğu 15. günde en yüksek gözlenmesine rağmen diyabetik gebe sıçanların fetuslarına ait böbrek dokularında ekspresyon düzeyleri kontrol grubuna göre daha da artmıştı.

Sonuçlarımız Urotensin II ve TGF- β 'nın böbrek gelişiminin erken dönemlerinde düzenleyici rol oynadığını desteklemekte olup, böbrek yetmezliğinin moleküler patogenezinin ve tedavisinin aydınlatılmasında da yardımcı olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Diyabet, Streptozotosin, Böbrek gelişimi

**THE EFFECT OF DIABETES ON KIDNEY DEVELOPMENT IN FETUS AT
DIFFERENT DEVELOPMENT PERIOD OF PREGNANT RATS WHO HAVE
DIABETED WITH STREPTOSOTOCIN**

Demet BOLAT

Erciyes University, Institute of Health Sciences, Histology Embryology

Department Master Thesis, December 2020

Supervisor: Assoc. Dr. Arzu YAY

ABSTRACT

Diabetes mellitus is the most common endocrine disease in the world and diabetic nephropathy is the leading cause of diabetes-related mortality and morbidity. In this study, it was aimed to compare fetal kidney tissues of Streptozotocin-induced diabetic rats at different developmental stages with both histopathological and immunohistochemical methods.

In this study, 48 Wistar albino type pregnant rats weighing between 200-250 gr were used. Rats were divided into two main experimental groups: control and streptozotocin. Later, each group was divided into 3 subgroups, 15th, 17th and 19th days of development. Thus, a total of 6 experimental groups were created. streptozotocin groups were prepared with a single dose of Streptozotocin (60 mg/kg) prepared in citrate buffer, and an experimental diabetes model was created in female rats and conceived. The fetuses of pregnant rats belonging to both the control and streptozotocin groups were then collected on the 15th, 17th and 19th days of development. In fetuses from the 15th, 17th and 19th days of development, the effects of diabetes on kidney development were evaluated histopathological with Hematoxylin&Eosin, Masson trichrome and PAS staining, while the levels of Urotensin II and TGF- β 1 expression were demonstrated by immunohistochemistry staining method.

According to the histopathological findings obtained from the study, diabetes was adversely affected on the 15th day of development compared to other developmental stages. In addition, although the intensity of the immune reactivity of Urotensin II and TGF- β was observed at the 15th day in both control and streptozotocin groups, expression levels in the kidney tissues of the fetuses of diabetic pregnant rats increased even more than control. Our results support that Urotensin II and TGF- β play a regulatory role in the early stages of kidney development, and we believe that kidney failure will also help in the molecular pathogenesis and treatment.

Keyword: Diabetes, Streptozotocin, Kidney development

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	vi
ONAY:	xviii
ÖZET.....	xxviii
ABSTRACT	xxxviii
İÇİNDEKİLER.....	xlvi
KISALTMALAR	lviii
TABLOLOLAR LİSTESİ	lxvi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	lxxv
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	30
2.1. BÖBREĞİN ANATOMİSİ.....	30
2.1.1. Böbreği Dıştan Saran Oluşumlar	34
2.1.2. Böbreklerin Damarları ve Sinirleri	39
2.2. BÖBREK EMBRİYOLOJİSİ	44
2.2.1. Pronefroz.....	47
2.2.2. Mezonefroz	51
2.2.3. Metanefroz	54
2.3. BÖBREĞİN HİSTOLOJİSİ.....	63
2.3.1. Böbrekler	66
2.3.2. Nefronlar	73
2.3.3. Tubulus renalis.....	93
2.4. DİYABETES MELLİTUS.....	119
2.4.1. Diyabetes Mellitus' un Tipleri	121
2.4.1.3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus	126
2.4.2. Diyabetik Nefropati	135
2.5. STREPTOZOTOSİN	148
3. GEREÇ VE YÖNTEM	160
3.1. Histolojik Değerlendirme	168
3.1.1. Histolojik Doku Takip Yöntemi	168
3.1.2. İmmunohistokimyasal Uygulama	190

3.2. İstatistiksel Değerlendirme	206
4. BULGULAR	215
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	272
6. KAYNAKLAR.....	316
EKLER.....	394
ÖZGEÇMİŞ	399



KISALTMALAR

BMP:	Kemik morfogenetik proteinleri
DAB:	3,3' P-diaminobenzidine tetrahydrochloride
DEKAM:	Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi
DKA:	Diyabetik Ketoasidoz
DM:	Diyabetes mellitus
ECM:	Ekstrasellüler matriks
GDM:	Gebelik Diyabetes Mellitus
GFH:	Glomerüler Filtrasyon Hızı
H&E:	Hematoksilen Eozin
IC:	İnterkalat
İp:	İntraperitoneal
MT:	Masson trikrom
PARP:	Poli (ADP-riboz) polimeraz
PAS:	Periodik Asit Schiff
PBS:	Fosfat buffer saline
STZ:	Streptozotosin
TGF-β1:	Transforme edici büyüme faktörü beta 1

TABLOLULAR LİSTESİ

Tablo 3. 1. Işık mikroskobu doku hazırlama metodu.....	170
Tablo 3. 2. Hematoksilen&Eozin Boyama Yöntemi.....	177
Tablo 3. 3. Periodik Asit Schiff Boyama Yöntemi.....	181
Tablo 3. 4. Masson Trikrom Boyama Yöntemi.....	186
Tablo 3. 5. İmmünohistokimya boyama tekniği.....	198



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1. Böbreğin yapısı.....	8
Şekil 2. 2. Nefronun yapısı... ..	9
Şekil 4. 1. Tüm gruplara ait gelişimin 15. günü böbrek kesitleri. HE; Hematoksilen&Eozin, MT; Masson trikrom, PAS; Periyodik asid schiff	230
Şekil 4. 2. Tüm gruplara ait gelişimin 17. günü böbrek kesitleri. HE; Hematoksilen&Eozin, MT; Masson trikrom, PAS; Periyodik asid Schiff	237
Şekil 4. 3. Tüm gruplara ait gelişimin 19. günü böbrek kesitleri. HE; Hematoksilen&Eozin, MT; Masson trikrom, PAS; Periyodik asid schiff	244
Şekil 4. 4. Tüm gruplara ait gelişimin 15. günü böbrek kesitlerinde Urotensin II immunreaktivitesi.....	251
Şekil 4. 5. Tüm gruplara ait gelişimin 17. günü böbrek kesitlerinde Urotensin II immunreaktivitesi.....	253
Şekil 4. 6. Tüm gruplara ait gelişimin 19. günü böbrek kesitlerinde Urotensin II immunreaktivitesi.....	255
Şekil 4. 7. Tüm gruplara ait gelişimin 15. günü böbrek kesitlerinde TGF- β 1 immunreaktivitesi.....	263
Şekil 4. 8. Tüm gruplara ait gelişimin 17. günü böbrek kesitlerinde TGF- β 1 immunreaktivitesi.....	265
Şekil 4. 9. Tüm gruplara ait gelişimin 19. günü böbrek kesitlerinde TGF- β 1 immunreaktivitesi.....	267

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diyabetes mellitus (DM) tüm dünya’da en yaygın rastlanan endokrin hastalıktır. Etyolojisinde endojen insülinin eksikliği veya periferik yetersizliği söz konusudur. Bunun sonucu olarak protein, karbonhidrat ve yağ metabolizması bozuklukları, hızlanmış arteriosklerozis ve kapiller membran değişiklikleri meydana gelir (Wathinks ve ark, 1996; Bloom ve Ireland, 1980). Ülkemizdeki DM prevalansı %3,5-5, insidansı ise %1,6 arasındadır (Tanyeri, 1996). Gebelikten önce diyabet var ise buna pregestasyonel diyabet adı verilir, gebelikte fark edilen ya da gebelikte ilk kez ortaya çıkan, her derecede glukoz toleransındaki bozukluklar ise gebelik diyabetes mellitus (GDM) olarak tanımlanır (Watkins ve ark, 1996; Tanyeri, 1996). Toplumdaki yaygınlığına paralel olarak gebeliklerin, %0-5’i pregestasyonel diyabet, %1-14’ü de gestasyonel diyabet ile birlikte olmaktadır (Coustan, 2000; Janice ve Larraine, 2002). Diyabetik gebelikler normal gebelere göre daha fazla maternal ve fetal riskler taşımaktadır. Bu riskler polihidramnios, abortus, doğumsal anomaliler, büyüme anormallikleri, metabolik komplikasyonlardır ve intrauterin fetus ölümüdür. Geçen yüzyılın başlarında diyabetik gebeliklerde maternal mortalite %45 ve perinatal mortalite %60 gibi çok yüksek seviyelerde seyretmekteydi. 1920’lerde insülinin tedavide kullanılmaya başlaması ve günümüzde fetal iyilik halini belirleyen prosedürlerin gelişmesi, tarama ve uygun tedaviler ile maternal ve perinatal mortalite oldukça gerilemiştir. Öyle ki, gelişmiş ülkelerde sağlıklı gebelerdeki maternal ve perinatal mortalite oranlarına yaklaşılmıştır. Buna rağmen hala bazı komplikasyonlara diyabetik gebelerde daha çok rastlanılmaktadır (Cunningham, 2001). Günümüzde diyabetli gebelerde, fetal kayıp ve hastalık oranı normal gebelere oranla dört kat kadar yüksektir (Coustan, 2000; Adam, 2002).

Diyabetik gebelerde gebelik ilerledikçe ve insülin karşıtı hormonlar arttıkça, daha fazla insüline ihtiyaç duyulacaktır. Hiperglisemi sonucu plasenta'da glukoz geçişi 250 mg/dl saturasyon sınırına ulaşıncaya kadar kolaylaştırılmış difüzyon ile gerçekleşir, glukoz gradiyent farkından bağımsız olarak geçiş gösterir. Fetal glukozun % 80'i maternal orijinlidir. Yani fetusdaki glukoz seviyesi anne plazma glukoz konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Plasenta; büyüme hormonu, insülin ve glukagon gibi protein hormonlara geçirgen değildir. Gebelik döneminde maternal hiperglisemi fetal hiperglisemiye sebep olur, bu da fetal pankreas β hücre hiperplazisi ve fetal hiperinsülinemiye neden olur (Metzger, 1991). Diyabetin erken dönemlerinde glomerüler basınç hızında, böbrek plazma akımında ve intraglomerüler hidrostatik basınçta artış, glukoz artışının indüklediği bir dizi metabolik ve hormonal faktörlerin etkileşimi ile beraber birçok faktöre bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Wolf, 2004).

Memelilerde böbrek, Ürotensin-II' nin esas kaynağıdır. Ana bileşik olan pre-pro Ürotensin-II'nin, böbreklerde yoğun biçimde ekspre edildiği gösterilmiştir. Ürotensin-II, renal endotelde, düz kas hücrelerinde ve tübül hücrelerinde bulunmaktadır (Shenau ve ark, 2002). Vücuttan atılımı idrarla olup, buradaki konsantrasyonu plazmadakinden çok daha yüksektir (Song ve ark, 2006). Ürotensin-II'nin sodyum transportu, glukoz ve lipid metabolizması üzerine etkileri bulunmaktadır. Ürotensin-II ayrıca tübüloglomerüler geri emilimde rol oynayabilmektedir (Shenau ve ark, 2002). Plazma Ürotensin-II düzeyinin böbrek yetmezliğinde yüksek olduğu ve bu yüksekliğin daha az kreatinin klirensine sahip diyaliz hastalarında çok daha yüksek düzeylerde olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda; Tip 2 diyabetli hastalarda plazma ve idrar Ürotensin-II seviyeleri renal fonksiyonları bozuk olan hastalarda normal olanlara göre daha yüksek olarak saptanmıştır (Tostune ve ark, 2004; Langham ve ark, 2004). Tian ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanların glomerüler ve tübül epitelyal hücrelerinde Ürotensin-II mRNA ve protein ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca diyabetik sıçanların böbrek medullalarındaki yüksek Ürotensin-II, Ürotensin-II reseptör mRNA ve protein ekspresyonunun, renal ekstrasellüler matriks (ECM) (fibronektin, Col IV) birikimi ve renal disfonksiyon ile uyumlu olduğu gösterilmiştir. Bu durum diyabetik olaylarda renal fibrozis ve disfonksiyonda Ürotensin-II'nin potansiyel bir rolünün olabileceğini düşündürmektedir. Diyabetik nefropatide; renal hücre hipertrofisi ve renal ECM birikiminde TGF- β 1'in (Transforme edici büyüme faktörü- β) önemli bir rolü olduğu

yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (15). Renal Ürotensin-II ve Ürotensin-II reseptörünün diyabette TGF- β 1' in up-regülasyonuna sebep olup renal fibrozis ve hatta diyabetik nefropatiye sebep olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda Ürotensin-II'nin kalpte ve böbrekte fibrotik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Matsushita ve ark, 2003; Langham ve ark, 2004). Örnek olarak; Urotensin II' nin kardiyak remodeling ve fibrozisde Urotensin II reseptörü ile etkileşerek TGF- β 1 ekspresyonunu artırıcı role sahip olduğu gösterilmiştir (Dal ve ark, 2007). Bu çalışmada, STZ ile indüklenen diyabetik sıçanların farklı gelişim dönemlerindeki fetal böbrek dokularının hem histopatolojik hem de immunohistokimyasal yöntemler ile incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BÖBREĞİN ANATOMİSİ

Böbrekler, karın arka duvarında retroperitoneal olarak yerleşmiş olup fasulye şeklinde, iri, bir çift organdır (Eroschenko, 2001; Ross ve Pawlina, 2006). Columna vertebralis'in iki yanında, 12. torakal vertebra ile 3. lumbal vertebra seviyeleri arasında bulunurlar. Böbrekler yaklaşık 6 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında ve 11 cm uzunluğunda olup, ortalama ağırlıkları yetişkin kadınlarda 135 gram, erkeklerde ise 150 gramdır (Sancak ve Cumhuriyet, 2002). Sağ böbrek ön yüzde karaciğerin sağ lobu, duodenumun 2. kısmı ve flexura coli dextra ve sağ glandula suprarenalis ile komşudur. Sol böbrek ön yüzde pankreas, dalak, mide, flexura coli sinistra, jejunum kıvrımları ve sol glandula suprarenalis ile komşudur. Her iki böbrek arka yüzde ise musculus diaphragma ve altta dıştan içe doğru musculus transversus abdominis, musculus quadratus lumborum ve musculus psoas major ile komşudur (Ferner ve Staubesand, 1985; Arıncı, 2001).

2.1.1. Böbreği Dıştan Saran Oluşumlar

Böbreği dıştan içe doğru saran tabakalar fascia renalis, kapsula adiposa ve kapsula fibrosa'dır (Sancak ve Cumhuriyet, 2002).

Fibröz kapsül: Her iki böbreğin ön-arka yüzlerini, hilum da dahil olmak üzere tamamıyla örter (Sarsılmaz, 2000). Bu tabaka hilum renale'ye geldiği zaman iki yaprağa ayrılır. Dıştaki yaprak hilum renale'de bulunan yapıların üzerini örterek adventisya tabakalarının yapısına katılır. İçteki yaprak ise, hilum renale'den içeriye girip sinus renalis'in iç yüzünü örter. Kapsula fibrosa kısmı böbrek dokusundan kolaylıkla soyulabilir (Sancak ve Cumhuriyet, 2002).

Adipoz kapsül: Fibröz kapsülün dış tarafında bulunan bu yağ dokusu, hilum renale'den geçerek sinus renalis'e girer ve buradaki yapıların aralarını doldurur (Sarsılmaz, 2000; Sancak ve Cumhuriyet, 2002).

Renal fasya: Adipoz kapsülün dış kısmında bulunur, renal fasya ve adipoz kapsül böbreği adrenal bezle birlikte sarmıştır (Sarsılmaz, 2000).

2.1.2. Böbreklerin Damarları ve Sinirleri

Böbrekler, L1-L2 vertebralar arası diskus seviyesinde, aorta abdominalis'ten ayrılır. Birçok dallanmadan sonra vas afferens olarak glomerül içine giren arteria renalisler tarafından beslenir (Sarsılmaz, 2000; Ozan, 2004).

Aort dalı olan renal arterdeki arteriyel kan, hilumdan böbreğe ulaşarak interlobar arterlere ayrılır. İnterlobar arterler kanı kortikomedüller sınırdaki arkuat arterler yardımıyla glomerüle dağıtır. Daha sonra medullar ışınlar arasından korteks parankimasına ışınal olarak yayılan interlobüler arterlere iletilir ve böbrek cisimciklerinin kanlanması sebep olan afferent arteriyollere dallanır. Böbrek cisimciğindeki kapiller ağ bir efferent ve bir afferent arteriyol içerir. Afferent arteriyol, glomerül adı verilen 20-40 kıvrımlı pencereli kapiller kümesine dallanır. Filtrat efferent arteriyol aracılığıyla bir miktar su ve gerekli maddeleri geri almak üzere glomerülü terk eder ve kortikal renal tübüllerin çevresindeki yaygın peritübüler kapiller ağı girer (Ovalle ve Nahirney, 2009). Glomerülden efferent arteriyol olarak çıkan damarlar renal vende toplanarak v.cava inferior'a açılırlar. Sırasıyla böbreğin damarlanması:

Aorta abdominalis → a.renalis → a.segmentalis → a.interlobaris → a.arquata → a.interlobularis → vas afferens → vas efferens → v.interlobularis → v.interlobaris → v.renalis şeklindedir (Sarsılmaz, 2000).

2.2. BÖBREK EMBRİYOLOJİSİ

Üriner sistem, genital sistem ile birlikte 4. haftanın başında, intermedier mezoderm ve ona komşu mezodermal sölomik epitelden köken almaktadır. Abdomenin dorso laterali boyunca mezodermin meydana getirdiği kabartılara ürogenital kabartı adı verilmektedir. Üriner sistem'de böbreklerin gelişimi ürogenital kıvrım boyunca ve kranialden kaudale doğru sırasıyla pronefroz, mezonefroz ve metanefroz şeklinde gelişim göstermektedir. İlk oluşan böbrek sistemi pronefroz olup fonksiyonel hiçbir özellikleri yoktur. İkinci oluşan böbrek sistemi mezonefrozlardır. Mezonefrozlar daha iyi gelişmiştir ve kısa bir

sürelğine fonksiyon görür. Son olarak oluşan böbrek sistemi ise metanefrozlardır. Metanefrozlar esas böbrekleri oluşturan kalıcı sistemlerdir (Hassa ve Aştı, 1997; Moore ve Persaud, 2002).

2.2.1. Pronefroz

Gelişen embriyo'da pronefrik böbrek servikal bölgede 7-10 adet solid hücre topluluğu şeklinde gelişir (Sadler, 1996). Nefrotom adı verilen bu hücre toplulukları pronefroz tübüllerini (pronephric tubules) oluşturacaktır. Bu tübüller medial olarak intraembriyonik solum boşluğuna açılırken, lateralde birbiri ardınca birleşerek kaudal yönde uzanırlar ve embriyonun her iki yanında uzunluğuna birer kanal olan pronefroz kanalını (pronephric duct) meydana getirirler. Pronefroz kanalları kaudal olarak uzanır ve kloaka açılır (Şeftalioğlu, 1998; Takai ve ark, 2003). Bu geçici fonksiyonel olmayan yapılar insan embriyosunda ilk olarak dördüncü haftanın başında ortaya çıkar (Sadler, 1996; Şeftalioğlu, 1998; Anafarta ve ark, 1998).

Rudimenter olan pronefrozlara ait yapılar, kısa bir süre içinde dejenerasyona uğrarlar. Ancak, pronefrik duktuslardan çoğunluğu, kısa süre kalır ve bir sonraki böbrek sisteminde bu kısımlardan yararlanılır (Sadler, 1996; Şeftalioğlu, 1998; Moor, 2002).

2.2.2. Mezonefroz

Gestasyonel 4. haftanın sonuna doğru rudimenter olan pronefrozların kaudal kısmında üst torasik ve lumbal segmentlerin ara mezoderminden gelişir (Moore ve Persaud, 2009; Sadler, 2012). Pronefrozların gerilemeye başlamasıyla mezonefroz yapıları oluşmaya başlayacaktır. Mezonefrik tübüllerin boyu uzayıp bükülerek S şeklini alırken, medial uzantıları ise glomerülü meydana getirecektir (Şeftalioğlu, 1998; Sadler, 2012). Bununla birlikte glomerülün etrafında Bowman kapsülünü oluştururlar (Sadler, 2012). Mezonefrik tübüller; mezonefrik kanala (Wolff kanalı), bunlar da kloakaya açılır. Daha sonraki dönemde de ürogenital sinüse açılırlar (Şeftalioğlu, 1998). Mezonefrik böbrekler, yaklaşık dört hafta kadar, kalıcı böbrekler oluşuncaya kadar ara böbrekler olarak fonksiyon görürler (Moore ve Persaud, 2009).

2.2.3. Metanefroz

Kalıcı böbrekler olarak bilinen metanefrozların gelişimi, beşinci haftanın başında gelişmeye başlar ve ortalama dört hafta sonra fonksiyon görür (Sadler, 2012; Carlson, 2014; Moore ve Persaud, 2009; Moore ve ark, 2016). İdrar amnion boşluğuna bırakılır

ve amnion sıvısıyla karışır (Schoenwolf ve ark, 2009; Dudek, 2011). Kalıcı böbrekler genel olarak iki kaynaktan gelişirler. Bunlar; metanefrik divertikül olan üreter tomurcuğu ve ara mezodermin metanefrik kısmı olan metanefrik blastem' dir (Şeftalioğlu, 1998; Moore ve ark, 2015). Bu iki bölge de mezodermal kökenlidir. Üreter tomurcuğu, mezonefrik kanalın kloakaya açılma yerine yakın dışa doğru yaptığı bir divertiküldür. Üreter tomurcuğundan renal pelvis, majör ve minor kaliksler, üreter ve toplayıcı tübüller gelişecektir (Sadler, 2012; Moore ve ark, 2016).

Üreter tomurcuğu oluşumun ardından metanefrik blastem içine büyüyerek penetre olur. Metanefrik divertikülün ucu üretere dönüşürken, üst ucu renal pelvisi meydana getirecektir. Metanefrik dokuya penetre olmaları sırasında kalikslerin her biri de iki yeni tomurcuk daha oluşturacaktır (Sadler, 2012). Bunların dallanması ile toplayıcı tübüller meydana gelir. Düz toplayıcı tübüller sürekli dallanarak art arda gelen yeni toplayıcı tübülleri oluşturur (Moore ve Persaud, 2009; Sadler, 2012). Bunların ilk dört tanesi birleşip major kaliksleri meydana getirirken, ikinci dörtlü birleşerek minör kaliksleri oluşturur. Kalan jenerasyonlar ise toplayıcı tübülleri oluşturacaktır (Moore ve Persaud, 2009). Her bir toplayıcı tübülün son kısmı, metanefrik mezoderm içindeki mezodermal hücreleri uyararak metanefrik vezikülleri oluşturur. Bunlar da büyüyerek renal tübülleri meydana getirir (Şeftalioğlu, 1998; Moore ve ark, 2016). Gelişen toplayıcı tübüllerin distal ucu metanefrik bir kep ile örtülü olup, bu kepten S şeklinde küçük tübüller oluşur. Proksimal uçtan glomerül gelişecektir. Renal korpuskül, proksimal ve distal tübül ile Henle kangalı birlikte nefronu oluşturur. Her distal tübülden biri bir toplayıcı tübül ile bağlantı kurar ve tübüller böylelikle birleşir (Moore ve Persaud, 2009). Nefronlar doğuma kadar oluşmaya devam eder. Fetal böbrekler lobludurlar. Bu lobülasyon genelde nefronların büyüüp çoğaldığı infant döneminde yok olur. Yeni doğanda yaklaşık olarak iki milyon nefron vardır. Prematürler hariç termde nefron oluşumu tamamlanır. Glomerüler filtrasyon fetal hayatın 9. haftasında başlamış olsa da böbreklerin tam anlamıyla fonksiyon görmesi ve filtrasyonunun artması doğumdan sonra gerçekleşir (Şeftalioğlu, 1998; Sadler, 2012; Carlson, 2014; Moore ve ark, 2016). Doğumdan sonra bu böbrek kısa sürede bütün fonksiyonlarını tamamlamış olur (Paker, 1990).

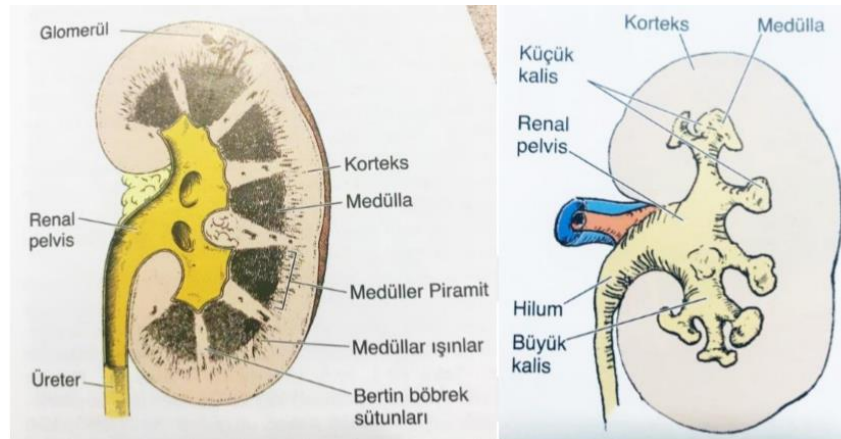
2.3. BÖBREĞİN HİSTOLOJİSİ

Dış ortamdan alınan besinler organizma için gerekli enerjiye dönüşürken bir takım zararlı maddeler ortaya çıkmaktadır. Üriner sistem bu metabolizma artıklarının vücut dışına atıldığı yerdir (Kayalı, 1984).

Üriner sistem, bir çift üreter ve bir çift böbrek ile tek bir mesane ve üretra' dan oluşur. Bu sistem, içinde çeşitli metabolik artık ürünlerin bulunduğu idrarı üreterek homeostazi sağlar. Böbreklerden üretilen idrar ilk olarak üreterler aracılığı ile mesaneye geçer, burada geçici olarak depolanır ve en son üretra' dan dışarı atılır. Böbrekler bu salgılama işlevlerine ilaveten kan basıncının düzenlenmesinde rol alan renin ve kırmızı kan hücrelerinin üretimini uyaran eritropoietini üretirler (Jungueria ve ark, 1992).

2.3.1. Böbrekler

Her böbrek gevşek bağ dokusu, kan damarları, lenfatikler ve sinirleri içeren bir stroma ile çevrelenmiştir. Her bir böbreğin iç kenarının ortasında organın hilusu bulunur. Hilum, sinirlerin girdiği, kan ve lenf damarlarının giriş çıkış yaptığı yerdir. Üreterin genişlemiş üst kısmı olan renal pelvis, iki veya üç majör kalikse bölünmüştür. Her majör kaliksten minör kaliksler dallanır (Jungueria ve ark, 1992). Genellikle iki majör ve 8-20 kadar minör kaliks vardır. Her minör kaliks renal papilla adı verilen konik şekilli böbrek parankimasını çevreler (Leeson ve ark, 1988). Böbrek yüzeyi, ince fakat sağlam bir bağ dokusu kapsülü ile örtülüdür. Kapsül, myoblastlardan oluşan bir iç tabaka ile fibroblastlar ve kollagen fibrillerden oluşan bir dış tabakadan oluşur (Leeson ve ark, 1988; Ross ve Romrell, 1989). Böbrek, dışta korteks ve içte medulla olmak üzere 2 kısma ayrılır. İnsanda medulla renalis 10-18 adet koni ya da piramit şeklindeki oluşumlardan meydana gelir. Bunlara medullar piramit veya Malpighi piramidi denir (Kayalı, 1984; Leeson ve ark, 1988). Her bir medullar piramidin tabanından kortekse uzanan birbirine paralel tübül demetleri, medullar ışınlar çıkar. Her medullar ışın, böbreğin fonksiyon gören birimleri olan birkaç nefron grubunun düz kısımları ile birlikte bir veya birden daha fazla sayıda toplayıcı kanaldan oluşur. Piramitleri birbirinden ayıran korteks, koyu renkli kordonlar şeklindedir. Bunlara columna renalis Bertini denir (Kayalı, 1984; Jungueria ve ark, 1992) (Şekil 2.1).

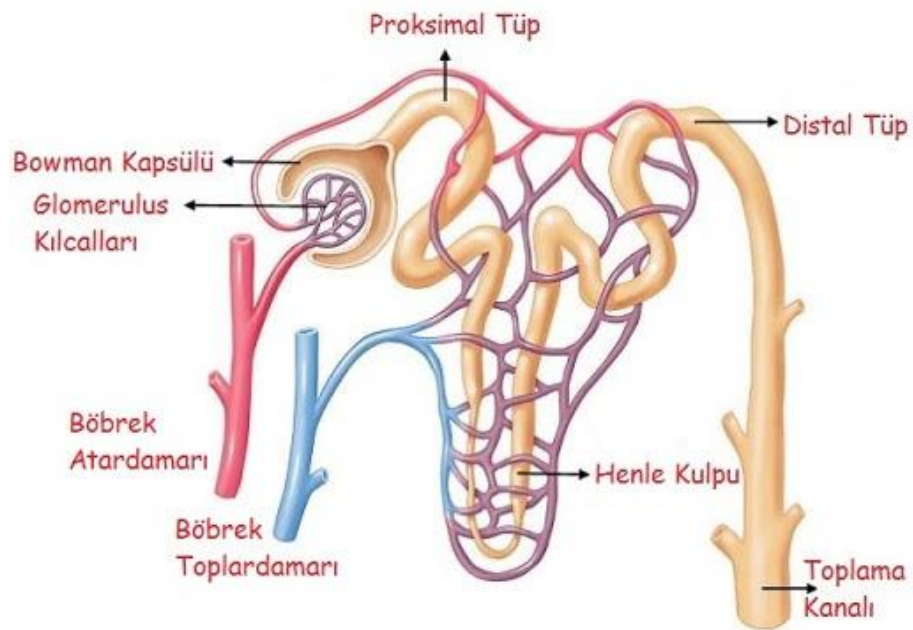


Şekil 2.1. Böbreğin yapısı (Luiz ve Carnerio, 2009).

Böbrek, histolojik olarak, nefronlar ile toplayıcı tübüllerden ve pelvis renalis 'ten oluşur (Kayalı, 1984).

2.3.2. Nefronlar

Nefron, böbreğin temel yapısal ve fonksiyonel birimidir. İnsanda her böbrek yaklaşık iki milyon nefron içerir (Ross ve Romrell, 1989). Nefronların her biri, basitçe uzundur ve kör bir şekilde başlayıp bir salgı kanalına bağlanmasıyla sonlanan epitelize tübüllere sahiptir. Nefronların histolojik kesitlerde çok belirgin olmayan dolambaçlı bir şekilleri vardır (Leeson ve ark, 1988). (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. Nefronun yapısı (<http://www.biyolojidefteri.com/index.php/insanda-bosaltim-sistemi>, Erişim tarihi 08.01.2021).

Her bir nefron, Henle kangalının ince ve kalın uzantıları ile distal kıvrımlı tübül, proksimal kıvrımlı tübül ve genişlemiş bir bölüm olan renal cisimcikten oluşmaktadır. Toplayıcı tübüllerin ve kanalların embriyolojik kökeni nefrondan farklıdır (Kayalı, 1984). Nefronlar, medulla korteks sınırından başlayarak bütün korteks yüzeyine yayılmışlardır. Sadece böbrek kapsülünün hemen altında çok dar bir bölgede bulunmazlar (Ross ve Romrell, 1989). Birçok kıvrım yapan nefron 30-40 µm uzunluğunda bir borucuktur. Bu nedenle; her bir nefron yapı ve fonksiyon bakımından birbirinden farklı birkaç bölümden oluşmuştur ve bu bölümlerin her biri daima korteks ve medullanın belirli bir yerinde yerleşmiştir (Kayalı, 1984).

Nefronu ilk önce ikiye ayırmak mümkündür:

1. Malpighi 'nin böbrek cisimciği (corpusculum renale malpighi)
2. Böbrek borucuğu (tubulus renalis)

Corpusculum renale Malpighi glomerul olarak da isimlendirilir. Her renal cisimciğin çapı 150-250 µm olup iki kısımdan oluşmuştur (Kayalı, 1984; Leeson ve ark, 1988; Jungueria ve ark, 1992).

1. Bowman kapsülü
2. Kapiller yumak (Glomerül)

Glomerül, Bowman kapsülü adı verilen iki tabakalı epitelyal bir kapsülle sarılmıştır. Kapsülün iç tabakası (viseral tabaka) glomerulün kapillerlerini örter. Dış tabaka, tek katlı yassı epitel ile döşeli olup renal cisimciğin en dıştaki kısmını oluşturan paryetal tabakadır. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında, visseral tabakadan ve kapiller duvarından süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunmaktadır. Her renal cisimcikte, afferent arteriyollerin girdiği ve efferent arteriyollerin çıkış yaptığı vasküler kutup olan damar kutbu ile proksimal tübül lümeni ve Bowman kapsül aralığının bağlandığı bölgedir. Bu bölgeye idrar kutbu denilmektedir (Kayalı, 1984; Ross ve Romrell, 1989). Bowman kapsülünün paryetal tabakası bazal laminaya oturmuş, retiküler fibrilleri içeren ve tek katlı yassı epitel hücrelerinden oluşur. Bu hücreler çok az organel içerirler. İdrar kutbunda epitel, proksimal tübül için karakterize olan tek katlı prizmatik epitel haline dönüşür (Leeson ve ark, 1988; Jungueria ve ark, 1992).

Embriyonik gelişim sırasında pariyetal tabakanın epiteli değişiklik göstermezken, visseral tabaka büyük ölçüde değişikliğe uğrar (Jungueria ve ark, 1992). Visseral tabaka

kalın bir bazal laminaya oturmuş podosit denen hücrelerden oluşmuştur (Kayalı, 1984; Ross ve Romrell, 1989). Ancak podositler primer ve sekonder ayakçıkları ile tüm kapiller yüzeyine dağılmışlardır. Podositlerin hücre gövdeleri ve primer uzantıları bazal laminaya değmezken, pediseller glomerül kapillerlerine sarılmış durumda olup 25 nm'lik sabit bir mesafede bazal lamina ile doğrudan temas halindedirler. Pediseller çok az organel içermelerine ya da hiç içermemelerine rağmen, çok sayıda mikrofilament ve mikrotübül içerirler. Podositlerin sekonder uzantıları arasında 250 Å genişliğinde aralıklar vardır; bu aralıklar filtrasyon yarıklarını oluşturur. Bu ayakçıklar 50-60 Å kalınlığında ince bir zar ile birbirlerine birleşirler (Kayalı, 1984; Leeson ve ark, 1988; Jungueria ve ark, 1992). Podositlerin sitoplazması çok sayıda serbest ribozom, az sayıda kaba endoplazmik retikulum sisternası, seyrek mitokondriler ve belirgin bir golgi kompleksi içerir. Podositlerin sitoplazmasında bunların kasılabilmesine yardımcı olan aktin mikrofilament demetleri vardır (Leeson ve ark, 1988; Jungueria ve ark, 1992). Pedisellerin plasmalemması, sialik asit içeren önemli bir glikokalikse sahiptir (Leeson ve ark, 1988).

Bowman kapsülünün içinde yerleşmiş bulunan glomerül yumağı pencereci kapillerlerden oluşmuştur. Kapillerlerin duvarı çok ince olup 500-1000 Å çapında fenestrataları vardır (Leeson ve ark, 1988). Glomerül kapillerlerinin endotel hücreleri ince bir sitoplazmaya sahiptir. Bu hücrelerin pencereleri daha büyüktür (70-90 nm çapında) ve sayısı pencereci kapillerlerin bulunduğu diğer organlardaki endotel hücrelerinkinden daha fazladır. Bu hücrelerde, diğer pencereci kapillerlerde gözlenen kapiller açıklıklarını birbirine tutturarak ince diyafram yapısı da bulunmaz (Jungueria ve ark, 1992). Glomerül kapillerlerinde, endotel hücreleri ve podositlerin yanısıra bazal lamina kılıfının bulunduğu bölgelerde, kapiller duvarına tutunan mezangiyal hücreler yer alır (Kayalı, 1984; Leeson ve ark, 1988). Yıldız biçimli uzantılara sahip bu hücrelerin sitoplazmik uzantıları, kapiller

lumenine ulaşacak şekilde endotel hücrelerinin arasına sokulur. Hücreler kendilerini saran ve kapiller duvarına destek olan amorf matriksi sentezler. Bunların işlevlerine ilişkin çok az bilgi vardır; perisite benzer hücre grupları oluştururlar (Kayalı, 1984; Jungueria ve ark, 1992).

2.3.3. Tubulus renalis

Nefronun en uzun ve en geniş parçasıdır (Tian ve ark, 2008). Nefronun Bowman kapsülünün idrar kutbundan başlayıp toplayıcı kanallara kadar devam eden kısmını yapar. Burada 4 kısım ayırt edilir (Kayalı, 1984).

2.3.3.1. Proksimal kıvrımlı tübüller

(Tubulus proksimalis) Nefronun proksimal kalın segmenti, Bowman kapsülünde proksimal kıvrıntılı tübül olarak başlar (Şeftalioğlu, 1998). Renal cisimciğin idrar kutbunda, yaklaşık 14 mm uzunluğunda, 50-60 cm çapında ki kısımdır (Leeson ve ark, 1988). Proksimal tübüller kıvrıntılı bir kısım (pars contorta) ile medullada yer alan düz bir parçayı (pars recta) içerir (Kayalı, 1984). Proksimal kıvrımlı tübüller, tek katlı kübik ya da prizmatik epitelle örtülüdür. Bu epiteldeki hücreler, içerdikleri çok sayıda uzamış mitokondri nedeniyle sitoplazmaları asidofiliktir. Hücre apeksinde fırçamsı kenar oluşturan yaklaşık 1 µm uzunluğunda, çok sayıda mikrovilluslar bulunur (Jungueria ve ark, 1992). Bu büyük ölçüde, glikoz, amino asit ve küçük peptidlerin emilim yüzeyini artırır (Leeson ve ark, 1988).

Bu hücrelerin bazal bölümlerinde yoğun membran katlantıları ve komşu hücreler arasında lateral kenetlenmeler bulunmaktadır. Mitokondriler hücrelerin uzun eksenine paralel dizilim gösterirler. Mitokondrilerin bu şekilde dizilimi, aktif iyon taşınmasında rol alan hücrelere özgüdür (Jungueria ve ark, 1992).

Proksimal tübülün düz ve kıvrıntılı parçalarında ufak farklar bulunmakla birlikte asıl yapısı benzer şekildedir. Bununla birlikte bazı morfolojik farklılıklar ayırt edilmektedir (Kayalı, 1984).

2.3.3.2. Henle Kangalı

Proksimal kıvrımlı tübüllere yapıca çok benzeyen bir kalın inen kol, bir ince inen kol, çıkan ince kol ve yapıca distal kıvrımlı tübüllerle aynı olan bir kalın çıkan koldan oluşan U şeklinde bir yapıdır (Sadler, 1996). Proksimal tübülün 60 µm olan kalın inen kolun birden bire 12-15 µm ye kadar daralarak inen kolun ince bölümü olarak devam eder (Kayalı, 1984; Leeson ve ark, 1988; Jungueria ve ark, 1992,). Nefronun bu bölümünde lümen, tek katlı yassı epitel ile döşelidir (Sadler, 1996; Moor, 2002). Epitelin yalnızca çekirdekleri lümene doğru hafif çıkıntı yapar (Jungueria ve ark, 1992). Henle kangalı

hücrelerinin lümene ait yüzeyinde çok az, kısa mikrovilluslar vardır. Çıkan kol kübik epitelle döşelidir. Henle kangalı, idrar üretimi için gereklidir (Leeson ve ark, 1988).

2.3.3.3. Distal Kıvrımlı Tübül

Henle kangalının çıkan kalın kolu kortekse girdiğinde histolojik yapısını korur ve bükülerek nefronun distal kıvrımlı tübülünü oluşturur (Jungueria ve ark, 1992). Bu tübülün çapı oldukça büyük olup (Kayalı, 1984) tek katlı kübik epitel ile döşelidir (Kayalı, 1984; Jungueria ve ark, 1992) ve hücrelerin sınırları oldukça belirgindir (Kayalı, 1984). Distal tübül, proksimal tübülden daha ince ve daha kısadır. 3 kısımda incelenir.

1. Pars rekta (düz kısım) Henle kangalının kalın çıkan kolundan şekillenir.
2. Macula Densa (pars maculata)
3. Pars convoluta (kıvrımlı kısım)

Düz ve kıvrımlı kısımların hücreleri birbirine benzerdir. Hücreler kübik şekilli olup lümenleri fırçamsı kenarlı değildir ve proksimal tübüle göre lümenleri daha geniştir (Moor, 2002). Histolojik kesitlerde her ikisi de kortekste bulunan proksimal ve distal tübüller arasındaki ayrım belirli özelliklerine göre yapılır. Proksimal tübüldeki hücreler, distal tübülde bulunan hücrelere göre daha büyük ve fırçamsı kenarlıdır. Distal tübül hücrelerinde fırçamsı kenar bulunmaz. Proksimal tübüllerde bulunan hücreler daha asidofiliktir. Distal tübüllerin lümeni daha geniştir ve burada bulunan hücreler proksimal tübüllerde bulunan hücrelerden daha yassı ve küçük olduğu için, aynı histolojik kesitte distal tübül duvarlarında daha çok sayıda nükleus ve hücre görülür. Proksimal tübüllere özgü olan apikal kanalikül ve veziküller distal tübül hücrelerinde görülmez (Jungueria ve ark, 1992).

Macula Densa: Distal kıvrımlı tübüller kortekste izledikleri yol boyunca kendi nefronlarına ait renal cisimciğin damar kutbuna temas ederler. Bu temas noktasında afferent arteriyol ve distal tübül modifiye olur (Jungueria ve ark, 1992). Işık mikroskobu ile bakıldığı zaman macula densa'nın hücreleri farklıdır. Bunlar diğer distal tübül hücrelerinden daha uzun ve genellikle daha dardır. Böyle hücrelerin nükleusları yoğun görülür, hatta kısmen bir diğerinin üstüne konmuş görülürler. Aynı bölgede, afferent arteriole komşu düz kas hücreleri modifiye olmuştur. Bu hücreler salgı granülleri içerirler ve nükleusları yuvarlaktır. Böyle modifiye olan düz kas hücreleri

jukstaglomerular hücreler olarak ta bilinir. Işık mikroskobunda granülleri göstermek için özel boyalar kullanılır (Ross ve Romrell, 1989).

2.3.3.4. Toplayıcı Tübüller ve Kanallar

Distal kıvrımlı tübüllerden geçen idrar, birbirlerine bağlanarak daha büyük, düz toplayıcı kanallar oluşturan toplayıcı tübüllere boşalır. Bu kanallar Bellini papiller kanalları adını alır ve piramidlerin uçlarına doğru giderek genişler (Leeson ve ark, 1988; Jungueria ve ark, 1992).

Toplayıcı tübüller ve kanallar basit epitel ile döşelidirler (Ross ve Romrell, 1989). Küçük toplayıcı tübüller kübik epitelle döşeli olup çapları 40'cm dir. Bu tübüller medullanın derinliklerine doğru indikçe hücrelerin boyu uzar ve prizmatik olur. Piramidlerin ucuna yakın bölümlerde toplayıcı kanalın çapı 200 cm'ye ulaşır (Leeson ve ark, 1988; Jungueria ve ark, 1992). Toplama tübülleri ve kanallar, ışık mikroskobunda görülebilen belirgin hücre sınırları ile kolaylıkla ayırt edilebilirler.

Sitolojik olarak toplama tübüllerinde, iki farklı hücre ayırt edilir. Toplama kanalı hücreleri olarak isimlendirilen açık hücreler, sistemin ana hücreleridir. Bu hücreler nisbeten biraz kısa mikrovilluslara sahiptir ve küçük, küresel mitokondri içerirler. Koyu hücrelerde, İnterkalat (IC) hücreleri olarak isimlendirilirler. Oldukça az sayıdadırlar (Ross ve Romrell, 1989). Çekirdekleri yuvarlak olup, sitoplazmalarında çok sayıda hücre organelleri vardır.

Böbreklerin önemli fonksiyonlarından biri vücudu, dışardan alınan veya vücutta metabolizma sonucu oluşan atıklardan kurtarmasıdır. Böbreğin diğer önemli fonksiyonları;

- Su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi,
- Asit-baz dengesinin düzenlenmesi,
- Hormonların salgılanması, metabolize edilmesi ve sekresyonu,
- Vücut sıvılarının hacim ve bileşenlerini kontrol etmek,
- Yabancı maddelerin ve metabolik artıkların atılması,
- Vücut sıvılarının osmolaritesinin ve elektrolit yoğunluğunun düzenlenmesi,

Böbreklerin bu düzenleyici görevi hücrelerin değişik aktivitelerini gerçekleştirebilmeleri için gerekli çevrenin sabit tutulmasını sağlar (Hall ve Guyton, 1996; Anafarta ve ark, 1998).

2.4. DİYABETES MELLİTUS

DM, insülin salgısının mutlak veya göreceli eksikliği ya da insülin rezistansı ile oluşan, hiperglisemi ile kendini ortaya çıkaran karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakterize olan kronik, metabolik bir hastalıktır (Yeşilot, 2008). Retinopati, nöropati, nefropati, kardiyovasküler hastalıklara yatkınlık ve infertilite sorunları diyabetin neden olduğu komplikasyonlar arasında ilk sıradadır (Quinn, 2002).

2.4.1. Diyabetes Mellitus' un Tipleri

2.4.1.1. Tip 1 Diyabet

Tip 1 diyabet otoimmün hastalıktır. Pankreasın endokrin adacık beta hücrelerindeki harabiyetiyle oluşan insülin yetmezliği ile karakterize olduğu için hastaların hayatlarını devam ettirebilmesi veya diyabetik ketoasidozdan (DKA) korunması için insüline ihtiyaçları vardır (WHO, 1999). Bu diyabet türü şiddetli hiperglisemi ile birlikte ani gelişen ve insülin ile tedavi edilmezse ilerleyerek ketoasidoza ve ölüme yol açan bir diyabet tipidir (Aral, 1998).

2.4.1.2. Tip 2 Diyabet

İnsüline dirençten ve salgısındaki yetersizlikten veya her ikisinin bir arada olmasından dolayı ortaya çıkan diyabet türü Tip 2 diyabettir (Özbey ve Orhan, 2003). Dokulardaki insülin hassasiyetinin azalması insülin direnci anlamına gelir. Normalde insülin, hücre yüzeylerindeki özel reseptörlerine bağlanıp glikoz metabolizmasında yer alan reaksiyonlar serisini başlatır. Tip 2 diyabette buna benzer hücre içi reaksiyonlar azalmaktadır. Böylece insülin, dokuların glikoz alımını uyarmasında ve karaciğer tarafından glikoz salınımının düzenlenmesinde daha az etkili hale gelir (Smeltzer ve ark, 2010).

2.4.1.3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus

İlk olarak gebelikte tanısı konan, yani; gebelikte ortaya çıkan bir diyabet türüdür. Postpartum dönemde glukoz toleransı birçok kadında normale döner (Karakurt ve ark, 2009). Ailede diyabet öyküsünün olması, hamilelikten önce aşırı kilolu olma durumu,

kadınlarda hamilelik yaşının 25'den büyük olması, önceki hamileliklerde GDM veya glukoz toleransı bozukluğu tanımlanması ve hamilelik döneminde kan-glukoz seviyelerinin yüksek olması, GDM riskini arttıran faktörler arasındadır (Buchanan ve Xiong, 2005; Erdoğan ve ark, 2007). Önceden diyabeti bilinen kadınlar hamilelikte GDM' si yoktur. Hamileliğin erken döneminde açlık veya yemek sonrası glikoz konsantrasyonları normalde gebe olmayan kadınlardan daha düşüktür. Açlık veya yemek sonrası glikoz seviyelerinin yükselmesi, gebelikteki diyabetin varlığı hakkında bir fikir verir ama gebeliğin bu zamanında bir anormalliği belirlemek için özel bir kriter değildir. Fakat hamileliğin erken döneminde normal glukoz seviyeleri GDM' nin ilerleyen zamanlarda gelişmeyeceği anlamına gelmez (Kahn, 2011). GDM riski yüksek olan bireyler arasında yaşlılar, daha önce glikoz intoleransı öyküsü olanlar, gebelikte makrozomik çocuk geçmişi olanlar, tip 2 diyabet riski yüksek olan bazı etnik gruplardan gelen kadınlar ve açlık ya da günlük kan şekeri seviyelerinde herhangi bir yükselme olan hamile kadınlar vardır. GDM, hem anne hem de fetus için zararlı sonuçlar doğurabilir. Yüksek açlık glukoz konsantrasyonları ile hamilelik sırasında ya da önceden ortaya çıkmış diyabet, gebeliğin son 4 ila 8 haftasında intrauterin fetal ölüm riski dâhil olmak üzere, doğuştan anormallikler ve diğer komplikasyonlarla ilişkilidir (Comess ve ark, 1969). Aşırı açlık hiperglisemisi olmayan GDM, artmış perinatal mortalite ile ilişkilendirilmemiştir. Ancak GDM fetal makrozomi riskini ciddi bir şekilde arttırır (Pettitt ve ark, 1982). Yenidoğan hipoglisemisi, sarılık, polisitemi ve hipokalsemi diğer fetal komplikasyonlarıdır. GDM' li veya hamilelik öncesi tip 2 diyabetli kadınların yavruları, ergenlikte obezite ve diyabet riski altındadırlar (Pettitt ve ark, 1980). Hamilelik sırasında diyabet için yüksek risk özelliklerine sahip kadınların örneğin; obezite, GDM, glikozüri veya ailede diyabet öyküsü olanlar mümkün olan en kısa sürede glukoz testinden geçmelidirler. Gebeliğin ilk üç ayında gebe kadınların taraması, önceden tanı konmamış diyabet veya glukoz intoleransını saptamak için uygundur. Açlık plazma glukoz seviyesi 126 mg/dL veya daha fazla olan veya hamilelik sırasında herhangi bir zamanda 200 mg/dL veya daha yüksek bir plazma glikoz seviyesi olan kadınlara, diyabet tanısı konulabilir. GDM için genellikle sistematik test 24-28. haftalar arasında yapılır. (American Diabetes Association, 2004).

2.4.2. Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati tip 1 ve tip 2 DM 'un en sık görülen, mikrovasküler komplikasyonudur (Sperling, 2003; Holt ve ark, 2010). Diyabetik nefropati erken kan

basıncı yükselmesi, persistan mikroalbuminüri, glomerüler filtrasyon hızı (GFH)'nda düşme, yüksek kardiyovasküler morbidite ve mortalite riski ile karakterizedir (Parving ve ark, 1996; Shaw ve Cummings, 2005; Scobie, 2007; Holt ve ark, 2010).

Diyabetik nefropati gelişim evreleri 5 döneme ayrılır.

Evre 1 (Hipertrofi-Hiperfiltrasyon Dönemi): Tip 1 DM'li hastalarda diyabet tanısı konulduğunda %20-40 ve böbrek plazma akımı ise %9-14 oranında artmış olarak ortaya çıkar (Yenigün ve Altuntaş, 2001; İliçin ve ark, 2003). İdrar protein atılımına paralel olarak artış gösterir (İliçin ve ark, 2003), ancak mikroalbuminüri düzeyinde değildir (Yenigün ve Altuntaş, 2001). Serum kreatinini 60-100 $\mu\text{mol/l}$ 'dir (Watkins, 2003). Bu dönemde hiperfiltrasyon ile böbrek hacmi arasında yakın ilişki vardır. Ayrıca bu dönemdeki hiperfiltrasyon ile daha sonra ortaya çıkacak olan albuminürinin şiddeti arasında, geriye dönük olarak yapılan bazı çalışmalarda yakın ilişki bulunmuştur (Yenigün ve Altuntaş, 2001). Bu evre yaklaşık olarak 2 yıl kadar sürer (İliçin ve ark, 2003).

Evre 2 (Sessiz Dönem): Tanıdan 2-3 yıl sonraki evredir. Değerlerindeki artış devam etmekte, idrarda albuminüri normal seviyelerde bulunmaktadır. Kan basıncı ise çoğunlukla normaldir. Serum kreatinini 60-120 $\mu\text{mol/l}$ 'dir. Konvansiyonel insülin tedavisi ile bu dönem 5-15 yıl arasında sürer. Renal morfolojik değişikliklerin başladığı dönem bu evredir. Mezengium hacminde artma, glomerül bazal membranında kalınlaşmalar meydana gelir (Yenigün ve Altuntaş, 2001; İliçin ve ark, 2003; Watkins, 2003; Sperling, 2003).

Evre 3 (Mikroalbuminüri-Başlangıç Dönemi): Bu dönem diyabetin başlangıcından yaklaşık 6-15 yıl sonra ortaya çıkar. İdrarda ki albumin miktarı 20-200 mg/dk (30-300 mg/24 saat) arasındadır. Kan basıncı normal sınırlarda bulunmakla birlikte daha önceki değerlere göre artış gösterebilir. Serum kreatinini 80-120 $\mu\text{mol/l}$ 'dir (Watkins, 2003). Bu dönemde mezengium hacminde artış, filtrasyon yüzeyinde ve bazal membranda kalınlaşmalar izlenir (Yenigün ve Altuntaş, 2001; İliçin ve ark, 2003; Watkins, 2003; Sperling, 2003).

Evre 4 (Azotemik Dönem): Hastalığın başlangıcından itibaren ortalama 17. yılında bu evreye ulaşılır (İliçin ve ark, 2003). Bu dönemde 500 mg/gün (>300 mg/gün albuminüri) ve daha fazla proteinüri bulunur. Her yıl proteinüri miktarında %15-40'lık artış izlenir. Öte yandan da yıllık 10-12 ml/dk'lık geriye dönüşümsüz azalma ortaya çıkar. Çoğu

hasta da hipertansiyon artık sendromun bir parçası haline gelir (Yenigün ve Altuntaş, 2001; İliçin ve ark, 2003). Serum kreatinini 120-400 $\mu\text{mol/l}$ 'dir. Morfolojik anormallik olarak glomeruloskleroz ortaya çıkar (Watkins, 2003).

Evre 5 (Son Dönem Böbrek Yetmezliği): Diyabetin ilk ortaya çıkışından itibaren yaklaşık 20-30 yıl sonra bu son evreye ulaşılır (Sperling, 2003). Bu dönemde son dönem böbrek yetmezliği gelişmiştir (Yenigün ve Altuntaş, 2001). Ağır hipertansiyon, üre ve kreatinin yüksekliği vardır (İliçin ve ark, 2003). Serum kreatinini $>400 \mu\text{mol/l}$ 'dir (Watkins, 2003). Aşıkâr proteinüri geliştikten ortalama 7-10 yıl sonra hastalarda genellikle renal replasman tedavisi mecbur hale gelmektedir (Yenigün ve Altuntaş, 2001).

2.5. STREPTOZOTOSİN

STZ nitrosourea türevi olan ve deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. İlk olarak 1959 yılında *Streptomyces achromogenes*'den izole edilmiştir. N-(Metilnitrosokarbamoil)- α -D-glukozamin yapısındadır ve ışıktan korunmalıdır. Nötral pH'da hızla dekompoze olduğundan optimum stabilitesi için ortamın pH'sı 4-4.5 olmalıdır. Bu yüzden STZ çözündürülürken sitrat tamponu kullanılmalıdır. Pankreas β hücrelerine hasar vererek hem insüline bağımlı hem de insülininden bağımsız diyabete neden olmaktadır. STZ toksisitesi, metilnitrozoüre parçacığının DNA alkilleme aktivitesine bağlıdır. STZ'den DNA molekülüne metil grup transferi, tanımlanan zincir boyunca DNA'nın fragmentasyonu ile sonuçlanan hasarlar meydana getirir (Murata ve ark, 1999). Ayrıca ortamdaki protein glikozilasyonu ek yıkıcı faktör olarak davranmaktadır. DNA tamir edileceği zaman poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) aşırı bir şekilde stimule edilir. Bu durumda hücrel NAD⁺ seviyeleri ve ATP depoları azalır. Hücrel enerji depolarının sonunda bitmesiyle birlikte β hücrelerinde nekrozis şekillenir. STZ proteinleri de metillemesine rağmen, DNA metilasyonu β hücre ölümünün esas sorumlusudur fakat muhtemel olan protein metilasyonunun, STZ'ye maruz kalan β hücrelerindeki fonksiyonel kayba katkıda bulunduğu (Pieper ve ark, 1999).

STZ'nin diyabetojenik etkisi ilk kez 1963 yılında Rakieta tarafından bildirilmiş olup daha sonraki yıllarda deneysel Tip 1 ve Tip 2 diyabet çalışmalarında sıkça kullanılmıştır (Öcal ve ark, 1984; Büyükdevrim, 1989). STZ pankreatik β hücreleri üzerine toksik etkisi sayesinde insülin yetersizliğine yol açarak hiperglisemiye neden olmaktadır (Kahn

ve Weir, 1996; Tatsuki ve ark, 1997; Bolzan ve Bianchi, 2002; Kanter ve ark, 2004, Coşkun ve ark, 2004). Hipergliseminin derecesi ve süresi, ilacın dozuna ve deney hayvanının türüne bağlıdır. Kedi, köpek, sıçan ve farede 50 mg/kg doz diyabet oluşturma için yeterli iken tavşanda 300 mg/kg ve hamsterde 175 mg/kg gereklidir. Glikoz metabolizmasına olan etkisi Wistar sıçanlarda denenmiş olup, STZ uygulamasını takiben ilk 24 saat içerisinde kan şekeri, serum insülin ve glukagon düzeylerinin ”penta fazik” bir değişim göstererek kalıcı hiperglisemi’nin oluştuğu gösterilmiştir. STZ dozu, artırılarak 4-5 gün süreyle tekrarlandığında otoimmün diyabete benzeyen diyabet modeli gelişir (Carney ve ark, 1979; Büyükdevrim, 1989). Tek ve yoğun dozda kullanılan STZ, β hücrelerinde oluşan tam hasarla insüline bağımlı diyabet oluşturur. Yetişkin sıçanlara STZ uygulaması Tip 1 DM (İnsüline bağımlı) geliştirirken, yenidoğan sıçan yavrularına STZ uygulaması Tip II DM geliştirir. Yetişkin sıçanlarda STZ’nin diyabetojenik dozunun tek enjeksiyonu β hücrelerini yıkarken, subdiyabetojenik çoklu doz kullanımı belirgin lenfosit infiltrasyonuna neden olur (Kim ve ark, 2001). STZ’nin ayrıca böbrek veya hepatik doku üzerine toksik etkisi de bulunmaktadır. Böbrek dokusunda proksimal tübüller üzerine toksik etkisi ile hasar oluşturduğu ve proteinüriye neden olduğu bildirilmiştir (Kahn ve Weir, 1996). Diyabetojenik ve antibiyotik özelliklerinin yanı sıra STZ genotoksiktir; mikrobiyal mutagenез, programsız I sentezi, mikronukleus, kromozomal düzensizlikler ve kardeş kromatid değişir çalışmalarında bu özelliği kanıtlanmıştır (Bolzan ve Bianchi, 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi’nde (DEKAM) üretilmiş olan daha önce çiftleşmemiş üç aylık, sağlıklı 48 adet, ağırlıkları 200-250gr arasında değişen Wistar albino türü dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar araştırma süresince 19-21 °C sabit sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık/karanlık sikluslu çevre, özel hazırlanmış standart laboratuvar koşullarında ve otomatik olarak klimatize edilen odalarda plastik kafeslerde korundu. Deney süresince sıçanlar normal pelet yemle beslendi. Her grupta 24 dişi sıçan olacak şekilde başlıca 2 gruba ayrıldı. Her bir grupta kendi içinde farklı

gelişim dönemleri (15, 17 ve 19. günler) olmak üzere ve her gruba 8 adet dişi sıçan olacak şekilde 3 alt gruba ayrıldı. Dişi sıçanlara 60 mg/kg intraperitoneal (ip) STZ uygulaması yapıldıktan 3 gün sonra glukometre ile kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Kan glukoz değerleri 200 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabet olarak kabul edilip gebelik için çiftleşmeye bırakıldı. Çalışmada, 3 dişi bir erkek olacak şekilde gece boyunca aynı kafeste bırakıldıktan sonraki sabah vaginal smear yapılarak spermatozoon (+) olanlar 0.5 günlük gebe olarak kabul edildi. Gebe sıçanlar aynı laboratuvar koşullarında gruplara göre plastik kafeslere yerleştirildi.

Gruplar aşağıda belirtildiği şekilde oluşturuldu.

Deney Grupları

Grup I (Kontrol grubu) (n=24): Kontrol grubu gebe sıçanlara gebelikleri süresince hiçbir uygulama yapılmayan grup. Kontrol grubuna ait gebe sıçanlar gelişimin 15 (n=8), 17 (n=8), ve 19. (n=8) günler olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı.

Grup II (STZ grubu) (n=24): Bu gruba ait olan sıçanlara sitrat tampon içerisinde hazırlanan tek doz STZ (60 mg/kg) uygulaması yapılarak dişi sıçanlarda deneysel diyabet modeli oluşturuldu. STZ grubuna ait gebe sıçanlar gelişimin 15 (n=8), 17 (n=8), ve 19. (n=8) günler olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı.

Kontrol ve deney grubundaki gebe sıçanlar gebeliklerinin 15, 17 ve 19. günlerinde, ip olarak ketamine hydrochloride (50 mg/kg) ve %2 ksilazine hydrochloride (10 mg/kg) ile anestezi sağlandıktan sonra anestezisi altında, sezeryanla fetusları çıkarıldı ve %10'luk formaldehit solüsyonuna alındı.

3.1. Histolojik Değerlendirme

3.1.1. Histolojik Doku Takip Yöntemi

Tespit solüsyonunda 72 saat bekleyen dokular akan musluk suyunda yıkandıktan sonra artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek suyun uzaklaştırılması sağlandı. Sonrasında dokuları şeffaflandırmak amacıyla ksilenden geçirildi ve erimiş parafinde bir gece bekletildi. Son olarak parafine gömülerek bloklandı. Yapılan işlemler Tablo 1 de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 3. 1. Işık mikroskobu doku hazırlama metodu

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
------	---------------	------	------	---------------	------

1	%10 Formaldehid	72 saat	8	Absolü Alkol	1 saat
2	Musluk suyu	1 gece	9	Absolü Alkol	1 saat
3	%50 Alkol	1 saat	10	Ksilen	20 dk
4	%70 Alkol	1 saat	11	Ksilen	20 dk
5	%80 Alkol	1 saat	12	Ksilen	20 dk
6	%96 Alkol	1 saat	13	Eriyik parafin (60°C)	1 gece
7	Absolü Alkol	1 saat	14	Bloklama	

Işık mikroskopik incelemeler için mikrotomda (Leica RM 2155) 5µm'lik kesitler alınarak 37°C su banyosunda kesitlerin açılması sağlandı. Gelişimin farklı dönemlerindeki embriyolara ait böbrek dokularını incelemek için seri kesitler alındı. Hazırlanan parafin bloklardaki embriyolardan elde edilen 5µm kalınlığındaki kesitler 1 gece boyunca 60 °C'lik etüvde bekletildi. Farklı gelişim dönemlerindeki böbrek dokularının değerlendirilmesi için kesitlere Hematoksilen & Eozin (Tablo 3.2.), Periodik Asit Schiff (PAS) (Tablo 3.3.), Masson Trikrom (MT) (Tablo 3.4) boyamaları uygulandı. İmmunohistokimyasal çalışmalar içinde Urotensin II ve TGF-β1 primer antikorları kullanıldı. Kesitler Olympus BX51 bilgisayar destekli ışık mikroskobu altında görüntülendi.

Hematoksilen&Eosin (H&E) Boyama: Herbir sıçana ait böbrek dokusundan alınan 5 µm'lik kesitler 1 gece boyunca 60°C'lik etüvde bekletildi ve ertesi gün H&E boyama yöntemi uygulandı (Tablo 3- 2).

Tablo 3. 2. Hematoksilen&Eozin Boyama Yöntemi

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Ksilen-I	15 dk	12	Akarsu	10 dk
2	Ksilen-II	15 dk	13	%50 Alkol	10 dk
3	Absolü Alkol	10 dk	14	%70 Alkol	10 dk
4	%96 Alkol	10 dk	15	%80 Alkol	10 dk
5	%80 Alkol	10 dk	16	%96 Alkol	10 dk
6	%70 Alkol	10 dk	17	Absolü Alkol	10 dk
7	%50 Alkol	10 dk	18	Absolü Alkol	10 dk
8	Akarsu	10 dk	19	Ksilen-I	15 dk
9	Hematoksilen	7 dk	20	Ksilen-II	15 dk
10	Akarsu	5 dk	21	Kapatma	
11	Eozin	5 dk			

Periodik Asit Schiff Boyama (PAS): Parafin bloklardan elde edilen kesitler 1 gece boyunca 60⁰C’lik etüvde bekletildikten sonra kesitlere PAS boyama yöntemi uygulandı (Tablo 3-3).

Tablo 3. 3. Periodik Asit Schiff Boyama Yöntemi

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Deparafinizasyon ve rehidratasyon		9	Akarsu	5 dk
2	Periodik Asit	7 dk	10	%96 Alkol	1 dk
3	Distile suda yıkama (2 kez)	2 dk	11	Absolü alkol	2 dk
4	Shiff solüsyonu	15 dk	12	Absolü alkol	2 dk
5	Akarsu	10 dk	13	Ksilen	15 dk
6	Hematoksilen	5 dk	14	Ksilen	15 dk
7	Asit alkol	1-2 sn	15	Ksilen	15 dk
8	Akarsu	5 dk	16	Kapatma	

Masson Trikrom (MT) Boyama Yöntemi: Parafin bloklardan elde edilen kesitler 1 gece boyunca 60⁰C’lik etüvde bekletildikten sonra kesitlere Masson trikrom boyama yöntemi uygulandı (Tablo 3-4).

Tablo 3. 4. Masson Trikrom Boyama Yöntemi

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Ksilen-I	15 dk	15	Fosfomolibdik asit	5 dk
2	Ksilen-II	15 dk	16	Anilin blue	2-5 dk
3	Absolü Alkol	10 dk	17	Distile su	5 dk
4	%96 Alkol	10 dk	18	%1' lik asetik asit	2 dk
5	%80 Alkol	10 dk	19	Distile su	5 dk
6	%70 Alkol	10 dk	20	%50 Alkol	2 dk
7	%50 Alkol	10 dk	21	%70 Alkol	2 dk
8	Akarsu	10 dk	22	%80 Alkol	2 dk
9	Hematoksilen	7 dk	23	%96 Alkol	2 dk
10	Akarsu	5 dk	24	Absolü Alkol	10 dk
11	Asit alkol	30 sn	25	Absolü Alkol	10 dk
12	Akarsu	10 dk	26	Ksilen-I	15 dk
13	Asit fuksin	1-2 dk	27	Ksilen-II	15 dk
14	Distile su	5 dk	27	Kapatma	

3.1.2. İmmunohistokimyasal Uygulama

Çalışma gruplarına ait embriyoların böbrek dokularında Urotensin II ve TGF- β 1ekspresyonunu belirlemek için, böbrek kesitlerinin bulunduğu preparatlara avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immunohistokimyasal boyama metodu uygulandı. Bunun için %10'luk formaldehit içinde bekletilip rutin histolojik doku takibi uygulandıktan sonra hazırlanan parafin bloklar kullanıldı (Tablo 3.5.). Özetle, parafin bloklardan alınan 5 μ m'lik kesitler bir gece 60°C'de tutuldu, önce ksilen daha sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edildi ve kesitler daha sonra Phosphate Buffer Saline (PBS) ile 3 defa 5'er dakika yıkandı. Daha sonra %10'luk sitrat tamponu ile mikrodalga fırında 600 W'de 5 dakika kaynatıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Kesitlere 12 dakika süreyle %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) uygulandı ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Lamlar 2 kez 5'er dakika PBS (pH: 7.4) ile yıkandı. Bundan sonraki aşamalar için Thermo Scientific (Lab Vision™ UltraVision™ Large Volume Detection System: anti-Polyvalent, HRP (Ready-To-Use), TA-125-HL) immünohistokimya boyama kiti kullanıldı. Tekrar PBS ile yıkanan kesitlere antijenik alanların dışında kalan bölgelerin kapatılmasını sağlamak için oda sıcaklığında 20 dakika Ultra V Block uygulandı. Hemen ardından kesitlere Urotensin II (LS Bio

(LifeSpan BioSciences), LS-C403705) veya TGF- β 1 (Santa Cruz Blotechnology, SC-146) primer antikoru uygulanarak 1 gece +4°C’de bekletildi ve ertesi sabah 30 dakika oda ısısında bekletildi. Yıkama işleminden sonra kesitler biotinli-sekonder antikor ile 30 dakika inkübe edilerek primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra, streptavidin peroksidaz enzim ile 30 dakika muamele edilen kesitler yıkanarak immunreaktiviteyi görünür hale getirmek için 3,3' P-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) (Lab vision, UltraVision detection system Large volume DAB substrate system, TA-125-HD) özelliği gösteren kitteki peroksidaz substrat ile 1-10 dakika muamele edildikten sonra 5 dakika distile su ile yıkandı. Gill hematoksilin ile zıt boyanan kesitler birkaç kez distile su ile yıkandı. Son olarak artan alkol serileri ile suyu uzaklaştırılarak ksilenden geçirilen kesitler kapatma solüsyonu (Entellan®, Merck) ile kapatılarak ışık mikroskopunda (Olympus BX51, Tokyo, Japan) incelendi. Boyama metodu aşağıdaki tabloda (Tablo 3.4.) ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 3. 5. İmmünohistokimya boyama tekniği.

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	1 saat	18	PBS	3x5 dk
2	Ksilen I	5 dk	19	Avidin-Biotin Peroksidaz	10 dk
3	Ksilen II	5 dk	20	PBS	3x5 dk
4	Ksilen III	5 dk	21	DAB kromojen	3-5 dk
5	Absolü Alkol	5 dk	22	Distile su	Yıka
6	%96 Alkol	5 dk	23	Hematoksilen	1 dk
7	%80 Alkol	5 dk	24	Musluk suyu	5 dk
8	%70 Alkol	5 dk	25	Distile su	Yıka
9	Distile Su	2x3 dk yıka	26	%70 Alkol	3 dk
10	%10 Sitrat Buffer	5 dk	27	%80 Alkol	3 dk
11	PBS	3x5 dk	28	%96 Alkol	3 dk
12	%3 H ₂ O ₂	12 dk	29	Absolü Alkol	3 dk
13	PBS	3x5 dk	30	Ksilen I	3 dk
14	Normal Serum	20 dk	31	Ksilen II	3 dk
15	Primer Antikor	1 gece	32	Ksilen III	3 dk
16	PBS	3x5 dk	33	Kapatma	
17	Sekonder Antikor	30 dk			

İmmünohistokimya boyama metodu ile boyanan embriyo böbrek kesitlerinde Urotensin II ve TGF- β 1 immünreaktivite yoğunluğunun hesaplanması için Image J software programı kullanıldı. Bunun için her bir dokuya ait 40X büyütmede rastgele beş farklı bölgeden alınan ışık mikroskopik fotoğraflar kullanıldı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.2. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistik Analizler için PRISM (Graphpad Software Inc, Version 8.0d) programı kullanıldı. Ham veriler grup ortalamaları $\pm$ SEM (ortalamanın standart hatası) şeklinde sunulmuştur. İmmünohistokimyasal veriler için 2-yönlü ANOVA yöntemiyle analiz edildi. Gruplar arası immünohistokimyasal immünreaktivite yoğunlukları Bonferroni'nin çoklu karşılaştırma testi kullanılarak analiz edildi. İstatistiksel analiz $p < 0.05$ ise anlamlı olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1.Morfolojik Bulgular

Gelişimin 15. gününe ait kontrol ve STZ grubu böbrek dokuları mikroskopik olarak değerlendirildiğinde, STZ grubunda gelişimin erken dönemindeki tübül yapılarının kontrol grubuna göre daha geniş ve lümeninin daha belirgin olması ile tübüler hipertrofi dikkati çekti. MT ile boyanmış kesitlerde gelişimin bu döneminde bağ dokusu içeriği açısından belirgin bir farklılık gözlenmezken, PAS ile boyanmış böbrek kesitlerinde STZ 15. güne ait böbrek tübüllerinin bazal membranlarında kalınlaşma vardı ve kontrole göre kuvvetli PAS boyama gösterdi (Şekil 4.1).

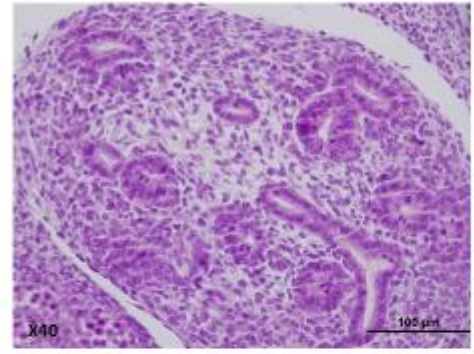
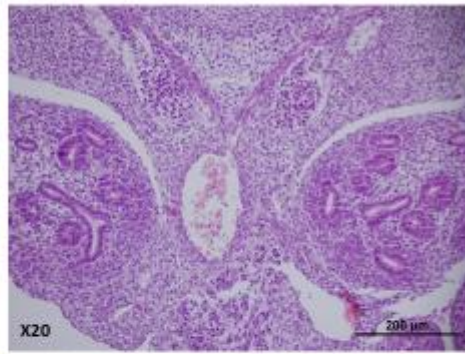
Gelişimin 17. gününde, kontrol ve STZ grubuna ait böbrek dokularında nefronun tübül yapıları ve renal korpuskülleri benzer özellik sergilemekteydi. Kontrol grubunun 17. günlük böbrek dokularının histolojik değerlendirmesinde, korteks ve medulla segmentasyonu belirgin olarak ayırt edilmekteydi. Proksimal ve distal tübüller ile renal korpuskül yapıları tam olarak gelişmemişti, ancak belirgin olup kortekste çok sayıda glomerüler yapılar mevcuttu. STZ 17. gün deney grubuna ait böbrek dokuları histolojik olarak değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre tübül yapılarının küçüldüğü ve özellikle PAS boyamada, proksimal tübüllerin apikal membranlarının fırçası kenarlarında kontrol grubuna göre dökülmeler olduğu görüldü. Kontrol grubu morfolojik olarak normal glomerül ve tübül yapıları gösterirken, 17 günlük STZ böbrek dokularında renal glomerulus daha dağınık yerleşmiş ve özellikle 17. günün deney grubunda Bowman boşluğunun kontrole göre genişlediği dikkati çekmiştir (Şekil 4.2).

Gelişimin 19. günündeki STZ grubuna ait fetusların böbrek histolojisi, kontrol grubundaki sıçan böbreğinin histolojisinden biraz farklıydı. STZ 19. günde, böbrek tübüllerinin lümeni belirgin olarak ayırt edilebiliyordu (Şekil 4.3). PAS boyama ile tübüllerin apikal membran alanları mikrovillus içeriklerinden dolayı koyu boyanmıştı ve tübül hücrelerinin çoğunun mitotik figürleri dikkati çekti. Ayrıca, kortekste oluşan glomerüler yapılar düzenli idi. STZ verilen 19. gün deney grubuna ait böbrek

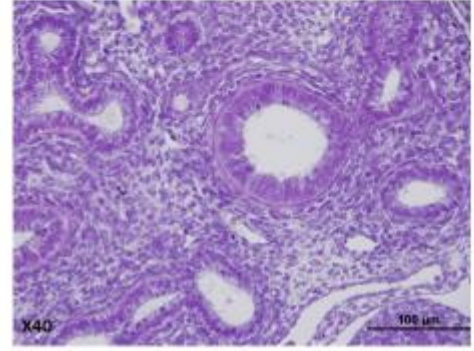
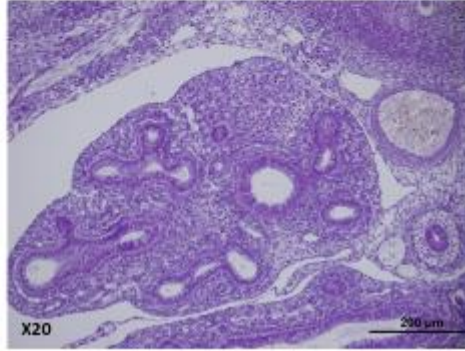
kesitlerinde proksimal kıvrımlı tübülün fırçamsı kenarlarının azaldığı gözlemlendi. Bazı tübüllerin lümeninde daralma vardı ve tübül hücrelerinin kontrol grubundan daha az mitotik aktivitesi dikkati çekti. Ayrıca proksimal tübüllerde tübül epitel hücrelerinin vakuolizasyonu görüldü. 19. gün STZ grubuna ait böbrek kesitlerinde, renal korpusküller kontrol grubuna göre daha dağınık yerleşim gösterdi. MT boyama yapılan kesitlerde, tüm gelişim dönemlerine ait kontrol ve STZ gruplarında, bağ dokusunda alanlarında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

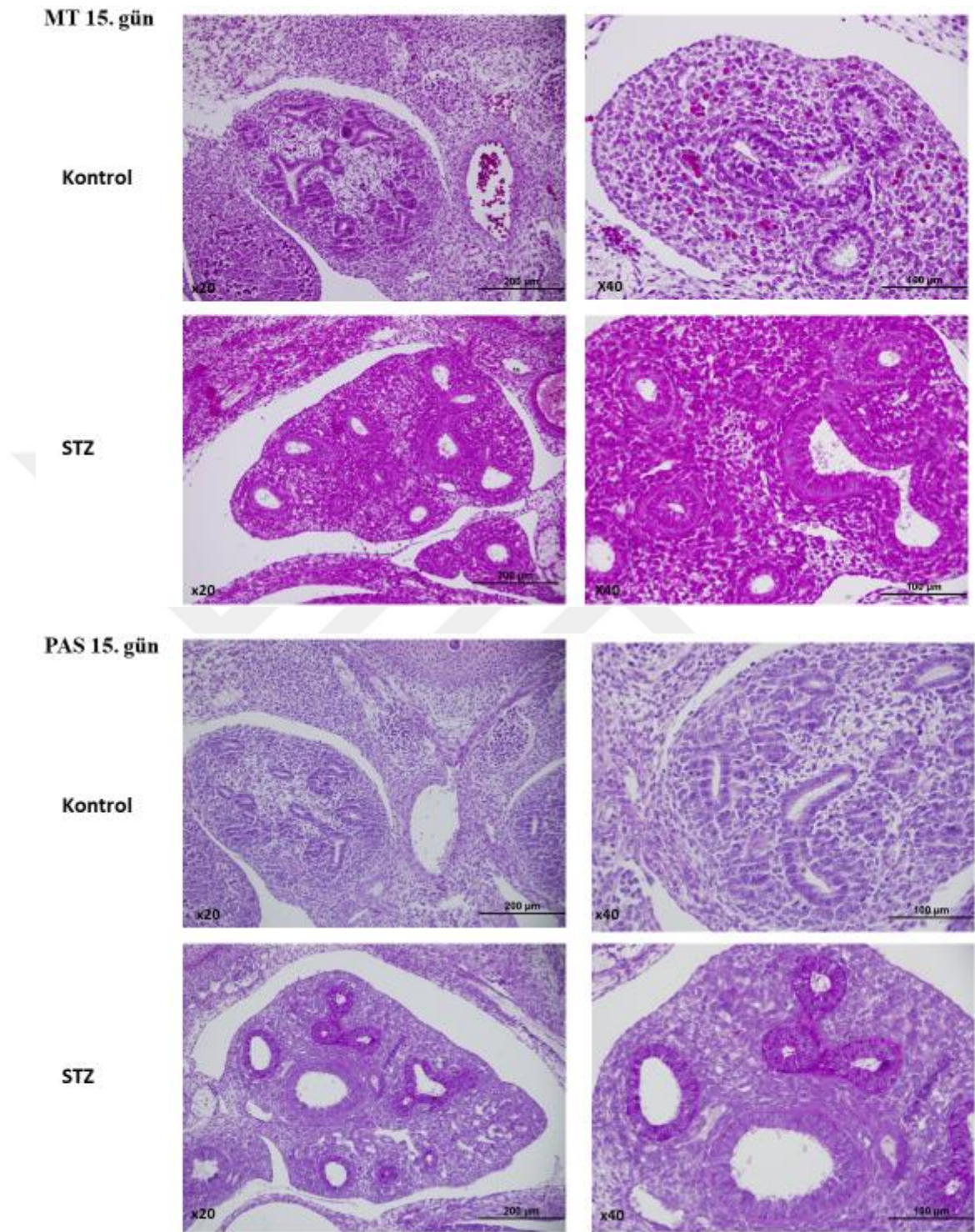
H&E 15. gün

Kontrol



STZ

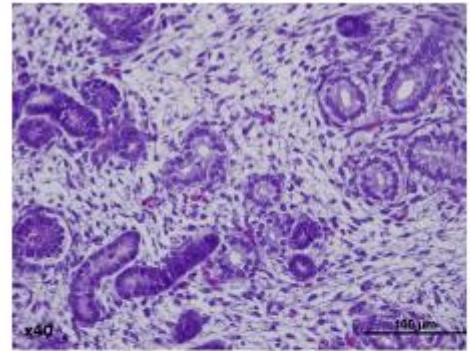
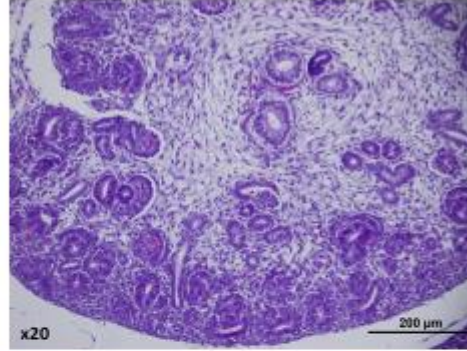




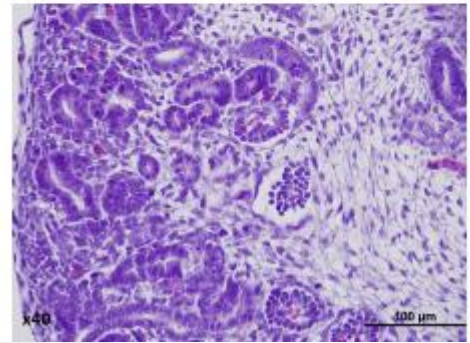
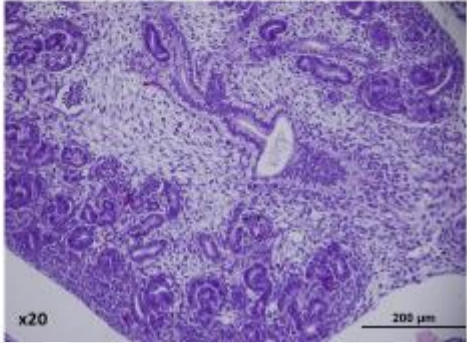
Şekil 4. 1. Tüm gruplara ait gelişimin 15. günü böbrek kesitleri. HE; Hematoksilen&Eozin, MT; Masson trikrom, PAS; Periyodik asid schiff

H&E 17. gün

Kontrol

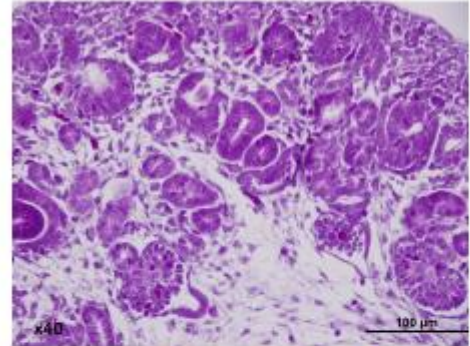
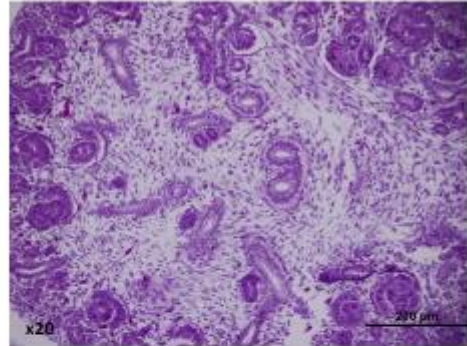


STZ

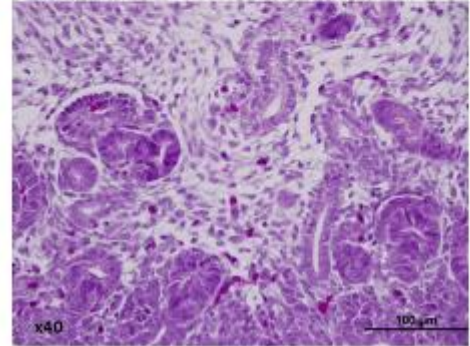
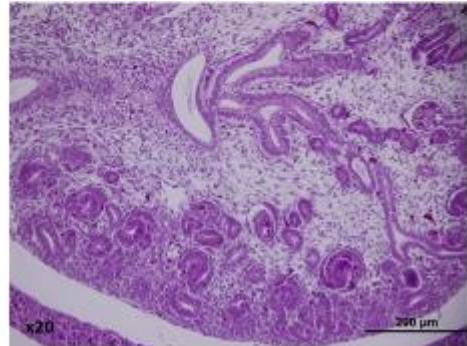


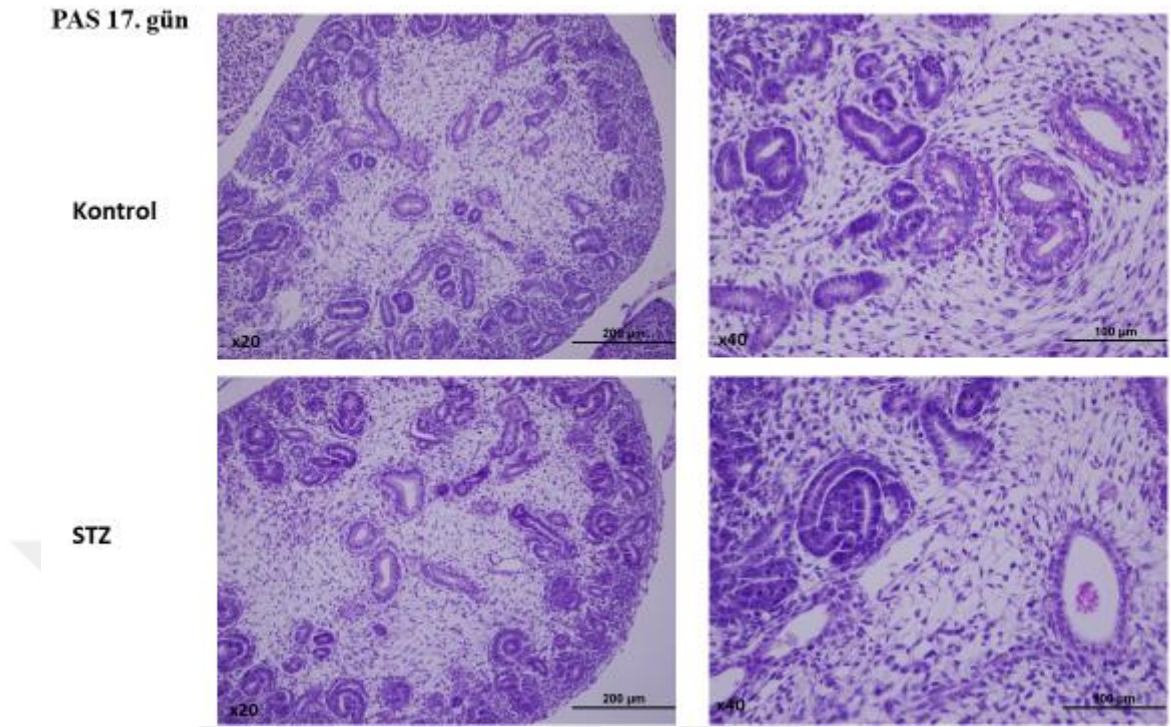
MT 17. gün

Kontrol

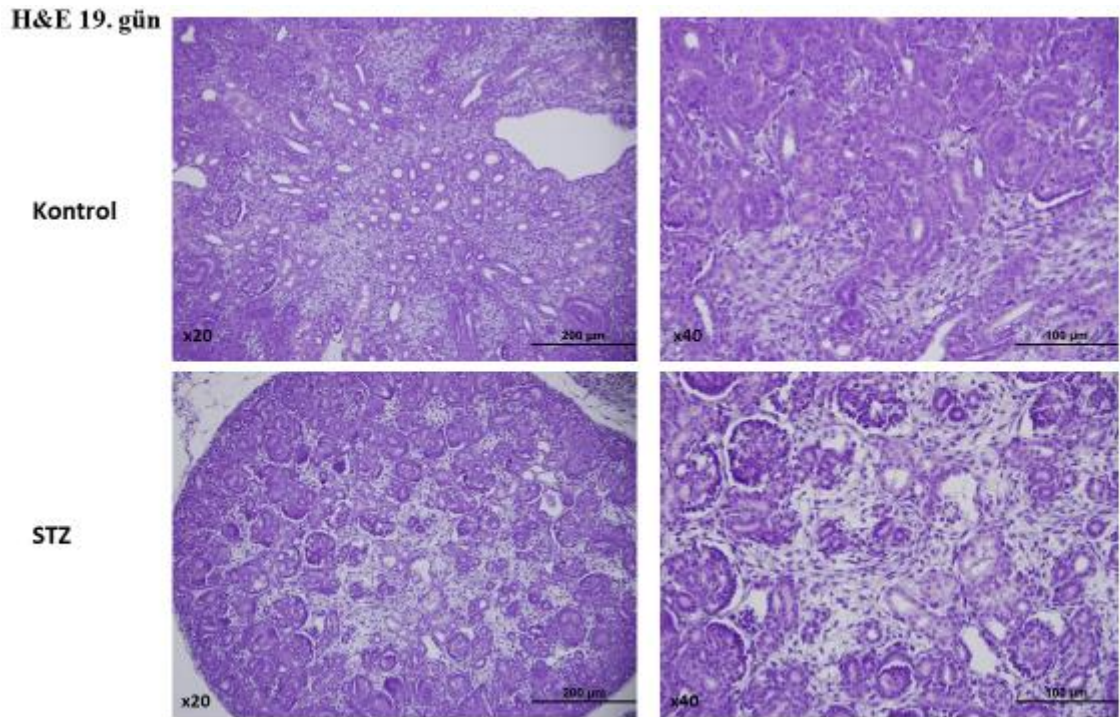


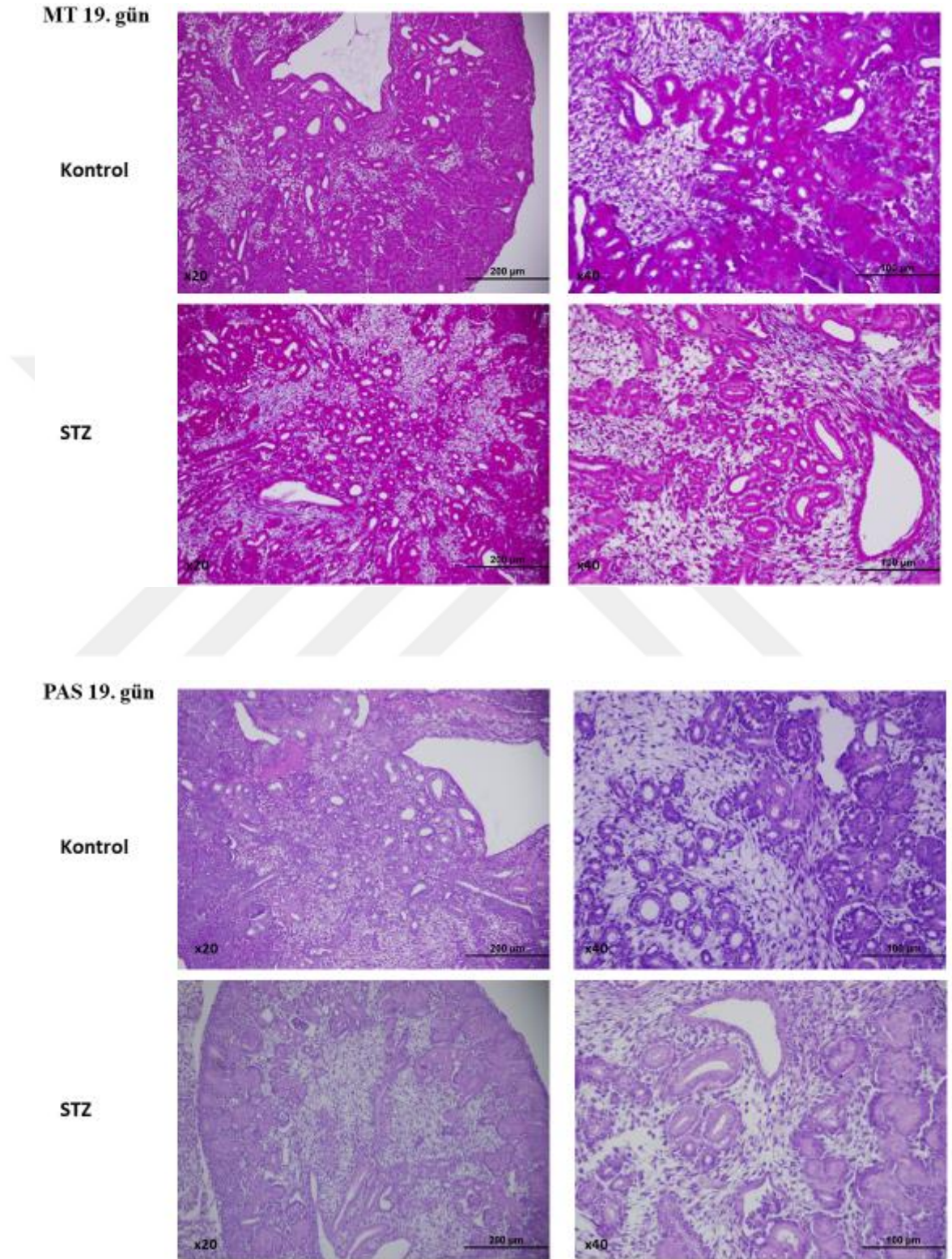
STZ





Şekil 4. 2. Tüm gruplara ait gelişimin 17. günü böbrek kesitleri. HE; Hematoksilen&Eozin, MT; Masson trikrom, PAS; Periyodik asid Schiff



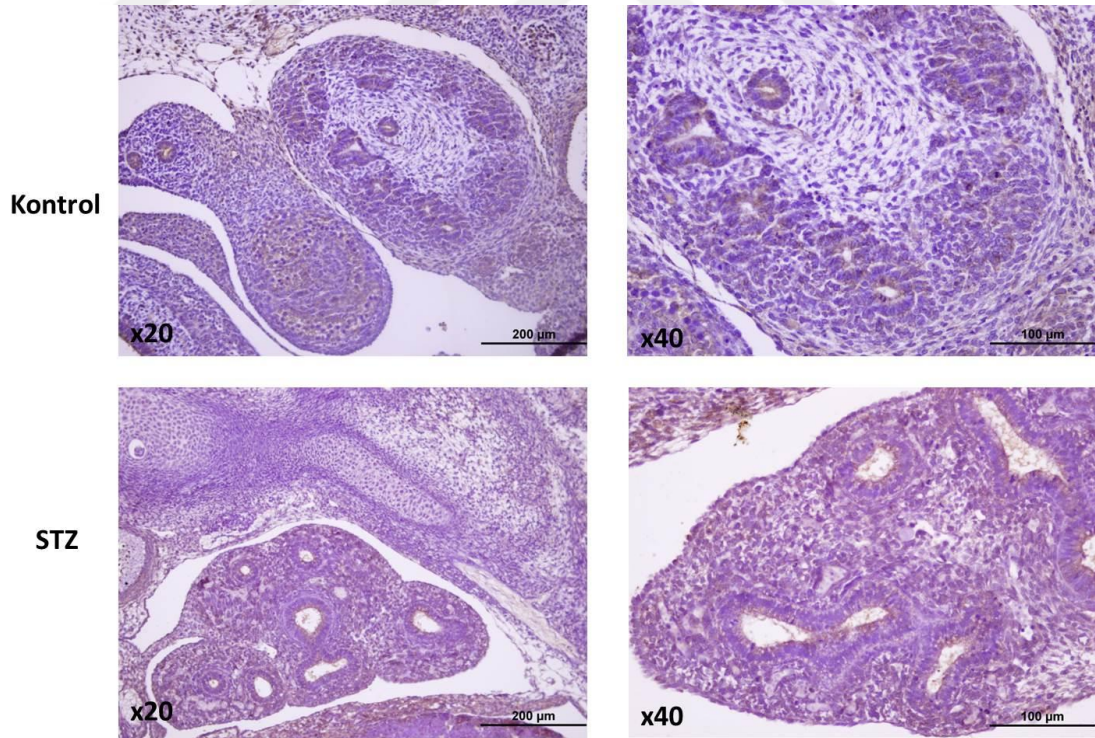


Şekil 4. 3. Tüm gruplara ait gelişimin 19. günü böbrek kesitleri. HE; Hematoksilen&Eozin, MT; Masson trikrom, PAS; Periyodik asid schiff

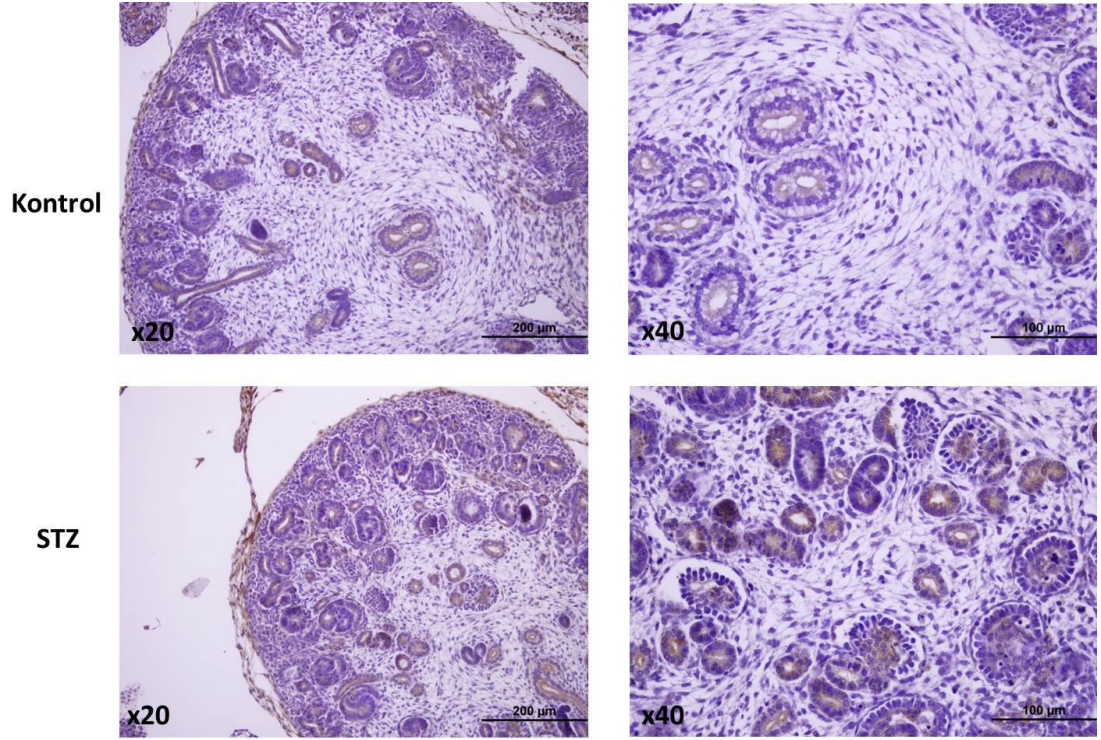
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

4.2.1. Urotensin II

Kontrol ve STZ grubunun farklı gelişim dönemine ait böbrek dokularının Urotensin II immunreaktivite yoğunluğu karşılaştırıldığında, gelişimin 15. gününde STZ grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede artış vardı ($p<0.05$). Buna rağmen gelişimin 17 ve 19. günlerinde, Urotensin II immunreaktivite yoğunluğu STZ grubunda kontrol grubuna göre artmıştı ancak sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Kontrol grubunda gelişimin 15, 17 ve 19. günlerine ait böbrek dokularında Urotensin II immunreaktivite yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmamasına rağmen, STZ grubunda gelişimin 15. gün gibi erken döneminde Urotensin II immunreaktivite yoğunluğu yüksek iken gelişimin ilerleyen dönemlerinde Urotensin II immunreaktivite yoğunluğunda bir azalma olduğu dikkati çekti. İmmunreaktivite yoğunluğundaki bu azalış STZ 15 ve 17. günler arasında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$) (Şekil 4-6).

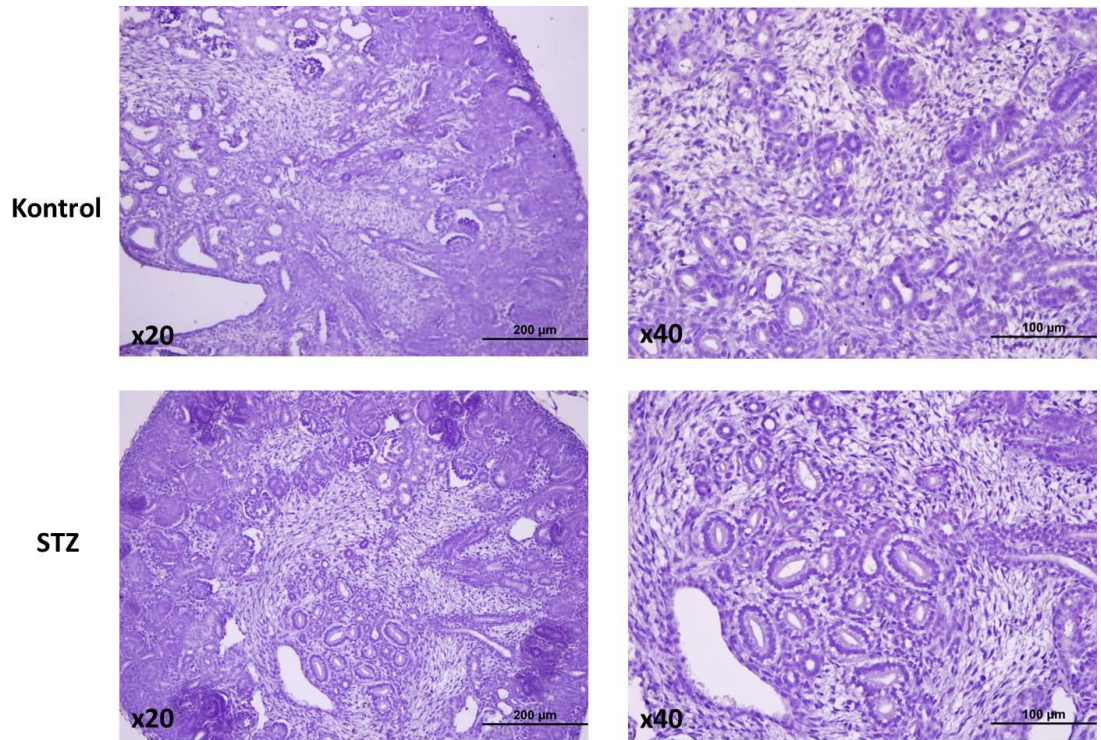


Şekil 4. 4. Tüm gruplara ait gelişimin 15. günü böbrek kesitlerinde Urotensin II immunreaktivitesi.

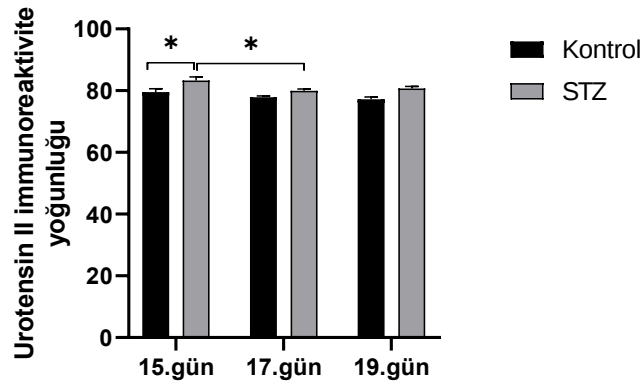


Şekil 4. 5. Tüm gruplara ait gelişimin 17. günü böbrek kesitlerinde Urotensin II immunreaktivitesi.

19. Gün



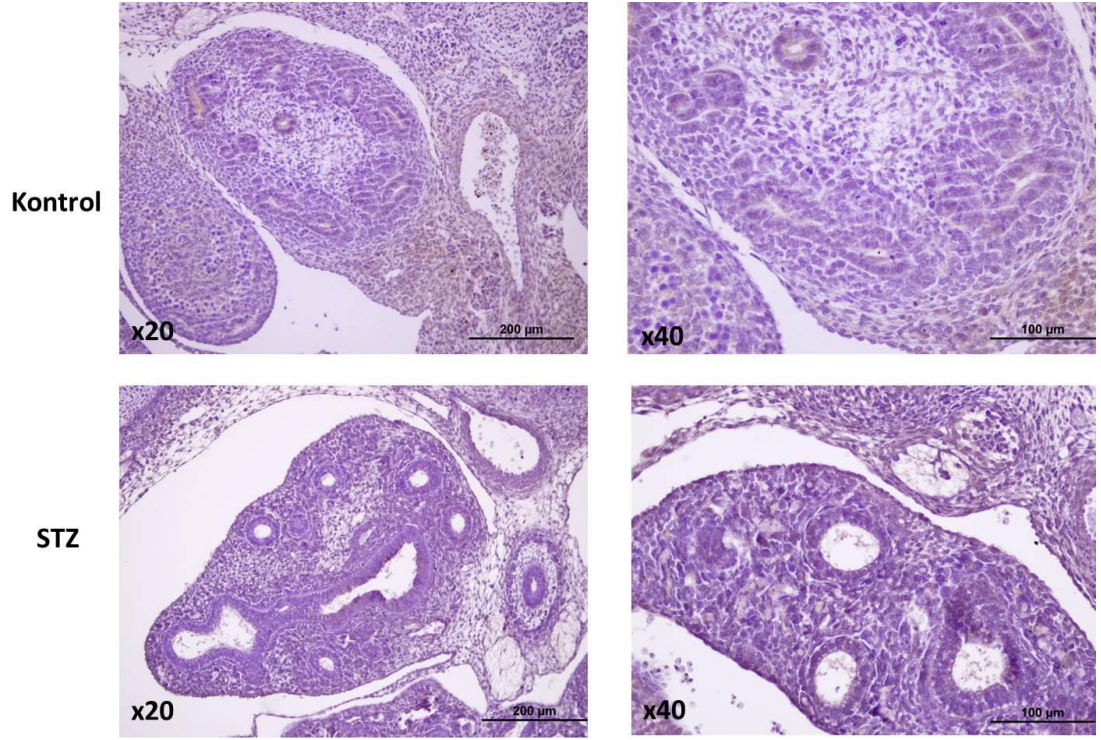
Şekil 4. 6. Tüm gruplara ait gelişimin 19. günü böbrek kesitlerinde Urotensin II immunreaktivitesi.



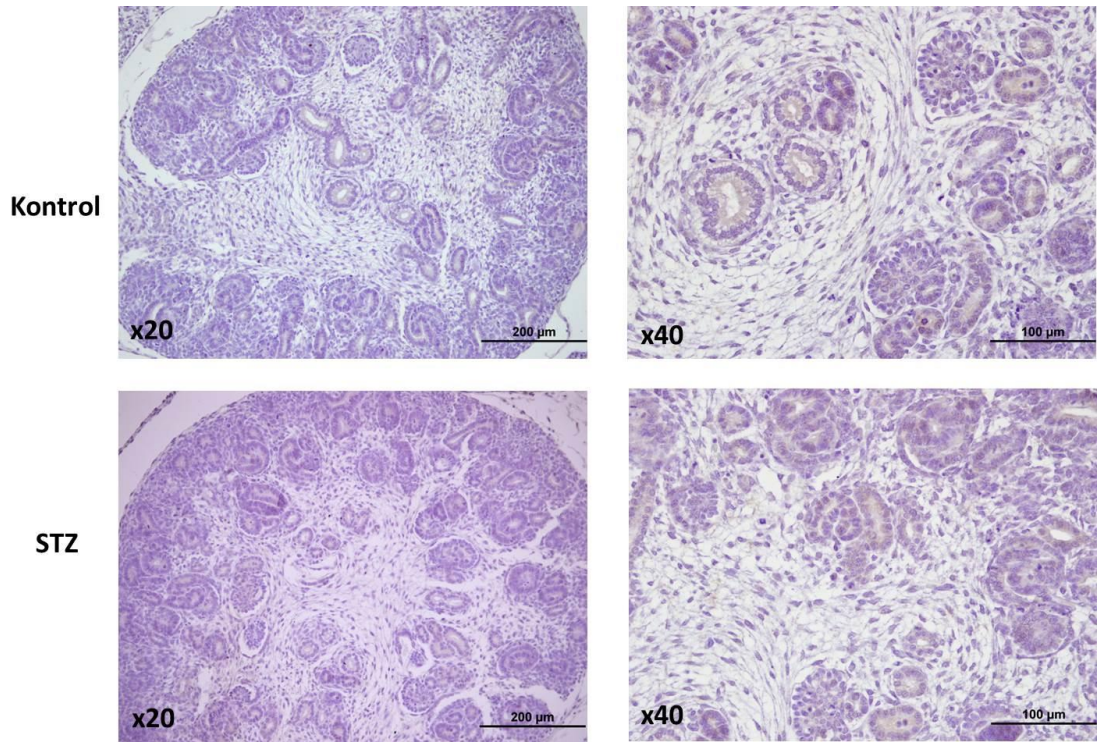
Grafik; Farklı gelişim dönemlerine ait böbrek dokusunda Urotensin II immunreaktivite yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırması.

4.2.2. TGF-β1

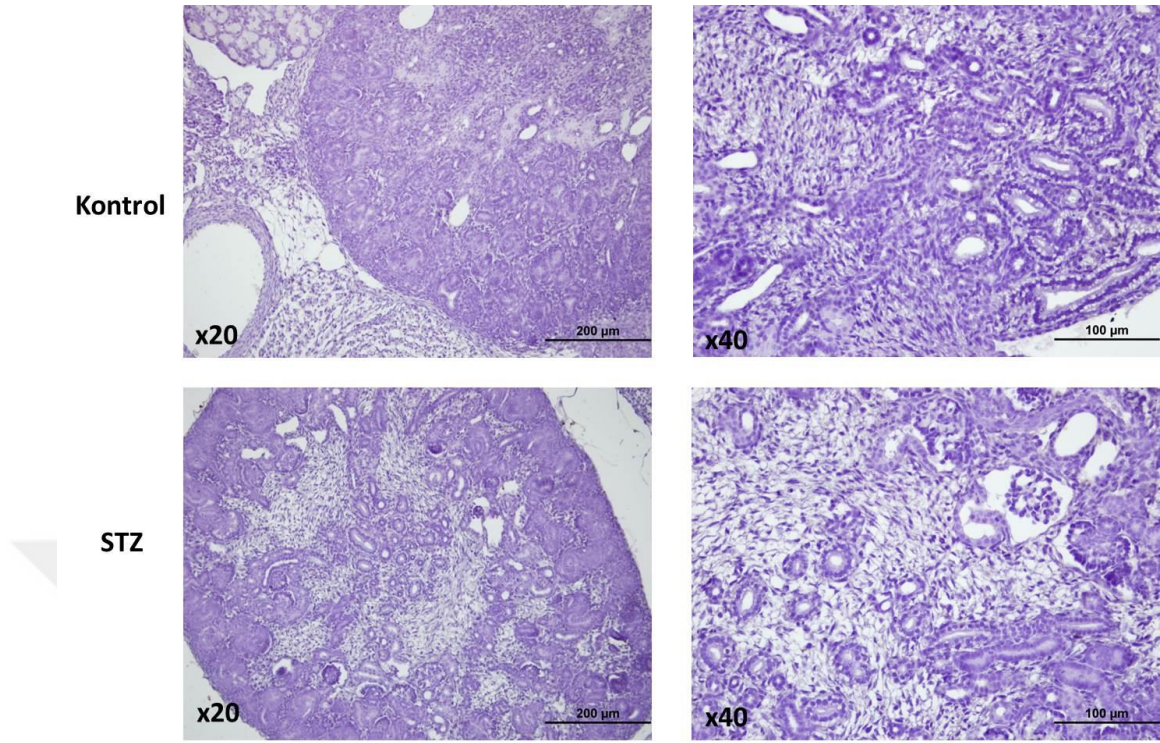
Kontrol ve STZ grubunun farklı gelişim dönemine ait böbrek dokularının TGF-β1 immunreaktivite yoğunluğu karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıkların olduğu dikkati çekti. Gelişimin 17. gününde kontrol ve STZ grupları arasında TGF-β1 immunreaktivite yoğunluğu açısından anlamlı bir farklılık bulunmazken, gelişimin 15. gününde STZ grubunda kontrole göre TGF-β1 immunreaktivite yoğunluğunun istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görüldü ($p<0.001$). Gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında, kontrol grubunda TGF-β1 immunreaktivite yoğunluğunun en yüksek olduğu gelişim dönemi 15. gündü. Gelişimin ilerlemesi ile beraber, gelişimin 19. gününde TGF-β1 immunreaktivite yoğunluğu 15. güne göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı ($p<0.001$). Benzer şekilde STZ grubunda da TGF-β1 immunreaktivite yoğunluğunun en yüksek olduğu gelişim dönemi 15. gündü. STZ 17 ve 19. günlerinde, TGF-β1 immunreaktivite yoğunluğu 15. güne göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü ($p<0.001$) (Şekil 7-9).



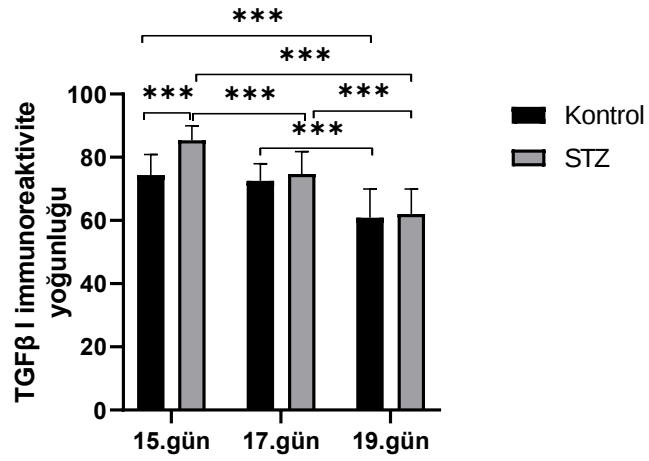
Şekil 4. 7. Tüm gruplara ait gelişimin 15. günü böbrek kesitlerinde TGF- β 1 immunreaktivitesi.



Şekil 4. 8. Tüm gruplara ait gelişimin 17. günü böbrek kesitlerinde TGF- β 1 immunreaktivitesi.



Şekil 4. 9. Tüm gruplara ait gelişimin 19. günü böbrek kesitlerinde TGF- β 1 immunreaktivitesi.



Grafik; Farklı gelişim dönemlerine ait böbrek dokusunda TGF- β 1 immunreaktivite yoğunluğunun gruplar arası karşılaştırması.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

DM, insülin salgılanmasındaki tam veya kısmi yetersizlikle ortaya çıkan kronik hiperglisemi; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklar ile bu bozuklukların sonunda ileri dönemde ortaya çıkan çeşitli komplikasyonlarla (anjiopati, kardiyomiyopati, nöropati ve retinopati gibi) kendini gösteren bir hastalıktır (Avcı, 2001). Bu çalışmada diyabet oluşturulan gebe sıçanların farklı gelişim dönemlerindeki fetuslarının böbrek dokularındaki histopatolojik değişimler ve böbrek dokusunun gelişimine katkıda bulunan Urotensin II ve TGF- β 1 düzeyleri değerlendirilmiştir.

DM, gelişmiş toplumlarda son dönem böbrek yetmezliğinin en önemli nedenlerinden biridir. İnsülin salgılanması veya insülin etkisindeki bozukluktan kaynaklanan ve kronik hiperglisemi ile karakterize bir hastalık olup; karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında ciddi bozukluklara neden olmaktadır (Melendez ve ark., 2010). DM retinopati, nöropati, nefropati, kardiyovasküler hastalıklar ve erkek infertilitesi dahil olmak üzere ciddi komplikasyonları olan, dünya çapında hızla artış gösteren ve özel tedavi yöntemleri gerektiren bir halk sağlığı problemidir (Whiting ve ark, 2011). Günümüzde insülinle veya oral antihiperglisemik ilaçlarla diyabetin kontrol altına alınması söz konusu olsa da bu tedavilerin bırakılması durumunda, diyabet yine kendini göstermekte ve komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır (Ichikiawa ve Kiyama, 1994).

Deneysel hayvan çalışmalarında insandakine benzer diyabet oluşturmak için belli ajanlar kullanılmaktadır. Bu ajanlara örnek olarak STZ geniş spektrumlu bir antibiyotik olup, pankreasın β -hücrelerinde harabiyet yaparak deney hayvanlarında tip 1 diyabet benzeri bir tablo ortaya çıkarmaktadır (Altan ve ark, 2006). Bu diyabet modeli deney hayvanlarında hiperglisemi, glikozüri, plazma insülin düzeylerinde azalma ile kendini gösterir. Hipergliseminin ağırlığı ve hiperglisemik sürecin uzunluğuna bağlı olarak tüm dokular bu duruma maruz kalarak, karaciğer, kalp, böbrek, beyin ve testis gibi dokularda yapısal ve fonksiyonel bozukluklar oluşur (Simmons, 2006). STZ diyabet

modelinde özellikle de değişik şiddetlerde diyabetik nefropati görülür. Tek veya tekrarlayan düşük dozlarda kullanılan STZ' nin pankreas  -hücrelerinde oluşturduğu hasar sonucu DM oluşur. STZ uygulamasından sonra deney hayvanlarında kalıcı bir hiperglisemi tablosu oluşmaktadır (Kim ve ark, 2001). DM, glomerüllerde ve mezangiyum hücrelerinde skleroz oluşturarak hasar yaratır ( zt rk ve Aydın, 2006). Çalışmamızda 60 mg/kg olmak üzere STZ ip. yol ile sıçanlara verildi. 72 saat sonra kan glukoz düzeyleri  l  l rek >200 mg/dl olanlar diyabetli olarak kabul edildi.

Diyabetik nefropati terimi, diyabetik hastaların böbreklerinde sıklıkla görülen lezyonların tümü için kullanılmaktadır (Kumar ve Robbins, 2005). Diyabetik nefropati böbrekte glomerülleri, t b l sleri, intersitisyum alanı ve kan damarlarını etkilemektedir (Fogo ve ark, 2006). Diyabetik nefropatinin erken döneminde; glomerül ve tübülüslerde hipertrofi, tübüler vakuolizasyon, glomerül ve t b l s bazal membranlarında kalınlaşma, arteriyollerde hiyalinozis, glomerüllerde mezangiyum matriksi ve hücre artışı gibi histopatolojik değişikliklerin oluştuğu, yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Sanai ve ark, 2000). Diyabetik nefropati'de yapısal değişiklikler böbreğin bütün bölümlerini kapsamakla birlikte, en karakteristik değişikliklerin glomerüllerde gözlendiği saptanmıştır (Tucker ve ark, 1991). Glomer llerdeki genişleme mezangiyum hücrelerinin sayıca ve hacimce artışına, podosit hipertrofisine ve glomerüler bazal membran kalınlaşmasına bağlanmaktadır (Maarten ve ark, 2012). Bu genişleme glomerüler filtrasyon hızının azalmasına yol açan en önemli sebeplerdendir ( zt rk ve Aydın, 2006). Mezangiyum genişledikçe çevresindeki kapillerlerin lümenini ve buna bağlı olarak da filtrasyon alanını daraltmaktadır (Vestra, 2002). Filtrasyon bariyerini podositlerin ayaksı çıkıntıları, ortak bazal lamina ve diyafram içermeyen pencereci glomerül endoteli oluşturmaktadır. Bazı böbrek hastalıklarında olduğu gibi, diyabetik nefropati'de bu s z c  bariyerin hasar görmesi nedeniyle bariyerden bol miktarda protein geçişi söz konusudur (Floege ve ark, 2010). T b l sler ve intersitisyum, diyabetik nefropati'de tübüler hücre vakuolizasyonu ve tübülointerstisyel fibrozisi de içeren pek çok yapısal değişiklik gösterebilirler (Ziyadeh, 1996). Çalışmamızda kontrol ve DM geliştirilen gebe sıçanların farklı gelişim dönemlerine ait fetuslarının böbrek kesitleri H&E ve diğer özel boyalar ile boyandı ve gruplar karşılaştırıldı. Çalışmadan elde edilen ışık mikroskopik bulgulara göre, kontrol grubuna ait gelişimin 15. günündeki böbrek dokularında normal yapıda yeni gelişmekte olan tübül yapıları gözlenirken, STZ ile DM geliştirilen gebe sıçanlara ait 15. gün fetal böbrek kesitlerinde

tübüllerde hipertrofi ve bazal membranlarında kalınlaşma dikkati çekti. Gelişimin 17. gününde, böbrek dokularının histolojik değerlendirmesinde gelişimin ilerlemesi ile korteks ve medulla ayrımı belirgin olarak ayırt edilmekteydi. Proksimal ve distal tübüller ile renal korpuskül yapıları henüz belirgin değildi, ancak kontrol grubuna ait böbrek kesitlerinde kortekste çok sayıda glomerüler yapı gözlemlendi. STZ 17. gün deney grubuna ait böbrek dokuları kontrol grubu ile kıyaslandığında tübül yapılarının küçüldüğü dikkati çekti. MT boyamada, bağ dokusu alanları açısından gruplar arasında belirgin farklılık gözlenmezken, PAS boyamada, proksimal tübüllerin apikal membranlarının fırçamsı kenarlarında kontrol grubuna göre daha az boyama yoğunluğu görüldü. Kontrol grubu morfolojik olarak normal glomerül ve tübül yapıları gösterirken, 17 günlük STZ böbrek dokularında renal glomerulus daha dağınık yerleşmiş ve özellikle 17. günün deney grubunda Bowman boşluğunun kontrole göre genişlediği görülmüştür. Gelişimin 19. gününde STZ fetuslarına ait böbrek histolojisi, kontrol grubundaki sıçan böbrek mikroskopisinden farklıydı. STZ 19. günde deneklerin tübüllerinin apikal membran alanı PAS boyama ile bol mikrovillus içerdiğini gösterdi. Ayrıca, tübül hücrelerinin çoğunun mitotik figürleri ve kortekste oluşan glomerüler yapılar mevcuttu. Proksimal kıvrımlı tübülün fırçamsı kenarları STZ verilen 19. gün deney grubunda hasarlı olduğu gözlemlendi. Bazı tübüllerin lümeninde daralma vardı ve tübül hücrelerinin kontrol grubundan daha az mitotik aktivitesine ilaveten, proksimal tübüllerde tübüler epitel hücrelerinin vakuolizasyonu dikkati çekti. 19. gün STZ grubuna ait böbrek kesitlerinde, renal korpusküller kontrol grubuna göre daha dağınık yerleşim gösterdi. MT boyama yapılan kesitlerde, tüm gelişim dönemlerine ait kontrol ve STZ gruplarında, bağ dokusu alanlarında anlamlı bir farklılık görülmedi. Tüm bu bulgular, diyabetin böbrek gelişimini olumsuz yönde etkilediğini ve diyabetik nefropatiye benzer bulgulara neden olabileceğini gösterdi.

Urotensin II'nin başlangıçta memelilerde güçlü bir vazokonstriktör olduğu gösterilmiştir (Ames ve ark, 1999), ancak yapılan çalışmalarda böbrekte düzenleyici bir rol de dahil olmak üzere çok çeşitli etkiler gösterdiği de bilinmektedir (Forty ve Ashton, 2012). Aslında, böbrek hem insanlarda hem de sıçanlarda (Song ve ark, 2012) önemli bir Urotensin II kaynağıdır. Diyabetik böbrek dahil çeşitli böbrek hastalarında Urotensin II'nin yüksek konsantrasyonları dikkati çekmiştir (Woo ve ark, 2010; Garoufi ve ark, 2017). Daha şiddetli böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda serum veya idrar Urotensin II konsantrasyonları daha yüksektir, bu da Urotensin II'nin kronik böbrek

hastalığında rol oynadığı fikrine yol açmıştır. Mori ve ark, böbrek fonksiyonu azaldıkça sıçanların böbreklerinde Urotensin II immünoreaktivitesinde paralel artışlar olduğunu göstermiştir. Bu gözlemler, böbrek fonksiyonları azaldıkça Urotensin II ekspresyonunun artmaya devam ettiğini göstermektedir (Mori ve ark, 2009). STZ kaynaklı diyabetik sıçanların böbreklerinde, hücre dışı matriks bileşenlerinin birikimi ile ilişkili olarak, artmış Urotensin II ekspresyonu, diyabette böbrek hasarında önemli bir rol oynayabileceği sonucuna yol açmıştır (Tian ve ark, 2008). Hipertansiyon, siroz, konjestif kalp yetmezliği ve böbrek yetmezliği gibi birçok patolojik durumda plazma Urotensin II düzeyleri artmıştır, ancak böbrek hastalığı da dahil olmak üzere insan hastalıklarında Urotensin II' nin rolü hala tartışmalıdır. Sunulan bu çalışmada gebe sıçanların gelişimin 15. gününe ait

böbrek dokularında Urotensin II immünoreaktivitesinin STZ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı ve önceki çalışmalarla paralellik gösterdiği görülmüştür. Bu çalışmada, diyabetik annenin gelişen fetuslarında diyabetin böbrek gelişimini olumsuz yönde etkilediği ve artmış Urotensin II ekspresyonunun böbrek fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

TGF- β , hücre proliferasyonu, hipertrofi, apoptoz ve fibrogenezinin düzenlenmesinde rol oynayan kronik ilerleyici böbrek hastalığına yol açan olayların merkezi bir uyarıcısıdır. TGF- β , kemik morfogenetik proteinleri (BMP), büyüme farklılaşma faktörleri, inhibitörleri ve aktivinleri içeren 38 sitokin süper ailesinin bir üyesidir. TGF- β üst familya üyeleri, özellikle TGF- β ve BMP, kronik böbrek hastalığında önemli ve çeşitli roller oynamaktadır (Leisberg ve ark, 2003; Patel ve Dressler, 2005). TGF- β normal böbrek gelişimi ve fonksiyonu için kritik öneme sahiptir. TGF- β ekspresyonu, tübüler gelişim sırasında memeli metanefrozunda meydana gelir. Thompson ve ark. TGF- β proteinini distal tübüler epitel hücrelerinin bir alt grubunun sitoplazması içinde ve embriyonik böbreğin kortikomedüller birleşimindeki hücrelerin plazma membranlarında tanımladılar (Thompson ve ark, 1989). Böbrek hastalıklarında, birden fazla sistemi etkiler. Makrofaj fonksiyonunu inhibe ederek akut yaralanmadan sonra glomerüler hasarı sınırlar (Kitamuro ve ark, 1996). Tersine, TGF- β 1 geninin nakavt edilmesi, farelerde ağırlı enflamatuvar infiltrasyona neden olur (Shull ve ark, 1992). Yapılan çalışmalarda nefrotik sendrom, IgA nefropatisi ve fokal segmental glomerüloskleroza gibi hastalarda üriner TGF- β artışı saptanmıştır (Goumenos ve ark, 2002; Woroniecki ve ark, 2008). Özellikle de TGF- β 'nın, diyabetik böbrek hastalığının

deneysel modellerinde ve diyabetik nefropatili hastalarda anahtar bir faktör olduğu düşünülmektedir. Renal fibroza yol açan olay, aşırı hücre ECM üretimidir ve TGF- β bu süreçte genellikle güçlü bir profibrotik aracı olarak kabul edilir (Ding ve Choi, 2014; Lee ve ark, 2015). TGF- β hücre proliferasyonu, hipertrofi, apoptoz ve fibrojenezin düzenlenmesinde rol oynayan kronik ilerleyici böbrek hastalığına yol açan olayların merkezi bir uyarıcısıdır. Birçok çalışma, insan böbrek hastalığının ilerleyen formlarında profibrotik TGF- β ekspresyonunun ve aktivasyonunun arttığını açıklamıştır (Yamamoto ve ark, 1993; Yoshioka, 1993).

Bizde çalışmamızda, kontrol ve STZ grubunun farklı gelişim dönemine ait böbrek dokularının TGF- β 1 immunreaktivite yoğunluğunu karşılaştırdık. Elde ettiğimiz bulgulara göre, TGF- β 1 immunreaktivite yoğunluğunda STZ grubuna ait böbrek dokularında kontrole göre anlamlı değişiklikler gösterdiğini belirledik. TGF- β 1 immunreaktivite yoğunluğunun en yüksek görüldüğü gelişim dönemi 15. gündü. Gelişimin 15. gününde STZ grubunda kontrole göre anlamlı bir artış gözlenirken, gelişimin 17. gününde kontrol ve STZ grupları arasında TGF- β 1 immunreaktivite yoğunluğu açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı. Gelişimin ilerlemesi ile beraber hem kontrol hem de STZ gruplarında TGF- β 1 immunreaktivitesinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Kontrol ve STZ gruplarında gelişimin 17 ve 19. günlerinde, TGF- β 1 immunreaktivite yoğunluğu 15. güne göre anlamlı derecede azalmıştı. Sonuçlarımız böbrek gelişiminin erken döneminde artmış TGF- β 1 immunreaktivitesinin böbrek gelişimini olumsuz yönde etkilediğini ve diyabetik nefropati gelişimine katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak kontrol ve DM geliştirilen gebe sıçanların farklı gelişim dönemlerindeki fetuslarının böbrek dokularını karşılaştırmayı amaçladığımız bu çalışmada, kesitler H&E, MT ve PAS boyama metodları kullanılarak ışık mikroskobu düzeyinde incelenmiş olup, diyabetin böbrek gelişimini erken gelişim döneminde daha çok etkilediği ve böbrek gelişimini olumsuz yönde ilerlettiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca çalışmada, böbrek gelişiminde düzenleyici role sahip olan Urotensin II ve TGF- β 1'in sinyalizasyonuna ve ilerleyici böbrek hastalığı ile ilişkisine genel bir bakış sunmuş olduk. Çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar böbrek gelişiminin erken döneminde Urotensin II ve TGF- β 1 ekspresyonunun yüksek olduğunu, diyabetik gebe sıçanların fetuslarına ait böbrek dokularında ise ekspresyon düzeylerinin daha da arttığını gösterdi. Sonuçlarımız Urotensin II ve TGF- β 1'in hücre fonksiyonunun düzenlenmesindeki

rolünün anlaşılmasında, ilerleyici böbrek yetmezliğinin moleküler patogenezinin ve tedavisinin aydınlatılmasında aracılık edebilecek şekilde etkileyebilir.



6. KAYNAKLAR

- Ahmed AM, History of Diabetes Mellitus. Saudi Med J 2002;23: 373-78.
- Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. T Biyo Derg. 2006; 31:51-56.
- American Diabetes Association. Gestational diabetes mellitus. Diabetes care, 2004;27(suppl 1), s88-s90.
- Ames RS, Sarau HM, Chambers JK, Willette RN, Aiyar NV, Romanic AM, Douglas SA, et al. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. Nature. 1999;401:282–286.
- Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arkan N. Temel Üroloji.1. Baskı, Güneş Yayınevi. 1998;1-36.
- Aral Y. Endokrinoloji ve metabolizma hastalıklarında temel tedavi. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara. 1998;255-328.
- Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 3. Baskı, Ankara, Güneş Kitabevi Ltd. Şti.2001: 311–314.
- Avcı A. Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Böbrek Antioksidan Savunma Sistemi ve E Vitaminin Etkileri. Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi Biyokimya Bölümü. Ankara. 2001.
- Bağrıaçık N. Tanı, komplikasyonlara yaklaşım ,tedavi konsensus el kitabı .Novo Nordisk diabet servisi yayınları. İstanbul 1997.
- Bloom A, Ireland J. A colour atlas of diabetes. Wolf Medical Publications, London1980; 119-26.
- Bolzan AD, Bianchi MS. Genotoxicity of Streptozotocin. Mutation Research 2002;512:121-34.
- Buchanan TA, Xiang AH. Gestational diabetes mellitus. J Clin Invest. 2005;115(3):48591.
- Büyükdevrim S. Diabetes Mellitus. İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi, 1989; 187-209.

- Carlson BM. Human Embryology and Developmental Biology. Elsevier saunders. Urogenital System. 2014;376- 383.
- Carney SL, Wong NLM, Dirks JH. Acute Effects of Streptozotocin Diabetes on Rat Renal Function. J Lab Clin Med 1979;93:950-60.
- Comess LJ, Bennett PH, Burch TA, Miller M. Congenital anomalies and diabetes in the Prima Indians of Arizona. Diabetes. 1969;18(7):471–7.
- Coskun O, Ocakcı A, Bayraktaroglu T, Kanter M. Exercise Training Prevents and Protects Streptozotocin-Induced Oxidative Stress and β -Cell Damage in Rat Pancreas, Tohoku J. Exp. Med 2004;203:145-54.
- Coustan DR. Making the diagnosis of gestational diabetes mellitus. Clin Obstet Gynecol, 2000;43:99-105.
- Cunningham FG. Diabetes. İn: Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF (eds). Williams Obstetrics. 21' th ed. New York: Appleton & Lange 2001; 567-618.
- Dai HY, Kang WQ, Wang X, et al. The involvement of transforming growth factor β 1 secretion in urotensin II-induced collagen synthesis in neonatal cardiac fibroblasts. Regul Pept. 2007;140:88–93.
- Ding Y, Choi ME. Regulation of autophagy by TGF- β : emerging role in kidney fibrosis. Semin Nephrol. 2014;34: 62–71.
- Dudek RW. Embryology. Fifth edition, Lipincott. Williams&Wilkins. Urinary System. 2011;155-170.
- Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Özel histoloji. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi. 2007;175-85.
- Eroschenko VP. Di Fiore Histoloji Atlası-Fonksiyonel İlişkileriyle. Demir R (Çeviri Editörü). 9. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2001: 251- 266.
- Ferner H, Staubesand J. Sabotta İnsan Anatomisi. Cilt 2. Arıncı K (çeviri editörü). 18. Baskı, Urban&Schwarzenberg, 1985: 178–181.
- Floege J, Johnson R, Feehally J. Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Natural History of Diabetic Nephropathy. Comprehensive Clinical Nephrology. 4 ed: Elsevier & Saunders. 2010;359-76.
- Fogo A, Bruijn JA, Cohen AH, Colvin RB, Jenette C. Diabetic Nephropathy. In: Fogo AB, editor. Fundamentals of Renal Pathology. USA: Springer. 2006;132-41.
- Forty EJ, Ashton N. Ontogeny of the renal urotensin II system in the rat. Experimental Physiology. 2012;97:785–795.

- Garoufi A, Drapanioti S, Marmarinos A, Askit V, Mitsioni AJ, Mila M, Gourgiotis D. Plasma urotensin II levels in children and adolescents with chronic kidney disease: A single-centre study. *BMC Nephrology*. 2017;18:113.
- Goumenos DS, Tsakas S, El Nahas AM, Alexandri S, Oldroyd S, Kalliakmani P, Vlachojannis JG. Transforming growth factor-beta (1) in the kidney and urine of patients with glomerular disease and proteinuria. *Nephrol Dial Transplant*. 2002; 17(12):2145–52.
- Guyton AC, JE Hall, Çeviri Editörü Prof. Dr. Hayrunnisa Çavuşoğlu, Editör Yardımcıları: Prof. Dr. Berrak Çağlayan Yeğen, Prof. Dr. Zeynep Aydın, Doç. Dr. İnci Alican: (Textbook Of. Medical Physiology) Tıbbi Fizyoloji.9. Baskı, Nobel Tıp Kitapları. Yüce Yayınları. 1996;331-343.
- Hassa O, Aştı RN. Embriyoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti. Ankara. 1997;129-130.
- Holt RIG, Cockram C, Flyvbjerg A, Goldstein BJ. Textbook of Diabetes; 4. Edition. Wiley-Blacwell. 2010;599-603.
- <http://www.biyolojidefteri.com/index.php/insanda-bosaltim-sistemi>. Erişim tarihi: 08.01.21
- Ichikiawa I, Kiyama S. Renal antioxidant enzymes: Their regulation and function. *Kidney Int*. 1994;45(1):1-9.
- İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. İç hastalıkları, 2. Cilt. Güneş Kitabevi. 2003;2323-6.
- Janice F, Lorraine M. Endocrine Disease in Pregnancy. İn: Brandon J.B, Amy E.H eds. The Johns Hopkins Manuel of Gynecology and Obstetrics. 2th ed. philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2002;162-82.
- Jungueria LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. 7. Baskı. Çeviri Editörü: Yener Aytekin, Editör Yardımcıları: Uz. Dr. Seyhun Salakoğlu, Uz. Dr. Bülent Ahışhalı. Barış Kitabevi 1992;437-453.
- Junqueira LC, Carneiro J. TEMEL Histoloji text and atlas Nobel Tıp Kitabevleri yay. İstanbul. 2009; 374.
- Kahn CR, Joslin EP. Joslin's Diabetes Mellitus. Fourteenth Edition. 2011; S4; 1– 1209.
- Kahn R, Weir GC. Use of Animal Models in the Study of Diabetes. Ed; Karasık A, Hattari M. Joslin's Diabetes, 13th Edition. Lea and Febiger, London, 1996;282-350.

- Kanter M, Coskun O, Korkmaz A, Oter S. Effects of *Nigella sativa* on Oxidativz Stress and β -Cell Damage in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *The Anatomical Record Part A* 2004;279:685–91.
- Karakurt F, Çarlıoğlu A, Kasapoğlu B, Gümüş ĞN. Gestasyonel diyabetes mellitus tanı ve tedavisi. *Yeni Tıp Dergisi*. 2009;26:134-8.
- Kayalı H. Özel Histoloji. 1.Baskı. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları. 1984;199-215.
- Kim BM, Han YM, Shin YJ, Min BH, Park IS. Clusterin expression during regeneration of pancreatic islet cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetolog*. 2001;44(12):2192-2202.
- Kitamura M, Suto T, Yokoo T, Shimizu F, Fine LG. Transforming growth factor-beta 1 is the predominant paracrine inhibitor of macrophage cytokine synthesis produced by glomerular mesangial cells. *J Immunol*. 1996;156(8):2964–71.
- Kumar V, Robbins SL. *The Kidney. Pathologic Basis Of Disease*. 7 ed: Elsevier & Saunders. 2005;990-2.
- Langham RG, Kelly DJ, Gow RM, et al. Increased expression of urotensin II andurotensin II receptor in human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2004;44:826–831.
- Lee SY, Kim SI, Choi ME. Therapeutic targets for treating fibrotic kidney diseases. *Transl Res*. 2015;165:512–530.
- Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. *Text / Atlas Of Histology*. First Edition, W. B: Saunders. 1988;427-452.
- Matsushita M, Shichiri M, Fukai N, Ozawa N, et al. Urotensin II is anautocrine/paracrine growth factor for the-porcine renal epithelial cell line, LLCPK1. *Endocrinology*. 2003;144:1825–1831.
- Melendez-Ramirez LY, Richards RJ, Cefalu WT. Complications of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010;39:625-40.
- Moore KM, Persaud TVN, Torchia MG. *Before We are born Essentials of Embryology and Birth Defects*. Ninth Edition. Elsevier. Urogenital System. 2016;161-170.
- Moore KM, Persaud TVN. Çeviri: Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. *İnsan Embriyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri. 2002; 303-314
- Moore KM, Persaud TVN. *Klinik yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. Çeviri: Hakkı Dalçık Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul 2009; 245-250.

- Mori N, Hirose T, Nakayama T, Ito O, Kanazawa M, Imai Y, Kohzuki M, Takahashi K, Murata M, Takahashi A, Saito I, Kawanishi S. Sitespecific DNA methylation and apoptosis: induction by diabetogenic streptozotocin. *Biochem Pharmacol.* 1999;57: 881-887.
- Ovalle WK, Nahirney PC. *Netter Temel Histoloji. Çeviri Ed: Sevda Müftüoğlu, Figen Kaymaz, Pergin Atilla. Güneş Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2009.*
- Ozan H. 'Ozan Anatomi' Nobel Tıp Kitabevi, Ankara 2004.
- Ozturk Y, Aydin S. Effects of streptozotocin-induced diabetes and insulin on calcium responsiveness of the rat vas deferens. *Life sciences.* 2006;78(10):1084-90.
- Öcal T, Altuğ T, Erseven G, Çöloğlu S, Büyükdevrim S. Farklı Dozlarda STZ Uygulamasının Çeşitli Organlarda Ortaya Çıkarttığı Histolojik Değişiklikler. *Diabet Yıllığı* 1984;2:93-100.
- Özbey N, Orhan Y. *Diyabetes mellitus. İstanbul. Nobel Tıp Kitap Evi. 2003; 4.*
- Paker Ş. *Histoloji Uludağ Üniv. Basımevi. Bursa. 1990;9, 6:531-538.*
- Parving HH, Tarnow L, Rossing P. Genetics of Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:2509-17.
- Patel SR, Dressler GR. BMP7 signaling in renal development and disease. *Trends Mol Med.* 2005;11:512–518.
- Persaud M. *Klinik Yönleri İle İnsan Embriyolojisi 6. Baskı, Nobel Matbaacılık. İstanbul 2002;305-315.*
- Pettitt DJ, Baird HR, Aleck KA, Bennett PH, Knowler WC. Excessive obesity in offspring of Pima Indian women with diabetes during pregnancy. *New England Journal of Medicine*, 1983; 308(5), 242-245.
- Pettitt DJ, Knowler WC, Baird HR, Bennett PH. Gestational diabetes: Infant and maternal complications of pregnancy in relation to third-trimester glucose tolerance in the Pima Indians. *Diabetes Care.* 1980;3(3):458–64.
- Pieper AA, Verma A, Zhang J, Snyder SH. Poly (ADP-ribose) polymerase, nitric oxide and cell death. *Trends Pharmacol Sci.* 1999;20:171–181.
- Quinn L. Mechanism in the development of type 2 diabetes mellitus. *J Cardiovasc Nurs* 2002;16(2):1–16.
- Ross MH, Pawlina W. *Histology A Text And Atlas. Fifth Edition, United States of America, 2006: 647- 665.*

- Sadler TW. Langman's Medical Embriyoloji (7. Baskı), Çeviri: Prof. Dr. A. Can Başaklar, Palme yayıncılık, 1996:246-254.
- Sadler TW. Langman's. Medical Embryology. Twelfth edition. Lippincott Williams& Wilkins. Urogenital System. 2012;231-240.
- Sanai T, Sobka T, Johnson TS, Essawy M, Muchaneta-Kubara EC, Ben Gharbia O, el Oldroyd S, Nahas AM. Expression of cytoskeletal proteins during the course of experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 2000;43(1):91-100.
- Sancak B, Cumhuriyet M. 'Fonksiyonel Anatomi, Baş Boyun ve İç Organlar' ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.- METU PRESS, İkinci Baskı, Eylül 2002
- Sarsılmaz M. Anatomi. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara 2000;67-8.
- Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR. Larsen's Human Embryology. Forth edition, Elsevier. Development of the urogenital System. 2009;479-500.
- Scobie IN. Atlas of Diabetes Mellitus; 3. Edition. Informa Healthcare. 2007;1-10,70-1
- Shaw KM, Cummings MH. Diabetes Chronic Complications; 2. Edition. Wiley. 2005;21-2, 34.
- Shenouda A, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A. Localization of urotensin-II immunoreactivity in normal human kidneys and renal carcinoma. *J HistochemCytochem* 2002;50:885-889.
- Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawlowski S, Diebold RJ, Yin M, Allen R, Sidman C, Proetzel G, Calvin D, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature*. 1992; 359(6397):693-9.
- Simmons RA. Development origins of diabetes: The role of oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2006;40:917-922.
- Smeltzer SC, Bare BG, Hinkle JL, Cheever KH. Brunner & Suddarth's Textbook of Medical-Surgical Nursing 12th edition. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. 2010.
- Song N, Ding W, Chu S, Zhao J, Dong X, Di B, Tang C. Urotensin II stimulates vascular endothelial growth factor secretion from adventitial fibroblasts in synergy with angiotensin II. *Circulation Journal*. 2012;76:1267-1273.
- Song W, Abdel-Razik AE, Lu W, et al. Urotensin II and renal function in the rat. *Kidney Int*. 2006;69(8):1360-8.

- Sperling MA. Type 1 Diabetes: Etiology and Treatment. Humana Press 2003; 409-21.
- Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi, 3. Baskı, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1998;124-131.
- Şeftalioğlu A. Medikal Embriyoloji 3. baskı. Tıp Teknik yay. Ürogenital Sistem Gelişimi. Ankara. 1998;327-335
- Taal MW, Chertow GM, Marsden PA, Skorecki K, Yu ASL, Brenner BM. Diabetic Nephropathy. Brenner & Rector's The Kidney. 9 ed: Elsevier & Saunders. 2012;1411-54.
- Takai Y, Shimizu K, Ohtsuka T: The roles of cadherins and nectins in interneuronal synapse formation. Curr Opin Neurobiol. 2003; Oct;13(5):520-6.
- Tanyeri F. Diabetes Mellitusun sınıflandırılması ve Prevelansı. Aktüel Tıp Dergisi, 1996;7: 500 -503.
- Tatsuki R, Satoh K, Yamamoto A, Hoshi K, Ichihara K. Lipid Peroxidation in the Pancreas and Other Organs in Streptozotocin Diabetic Rats. Jpn J Pharmacol 1997;75:267-73.
- Thompson NL, Flanders KC, Smith JM, Ellingsworth LR, Roberts AB, Sporn MB. Expression of transforming growth factor-beta 1 in specific cells and tissues of adult and neonatal mice. J Cell Biol. 1989;108(2):661-9.
- Tian L, Li C, Qi J, Fu P, Yu X, Li X, Cai L. Diabetes induced upregulation of urotensin II and its receptor plays an important role in TGF- β 1-mediated renal fibrosis and dysfunction. American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism 2008;295, E1234-E1242.
- Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Murakami O, Ito S, et al. Elevated plasma levels of immunoreactive urotensin II and its increased urinary excretion in patients with Type 2 diabetes mellitus: Association with progress of diabetic nephropathy. Peptides. 2004;25:1809-1814.
- Totsune K. Increased expression of urotensin II-related peptide and its receptor in kidney with hypertension or renal failure. Peptides. 2009;30:400-408.
- Tucker BJ, Collins RC, Ziegler MG, Blantz RC. Disassociation between glomerular hyperfiltration and extracellular volume in diabetic rats. Kidney international. 1991;39(6):1176-83.
- Watkins PJ, Drury PL, Howell SL. Diabetes and its management 5th ed. Blackwell Cop:3 1996.

- Watkins PJ. ABC of Diabetes; 5. Edition. 2003;66.
- Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;94:311-21.
- Wolf G. New insights into the pathophysiology of diabetic nephropathy: from haemodynamics to molecular pathology. *Eur J Clin Invest* 2004;34:785-96.
- Woo KT, Lau YK, Zhao Y, Puong KY, Tan HB, Chong SF, Kok SW, Chan CM. Urotensin 2 and retinoic acid receptor alpha (RARA) gene expression in IgA nephropathy. *Ann Acad Med Singap* 2010;39:705–709.
- Woroniecki RP, Shatat IF, Supe K, Du Z, Kaskel FJ. Urinary cytokines and steroid responsiveness in idiopathic nephrotic syndrome of childhood. *Am J Nephrol.* 2008; 28(1):83–90.
- Yamamoto T, Nakamura T, Noble NA, Ruoslahti E, Border WA. Expression of transforming growth factor β is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 90. 1993;1814–1818.
- Yenigün M, Altuntaş Y. Her Yönüyle Diabetes Mellitus; 2. Baskı. 2001;51, 54- 61, 383-9.
- Yeşilot Ş. Diyabetik Ratlarda Aspirin ve Nimesulid'in Diyabete Bağlı Doku Hasarı Üzerine Olan Etkileri (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.
- Yoshioka K, Takemura T, Murakami K, Okada M, Hino S, Miyamoto H, Maki S. Transforming growth factor-beta protein and mRNA in glomeruli in normal and diseased human kidneys. *Lab. Invest* 1993;68:154–163.
- Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, Mammoto T, Charytan D, Strutz F, Kalluri R. BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med.* 2003;9:964–968.
- Ziyadeh FN. Significance of tubulointerstitial changes in diabetic renal disease. *Kidney international Supplement.* 1996;54:S10-3.

EKLER



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYEK)



Tarih: 18.01.2019

Toplantı Sayısı: 01

Karar No:19/004

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 18.01.2019 tarihinde Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
Serpil SARIÖZKAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi
Yusuf KONCA	Prof. Dr.	Ziraat Fakültesi
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi
M. Betül AYCAN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi
Zühal HAMURCU	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi
Zeynep CAFEROĞLU	Dr.Öğr.Üyesi	Sağlık Bilimleri Fakültesi
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Dr.Öğr.Üyesi	Veteriner Fakültesi
Burcu ÜNLÜ ENDİRLİK	Dr.Öğr.Üyesi	Eczacılık Fakültesi
Zeynep SOYER SARICA	Dr.	Deneyisel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrk.
Özge AL	Arş. Görevlisi	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye
Mehmet TAV	Dernek Üyesi (Avukat)	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji A.D.'dan Doç. Dr. Arzu YAY tarafından sunulan "Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulmuş Gebe Sıçanlara Ait Farklı Gelişim Dönemindeki Fetuslarda Diyabetin Böbrek Gelişimi Üzerine Etkisi" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ GEBE SIÇANLARA AİT FARKLI GELİŞİM DÖNEMİNDEKİ FETUSLARDA DİYABETİN BÖBREK GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

ORJİNALLIK RAPORU

%**21**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**20**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**5**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikerisim.aku.edu.tr

İnternet Kaynağı

%**4**

2

docplayer.biz.tr

İnternet Kaynağı

%**3**

3

uroturk.org.tr

İnternet Kaynağı

%**2**

4

www.neiyigelir.net

İnternet Kaynağı

%**2**

5

www.istanbulsaglik.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**1**

6

acikerisim.deu.edu.tr

İnternet Kaynağı

%**1**

7

istanbulsaglik.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**1**

8

slideplayer.biz.tr

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Demet BOLAT

Uyruğu: Türkiye (TC)

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji ABD	2021
Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi-Biyoloji Bölümü	2017
Lise	Atatürk Anadolu Kız Meslek Lisesi, Kayseri	2010

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2017-218	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mustafa Kemal Dedeman Hematoloji Onkoloji Hastanesi Prof. Dr. Ali Ünal	Yönetici Asistanı
2005-2006	Kayseri Cıvarı Elektrik T.A.Ş	Stajyer

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

Bilgici P, Ünal U, Bolat D, Göktepe O, Balcioglu E, Yay A. Melatonin'in Korti Organi Ototoksisitesi Üzerine Olasi Koruyucu Etkisi Possible Protective Effect of Melatonin on the Corti Organ Autotoxicity. GEVHER NESIBE JOURNAL OF MEDICAL & HEALTH SCIENCES 2020; 10-15.