



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK PATOLOJİSİ ANA BİLİM DALI**

**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABETİK NEFROPATİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KARVAKROL VE
HESPERİDİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Nilüfer KURUCA

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Tolga GÜVENÇ**

SAMSUN
2024

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK PATOLOJİSİ ANA BİLİM DALI**



**STREPTOZOTOSİN İLE DİYABETİK NEFROPATİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KARVAKROL VE
HESPERİDİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Nilüfer KURUCA

Danışman

Prof. Dr. Tolga GÜVENÇ

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1904.20.011 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2024

TEZ KABUL VE ONAYI

Nilüfer KURUCA tarafından, **Prof. Dr. Tolga GÜVENÇ** danışmanlığında hazırlanan **“STREPTOZOTOSİN İLE DİYABETİK NEFROPATİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KARVAKROL VE HESPERİDİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI”** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 25.1.2024 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. M. Yavuz GÜLBAHAR Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Tolga GÜVENÇ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Dilek GÜVENÇ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Nihat TOPLU Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Oğuz KUL Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

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

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☒

Hayır ☐

25/01/2024

Arş. Gör. Nilüfer KURUCA

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: STREPTOZOTOSİN İLE DİYABETİK NEFROPATİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KARVAKROL VE HESPERİDİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 20.12.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 9

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

25/01/2024

Prof. Dr. Tolga GÜVENÇ

ÖZET

STREPTOZOTOSİN İLE DİYABETİK NEFROPATİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KARVAKROL VE HESPERİDİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Nilüfer KURUCA
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı
Doktora, Ocak/2024
Danışman: Prof. Dr. Tolga GÜVENÇ

Diyabetes mellitus, insülin salgılanması veya etkisindeki problemlerden kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Uzun süren hiperglisemi, gözler ve böbrekler dahil olmak üzere birçok organı etkileyen mikro ve makrovasküler komplikasyonlara neden olur.

Çalışmanın amacı, streptozotosin ile Tip 1 diyabet oluşturulan sıçanlarda, hesperidin ve karvakrolün diyabetik nefropati üzerine koruyucu etkilerini belirlemektir. Çalışmada 60 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı. Her grupta 10 sıçan olacak şekilde toplam 6 grup oluşturuldu. Grup I: Kontrol, Grup II: Diyabet, Grup III: Taşıt, Grup IV: Diyabet+Karvakrol, Grup V: Diyabet+Hesperidin, Grup VI: Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu olarak sınıflandırıldı. 6 hafta (42 gün) sonunda hayvanların sistemik nekropsileri yapıldı. Deney sonunda alınan böbrek dokusu örnekleri histopatolojik (PAS, Masson trikrom, Pikrik asit-Sirius kırmızısı, Best Carmine) ve immunohistokimyasal (Bcl-2, Bax, Kaspaz 3, Kaspaz 9 ve TUNEL) yöntemlerle incelendi.

Yapılan histopatolojik incelemelerde grupların tubuler dilatasyon, intraselüler vakuolizasyon ve mesangiyal matriks artışının istatistiksel olarak farklı olduğu ($p<0,05$) belirlenirken, tubuler atrofi, hiyalin birikimi, mononükleer hücre infiltrasyonu ve sklerotik glomerulus sayısında istatistiksel olarak farklılık ($p>0,05$) görülmedi. Hesperidin ve karvakrol uygulamasının diyabette meydana gelen böbrek hasarını ve fibrozis oranını azalttığı dikkati çekti ($p<0,001$). Diyabetik sıçanların böbreğinde Bax, Kaspaz 3 ve Kaspaz 9 immunopozitifliği anlamlı bir artış gösterirken, Bcl-2 immunopozitifliğinin azaldığı görüldü ($p<0,001$). Özellikle hesperidin ve karvakrol uygulanan grupta apoptotik hücrelerin sayısı diyabet grubuna göre anlamlı derecede azaldı ($p<0,001$).

Elde edilen bütün bulgular ışığında hesperidin ve karvakrolün birlikte kullanımının, Bcl-2 ve Bax aracılı apoptozu azaltarak diyabetik nefropatiye karşı koruma sağlayabileceği belirlendi.

Anahtar Sözcükler: Apoptozis, Diyabetik Nefropati, Hesperidin, Karvakrol, Streptozotosin

ABSTRACT

INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF CARVACROL AND HESPERIDIN IN RATS WITH STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC NEPHROPATHY

Nilüfer KURUCA

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Veterinary Pathology

Ph.D., January/2024

Supervisor: Prof. Dr. Tolga GÜVENÇ

Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by hyperglycemia caused by problems in the secretion or action of insulin. Prolonged hyperglycemia causes micro and macrovascular complications affecting many organs, including the eyes and kidneys.

This study aimed to determine the protective effects of hesperidin and carvacrol on diabetic nephropathy in rats with Type 1 diabetes induced by streptozotocin. In this study, 60 Wistar Albino rats were used. A total of 6 groups were formed, with ten rats in each group. Group I: Control, Group II: Diabetes, Group III: Vehicle, Group IV: Diabetes+Carvacrol, Group V: Diabetes+Hesperidin, Group VI: Diabetes+Hesperidin+Carvacrol. At the end of 6 weeks (42 days), systemic necropsy was performed. Kidney tissue samples obtained at the end of the experiment were examined by histopathologic (PAS, Masson trichrome, Picric acid-Sirius red, Best Carmine) and immunohistochemical (Bcl-2, Bax, Caspase 3, Caspase 9 and TUNEL) methods.

In histopathological examinations, tubular dilatation, intracellular vacuolization and mesangial matrix increase were statistically different ($p<0.05$), while tubular atrophy, hyaline accumulation, mononuclear cell infiltration and sclerotic glomerulus number were not statistically different ($p>0.05$). Hesperidin and carvacrol administration decreased the rate of renal damage and fibrosis in diabetes ($p<0.001$). In the kidneys of diabetic rats, Bax, Caspase 3 and Caspase 9 immunopositivity increased significantly, while Bcl-2 immunopositivity decreased ($p<0.001$). Especially in the hesperidin and carvacrol treated group, the number of apoptotic cells decreased significantly compared to the diabetes group ($p<0.001$).

In the light of all the findings obtained, it was determined that the combined use of hesperidin and carvacrol may provide protection against diabetic nephropathy by reducing Bcl-2 and Bax-mediated apoptosis.

Keywords: Apoptosis, Carvacrol, Diabetic Nephropathy, Hesperidin, Streptozotocin

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Akademik hayatıma başladığım ilk günden itibaren bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren ve her daim destek olan danışmanım Prof. Dr. Tolga GÜVENÇ başta olmak üzere, bilgisini ve desteğini esirgemeyen saygı değer hocalarım Prof. Dr. M. Yavuz GÜLBAHAR'a, Prof. Dr. Murat YARIM'a, Prof. Dr. Mahmut SÖZMEN'e, Doç. Dr. Yonca Betil KABAK'a ve tez izleme komitemde yer alan değerli hocam Prof. Dr. Dilek GÜVENÇ'e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Akademik gelişimimde önemli katkıları bulunan değerli hocam Doç. Dr. Serbülen YİĞİT'e, araştırmamın nekropsi aşamasında zaman ayırıp desteğini benden esirgemeyen değerli meslektaşım doktora öğrencisi Muhammed Taha KAYA'ya, savunma sunumunun hazırlanmasında değerli bilgilerini benimle paylaşan Dr. Arş. Gör. Sinem İNAL'a, mesai arkadaşım Dr. Arş. Gör. Efe KARACA'ya ve doktora öğrencileri F. Betül AKÇA ve Uğur Utku ÜNGÜDER'e teşekkür ederim. Tezimin deney aşamalarını gerçekleştirmiş olduğum DEHAM çalışanlarından Vet. Sağ. Tek. Soner GEMİCİOĞLU ve yardımcı personel Sercan İNCE'ye yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Tezimin histopatolojik boyamalarından olan Masson's trikrom boyamasında desteklerini eksik etmeyen Veteriner Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı çalışanları Arş. Gör. Nurcan DELİCE ve Arş. Gör. Feyza KESKİN'e teşekkür ederim.

Tezimin ilham kaynağı olup desteğini bir gün bile eksik etmeyen sevgili eşim Mehmet Ali ŞAHBAZOĞLU'na ve bu gününe gelmemi sağlayan, emeklerini hiçbir şekilde ödeyemeyeceğim, beni her zaman destekleyen annem Aysel, babam İbrahim, ablam Yasemin ve kız kardeşim Fulya'ya sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Nilüfer KURUCA

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Üriner Sistem	4
2.2. Böbrek	4
2.2.1. Makroskobik Anatomi	4
2.2.2. Histoloji	6
2.3. Diyabetes Mellitus	11
2.3.1. Diyabetin Patofizyolojisi	11
2.3.2. Kan Glukoz Düzeyinin Düzenlenmesi	12
2.4. Diyabetes Mellitus'un Sınıflandırılması	14
2.4.1. Tip I Diyabetes Mellitus	15
2.4.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus	16
2.4.3. Diğer Spesifik Diyabet Türleri	16
2.4.4. Gestasyonel Diyabet (Gebelik)	17
2.5. Tanı Kriterleri	18
2.6. Diyabetes Mellitus'un Yönetimi	18
2.6.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus Yönetimi	18
2.6.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus Yönetimi	19
2.7. Diyabetes Mellitusun Komplikasyonları	20
2.7.1. Makrovasküler Komplikasyonlar	20
2.7.2. Mikrovasküler Komplikasyonlar	20
2.8. Diyabetik Nefropatiye Genel Bakış	22
2.8.1. Diyabetik Böbrek Hastalığının Teşhisi	23
2.8.2. Diyabetik Böbrek Hastalığının Aşamaları	23
2.9. Diyabetik Nefropatinin Patogenezi	25
2.9.1. Hemodinamik Değişiklikler	26
2.9.2. Histopatolojik Değişiklikler	27
2.9.3. Metabolik Yolaklar	29
2.9.4. Potansiyel Bir Etken Olarak Endotel Disfonksiyonu	30
2.9.5. Yangısal Yollar	31
2.9.6. Renin-Anjiyotensin Aldosteron Sisteminin Rolü	32
2.10. Apoptoz	34
2.11. Karvakrol	35
2.12. Hesperidin	36
3. MATERYAL VE YÖNTEM	38
3.1. Deney Hayvanlarının Temini	38
3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması	38
3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	38
3.4. Alınan Dokuların Histopatolojik İncelemeler İçin Hazırlanması	43
3.5. İmmunohistokimyasal Boyama Tekniği	43
3.6. TUNEL Tekniği	44
3.7. Periyodik Asit-Schiff Boyamaların Değerlendirilmesi	45
3.8. Masson'un Trikrom Boyamaların Değerlendirilmesi	45

3.9. Pikrik Asit-Sirius Kırmızısı Boyamalarının Değerlendirilmesi	45
3.10. İmmunohistokimyasal Boyamaların Değerlendirilmesi	46
3.11. TUNEL Boyamalarının Değerlendirilmesi	46
3.12. İstatiksel Analiz Metodu	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. Sıçanların Vücut Ağırlıkları.....	47
4.2. Metabolik Kafes Bilgileri	49
4.3. Kan Glukoz Düzeyleri	50
4.4. Böbreklere Ait Bilgiler	51
4.5. Biyokimyasal Bulgular	53
4.6. Histopatolojik Bulgular.....	59
4.6.1. Periyodik Asit-Schiff Boyamaları.....	59
4.6.3. Masson'un Trikrom Boyamaları.....	62
4.6.4. Pikrik Asit-Sirius Kırmızısı Boyamaları	64
4.6.5. Best Carmine Boyamaları	65
4.7. İmmunohistokimyasal Bulgular	68
4.7.1. Bcl-2 İmmunohistokimyasal Bulguları	68
4.7.2. Bax İmmunohistokimyasal Bulguları	71
4.7.3. Kaspaz-3 İmmunohistokimyasal Bulguları	74
4.7.4. Kaspaz-9 İmmunohistokimyasal Bulguları	77
4.8. TUNEL Bulgular	80
5. TARTIŞMA.....	83
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	90
KAYNAKLAR	91
EKLER	106
ÖZGEÇMİŞ.....	107

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ACE2	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2
ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
AEC	: 3-Amino-9-Etil Karbazol
AER	: Albümin Atılım Hızı
AGE	: İleri Glikasyon Son Ürünleri
ALT	: Alanin Transaminaz
ANP	: Atriyal Natriüretik Peptid
Anti-GAD	: Anti Glutamik Asit Dekarboksilaz
APAF-1	: Apoptoz Proteaz Aktive Edici Faktör-1
AST	: Aspartat Aminotransferaz
BAC	: Bakteri
BCL-2	: B Hücreli Lenfom 2
BIL	: Bilirubin
BP	: Kan Basıncı
BUN	: Kan Üre Azotu
CAR	: Karvakrol
CHD	: Koroner Kalp Hastalığı
COL	: Renk
COX	: Siklooksijenaz
CRE	: Kreatinin
CRP	: C-Reaktif Protein
CRY	: Kristal
DISC	: Ölüm İndükleyici Sinyal Kompleksi
DKD	: Diyabetik Böbrek Hastalığı
DM	: Diyabetes Mellitus
DN	: Diyabetik Nefropati
ECM	: Ekstrasellüler Matriks
eNOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
ER	: Endoplazmik Retikulum
ERY	: Eritrosit
ESRD	: Son Dönem Böbrek Hastalığı
ET-1	: Endotelin-1

GBM	: Glomerüler Bazal Membran
GDM	: Gestasyonel Diyabetes Mellitus
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
GLU	: Glukoz
GSI	: Glomerüler Sklerotik İndeks
H&E	: Hematoksilen Eozin
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HLA	: İnsan Lökosit Antijenleri
HP	: Hesperidin
HYA	: Hiyalin
I/R	: İskemi/Reperfüzyon
ICA	: Adacık Hücre Antikoru
ICAM-1	: Hücreler Arası Adezyon Molekülü-1
IDDM	: İnsüline Bağımlı Diyabetes Mellitus
IFN- γ	: İnterferon- γ
IFTA	: İnterstisyel Fibrozis ve Tubuler Atrofi
IL	: İnterlökin
IP	: İntraperitoneal
IUGR	: İntrauterin Gelişme Geriliği
JGA	: Jukstaglomerüler Aparat
KET	: Keton
LEU	: Lökosit
Li ₂ CO ₃	: Lityum Karbonat
MODY	: Gençlerin Olgunluk Başlangıçlı Diyabeti
NDDG	: Ulusal Diyabet Veri Grubu
NF- κ B	: Nükleer Faktör Kappa B
NIDDM	: İnsüline Bağımlı Olmayan Diyabetes Mellitus
NIT	: Nitrit
NO	: Nitrik Oksit
PAS	: Periyodik Asit Schiff
PCT	: Proksimal Kıvrımlı Tubul
PGC	: Glomerüler Kapiller Hidrolik Basınç
PKC	: Protein Kinaz C
PRO	: Protein

PT	: Proksimal Tubul
RAAS	: Renin-Anjiyotensin Aldosteron Sistemi
RAS	: Renin-Anjiyotensin Sistemi
RBC	: Eritrosit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SABPK	: Streptavidin-Biotin Peroksidaz Kompleks
SF	: Serum Fizyolojik
STZ	: Streptozotosin
T1DM	: Tip I Diyabetes Mellitus
T2DM	: Tip II Diyabetes Mellitus
TG	: Trigliserid
TGF	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktörü- α
TP	: Total Protein
UBG	: Ürobilinojen
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YEA	: Maya

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kemirgen (fare) bölgesel anatomi.	5
Şekil 2.2. Kemirgen (fare) sağ böbreği.	5
Şekil 2.3. Renal vaskülatür diyagramı.	6
Şekil 2.4. Bir nefronun diyagramı.	7
Şekil 2.5. Kemirgen (fare) böbrek subgrossu.	8
Şekil 2.6. İnsülin Etkisi.	13
Şekil 2.7. Glukoz homeostazı.	13
Şekil 2.8. Tip 1 Diyabetes Mellitus'un yönetiminin şematik diyagramı	19
Şekil 2.9. Diyabetin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonları.	20
Şekil 2.10. Glomerüler hiperfiltrasyon mekanizması.	26
Şekil 2.11. Diyabetik böbrek hastalığının patolojik bulguları.	28
Şekil 2.12. Diyabetik nefropatide glomerüler yeniden yapılanmanın temel araçları.	28
Şekil 2.13. Endotel disfonksiyonuna neden olan faktörler.	31
Şekil 2.14. Diyabetli hastalarda böbrek hastalığının patogenezi.	33
Şekil 2.15. Karvakrolün kimyasal yapısı ve sahip olduğu biyolojik aktiviteleri	36
Şekil 2.16. Hesperidinin kimyasal yapısı ve sahip olduğu biyolojik aktiviteleri.	37
Şekil 3.1. Çalışmadaki grupların sınıflandırılması ve yapılan uygulamalar	40
Şekil 3.2. Oral gavaj uygulaması	41
Şekil 3.3. Sıçanların tartım işlemleri.	42
Şekil 3.4. Metabolik Kafes Düzeni	42
Şekil 4.1. Gruplardaki sıçanların canlı ağırlıklarının değişimleri	48
Şekil 4.2. Metabolik kafeslere alınan sıçanların tükettiği su ve ürettiği idrar miktarı, tükettiği yem ve ürettiği dışkı miktarı.	50
Şekil 4.3. Grupların kan glukoz düzeyleri	51
Şekil 4.4. Serum değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması.	55
Şekil 4.5. Deney gruplarının glomerulus boyutu, bowman boşluğu genişliği, bowman kapsülünün parietal ve visseral yaprağının kalınlığı, tubulus bazal membran kalınlığı.	60
Şekil 4.6. Farklı deney gruplarına ait PAS ile boyanmış sıçan böbrek korteksinin görüntüleri.	61
Şekil 4.7. Deney gruplarının Masson'un trikrom boyaması ile boyanma yüzdeleri.	62
Şekil 4.8. Farklı deney gruplarının Masson trikrom boyalı kesitlerinin kolajen dağılımını gösteren görüntüleri.	63
Şekil 4.9. Deney gruplarının Pikrik Asit-Sirius Kırmızı ile pozitif boyanma yüzdeleri.	64
Şekil 4.10. Farklı deney gruplarının Pikrik Asit-Sirius Kırmızı ile boyalı kesitlerinin kolajen dağılımını gösteren görüntüleri.	65
Şekil 4.11. Farklı deney gruplarının korteks bölümüne ait Best Carmine boyalı kesitlerinin glikojen birikimini gösteren görüntüleri.	66

Şekil 4.12. Farklı deney gruplarının medulla bölümüne ait Best Carmine boyalı kesitlerinin glikojen birikimini gösteren görüntüleri.....	67
Şekil 4.13. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait Bcl-2 boyanmalarının pozitif yüzdelerinin oranları.....	68
Şekil 4.14. Farklı deney gruplarının korteks bölgesine ait Bcl-2 immunohistokimyasal boyanmaları.....	69
Şekil 4.15. Farklı deney gruplarının medulla bölgesine ait Bcl-2 immunohistokimyasal boyanmaları.....	70
Şekil 4.16. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait Bax boyanmalarının pozitif yüzdelerinin oranları.....	71
Şekil 4.17. Farklı deney gruplarının korteks bölgesine ait Bax immunohistokimyasal boyanmaları.....	72
Şekil 4.18. Farklı deney gruplarının medulla bölgesine ait Bax immunohistokimyasal boyanmaları.....	73
Şekil 4.19. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait kaspaz-3 boyanmalarının pozitif yüzdelerinin oranları.....	74
Şekil 4.20. Farklı deney gruplarının korteks bölgesine ait aktif kaspaz-3 immunohistokimyasal boyanmaları.....	75
Şekil 4.21. Farklı deney gruplarının medulla bölgesine ait aktif kaspaz-3 immunohistokimyasal boyanmaları.....	76
Şekil 4.22. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait kaspaz-9 boyanmalarının pozitif yüzdelerinin oranları.....	77
Şekil 4.23. Farklı deney gruplarının korteks bölgesine ait kaspaz-9 immunohistokimyasal boyanmaları.....	78
Şekil 4.24. Farklı deney gruplarının medulla bölgesine ait kaspaz-9 immunohistokimyasal boyanmaları.....	79
Şekil 4.25. Grupların korteks ve medulla bölgesine TUNEL pozitif hücre sayıları	80
Şekil 4.26. Farklı deney gruplarının korteks bölgesine ait TUNEL boyanmaları.....	81
Şekil 4.27. Farklı deney gruplarının medulla bölgesine ait TUNEL boyanmaları.....	82

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Diyabetes Mellitus'un Sınıflandırılması.....	15
Tablo 2.2. MODY özellikleri.....	17
Tablo 2.3. Diyabetik nefropatinin klinik evreleri.....	25
Tablo 2.4. Diyabetik nefropati patogeneziinin karışık ağı	30
Tablo 3.1. Çalışmadaki grupların sınıflandırılması ve yapılan uygulamalar	39
Tablo 3.2. Histopatolojik incelemelerde kullanılan boyama yöntemleri	43
Tablo 3.3. İmmunohistokimyasal boyamalarda kullanılan antikorlar, üretici firma ve katalog numarası, özellikleri, antijeni açığa çıkarma yöntemi ve sulandırma oranı....	44
Tablo 3.4. Böbrek korteks ve medullasına ait histopatolojik bulguların skorlama kriterleri.	45
Tablo 4.1. Gruplardaki sıçanların canlı ağırlıklarının ortalamaları.....	47
Tablo 4.2. Gruplardaki sıçanların deney süresi boyunca aldıkları/verdikleri gram değerleri	48
Tablo 4.3. Metabolik kafeslere alınan sıçanların tükettiği su ve yem miktarları ile ürettiği idrar ve dışkı miktarları	49
Tablo 4.4. Grupların kan glukoz düzeyleri	50
Tablo 4.5. Grupların sağ böbreğine ait sonuçlar	51
Tablo 4.6. Grupların sol böbreğine ait sonuçlar.....	52
Tablo 4.7. Grupların sağ ve sol rölatif böbrek ağırlıkları	52
Tablo 4.8. Serum değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması.....	54
Tablo 4.9. İdrar ölçüm sonuçlarının gruplara göre dağılımı	56
Tablo 4.10. İdrar ölçüm sonuçlarının gruplara göre dağılımı	57
Tablo 4.11. Bazı idrar ölçümlerinin gruplara göre Kruskal Wallis Testi ile karşılaştırılması	58
Tablo 4.12. Deney gruplarının glomerulus boyutu, bowman boşluğu genişliği, bowman kapsülünün pariyetal ve visseral yaprağının kalınlığı, tubulus bazal membran kalınlığı	59
Tablo 4.13. Deney gruplarının tubuler dilatasyon, tubuler atrofi, intraselüler vakuolizasyon, hiyalin birikimi, mononükleer hücre infiltrasyonu, sklerotik glomerulus sayısı, mesangiyal matriks artışı	60
Tablo 4.14. Deney gruplarının Masson'un trikrom boyaması ile boyanma yüzdeleri.....	62
Tablo 4.15. Deney gruplarının Pikrik Asit-Sirius Kırmızı ile pozitif boyanma yüzdeleri.....	64
Tablo 4.16. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait Bcl-2 boyanmalarının pozitif yüzdelerinin oranları.....	68
Tablo 4.17. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait Bax boyanmalarının pozitif yüzdelerinin oranları.....	71
Tablo 4.18. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait aktif Kaspaz-3 boyanmalarının pozitif yüzdelerinin oranları	74
Tablo 4.19. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait Kaspaz-9 boyanmalarının pozitif yüzdelerinin oranları.....	77
Tablo 4.20. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait TUNEL boyaması.....	80

1. GİRİŞ

Diyabetes Mellitus (DM), kan glikoz seviyesinin düzenlemekle görevli insülinin üretilmesi veya yanıt verme kabiliyetinin zayıflamasıyla ortaya çıkan bir karbonhidrat metabolizması bozukluğudur. Diyabet teşhisi koyulan bireylerde insülin tedavisine başlanmakta, ancak kan şekerinde geniş dalgalanmalar (brittle) olan diyabet hastalarında birçok komplikasyon meydana gelmektedir. İnsülin düzeyinde meydana gelen değişiklikler ve düzensizlikler çeşitli metabolik süreçlerde farklı sonuçlara neden olmaktadır (Tavafi, 2013). Kalıcı hiperglisemi, retina, nöral, böbrek hasarı gibi mikrovasküler ve ateroskleroz, miyokard infarktüsü, felç ve şeker koması gibi makrovasküler komplikasyonlara yol açabilir (Dkhil et al., 2016).

Diyabetin en yaygın komplikasyonlarından olan diyabetik nefropati (DN), diyabetli bireylerin böbrek fonksiyonlarını ciddi şekilde tehdit etmektedir. DM tanılı bireylerde % 20-40 arasında DN meydana gelmektedir (Wang et al., 2014). Yüksek kan glukoz düzeyi (hiperglisemi) böbrek fonksiyon bozukluklarının ilerlemesi ve DN lezyonlarının kötüleşmesinde büyük bir rol oynamaktadır. Beş aşamadan oluşan ve patogenezi tam olarak aydınlatılamayan DN'nin birinci aşamasında hiperglisemiye bağlı hiperfiltrasyon oluşur. İkinci aşamada klinik bulgularla ilişkili olmayan histolojik değişikliklerle karşılaşılabılır. Üçüncü aşamada idrarla albüminin kaybedildiği yeni başlayan nefropati oluşur. Dördüncü aşamada proteinüri meydana gelirken, beşinci veya son aşama olarak ifade edilen durumda böbrek nakli gerektiren son dönem böbrek hastalığıdır. DN gelişen hastalarda uygulanan tedavi kan glukoz düzeyinin ve kan basıncı seviyesinin regüle edilmesini içerir. Renin-anjiyotensin sistemini (RAS) düzenleyen ilaçlarla hipertansiyonun ve kan glukoz düzeyinin kontrolü diyabetik böbrek hastalığı (DKD) ilerleme hızını yavaşlatmasına rağmen DN komplikasyonlarını önlemede yetersiz kalmaktadır (Fioretto and Mauer, 2007). Gerekli önlemler alınmadığı ve tedavilerin geliştirilmediği durumda gelecek yıllarda DN, böbrek yetmezliğinin en sık görülen nedeni olabilecektir.

Diyabetin tedavisinde ve komplikasyonlarının önlenmesinde birçok geleneksel bitki etkili, güvenilir ve ekonomik bir tedavi yöntemi olarak uygulanmaktadır. Diyabet komplikasyonlarının tedavisinde bitkisel preparatların kullanılması özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde çok yaygındır (Kishore et al., 2017). Yapılan çalışmalarda sentetik ajanların, bitkisel ilaçlara kıyasla insan sağlığı üzerinde birçok

olumsuz etkiye sahip olmasından dolayı, diyabet komplikasyonlarının kontrolü için bitkisel beslenme ve bileşikler üzerinde yoğunlaşmıştır (Ali Asgar, 2013; Agte and Gite, 2019).

Karvakrol (CAR, 2-metil-5-izopropil fenol), *Lamiaceae* familyasına ait bazı bitki türlerinin (mercanköşk, misk otu, kekik) uçucu yağında bulunan monoterpen fenolik ajandır (Kirimer et al., 2000; Arigesavan and Sudhandiran, 2015; Sharifi-Rad et al., 2018). Gıda katkı maddesi olarak da kullanılan CAR'ın antioksidan, antidiyabetik, antibakteriyel, antifungal, antikanserojenik, antiapoptotik, antiinflamatuvar ve hepatoprotektif gibi çok çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahip olduğu ortaya konulmuştur (Arigesavan and Sudhandiran, 2015; Barnwal et al., 2018; Shoorei et al., 2019). Hem in vitro hem de in vivo yapılan çalışmalarda antioksidan etkilere sahip olduğu gösterilen CAR'ın antioksidan özelliği aromatik halkaya kovalent olarak bağlanan hidroksil grubunun (OH $\cdot$) varlığı ile bağlantılıdır (Guimarães et al., 2010; Aristatile et al., 2015).

Zengin besin ve biyoaktif bileşenlere sahip olan turuncgiller (narenciyeler) bu bileşenler sayesinde, obezite ve metabolizma bozukluklarının önlenmesinde ve tedavisinde önemli rol oynayabilir. Hesperidin (HP-3',5,7-trihydroxy-4'-methoxy-flavanone-7-rhamnoglucoside), turuncgillerde bulunan bioflavonoidal bileşiklerden biridir (Choudhary and Grover, 2012; Vasudeva et al., 2012). HP'in farmakolojik etkilerini tanımlamak için birden fazla analiz yapılmıştır (Malterud and Rydland, 2000). Toksikolojik çalışmalar, HP'nin hiçbir yan etkisi olmadığını ortaya koymuştur (Kurata et al., 1990; Hanedan et al., 2018). Yapılan araştırmalar HP'nin antiinflamatuvar, antihiperlipidemik (Akiyama et al., 2009; Jayaraman et al., 2018), antihiperlipidemik (Chiba et al., 2003; Akiyama et al., 2009), antikarsinojenik, antioksidatif (Tirkey et al., 2005), antifungal, antiviral, bağışıklığı düzenleyici, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, antidepresan ve diyabetik sıçanlarda nöroprotektif özelliğini ortaya koymuştur (Erlund, 2004). HP ayrıca diyabetik hayvanların karaciğer ve böbreklerinde Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B)'yi ve oksidatif stresi inhibe ettiği (Iskender et al., 2017), proinflamatuvar sitokinlerin ve oksidatif stres belirteçlerinin serum düzeylerini azalttığı (Dokumacioglu et al., 2018), retina gangliyon hücrelerinde yüksek glikozun neden olduğu oksidatif stres ve apoptoza karşı koruma sağladığı (Liu et al., 2017), pankreas'da bulunan β hücrelerini koruma, oksidatif ve endoplazmik retikulum (ER) stresini baskılayarak işlevlerini iyileştirme potansiyeline sahip olabileceği bildirilmiştir (Hanchang et al., 2019).

Bu tez çalışmasında, kanser, nörodejeneratif, diyabet gibi hastalıklarda antioksidan etkinliği bilinen HP ve CAR'ın, sıçanlarda streptozotosin (STZ) ile oluşturulan DM kaynaklı DN sonrasında böbrek üzerine koruyucu/iyileştirici etkinliği ortaya konularak bu konuda uygulanan standart tedaviye katkı sağlanması beklenmektedir. Bu amaçla STZ ile diyabet oluşturulan sıçanların böbreklerinde HP ve CAR etkinliği histopatolojik yöntemlerle incelenmiştir. Ayrıca CAR ve HP kullanımının diyabetik nefropatide meydana gelen hücre ölümüne etkisi immunohistokimyasal ve TUNEL yöntemleriyle araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

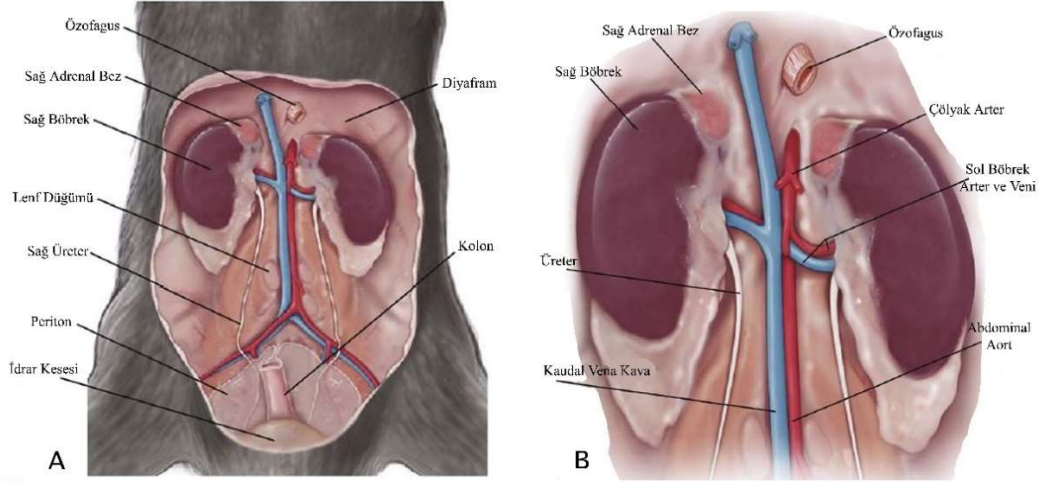
2.1. Üriner Sistem

Üriner sistem kemirgenlerde bilateral konumlanmış çift böbrek ve üreterler, orta hatta tek idrar kesesi ve üretradan oluşmaktadır (Şekil 2.1). Osmoregülasyon, kan basıncının ve hacminin düzenlenmesi, eritrosit üretiminin uyarılması, kalsiyum emilimi, toksin metabolizması dâhil olmak üzere çeşitli fizyolojik süreçler ve boşaltım üriner sistemin sorumluluğundadır. Böbreğin fonksiyonel birimi olan nefron; glomerulus ve renal tubulden oluşmaktadır. Böbreğin ürünleri arasında idrar, renin (anjiotensinojenaz), kalsitriol (Vitamin D'nin aktif formu) ve eritropoietin bulunur. Böbrek fizyolojisindeki tür farklılıkları nefron oranı/sayısı ile vasküler demetler, renal papilla ve medulla morfolojisinde görülür. Erkek kemirgenler yüksek protein içeriğine sahip konsantre idrar üretirler. Kemirgen böbreklerinde cinsel dimorfizm olabilir. Böbrek boyutu hatta böbreğin çeşitli ilaçlara ve bileşiklere verdiği yanıtlar kemirgenlerin cinsiyetine bağlı olarak önemli ölçüde farklılık gösterebilir. Bu mevcut farklılıklar çalışma tasarımı, klinik verilerin yorumlanması ve post-mortem değerlendirmeler de dikkate alınmalıdır (Treuting et al., 2017).

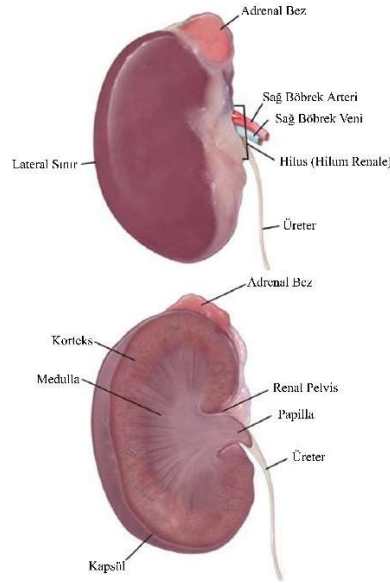
2.2. Böbrek

2.2.1. Makroskobik Anatomi

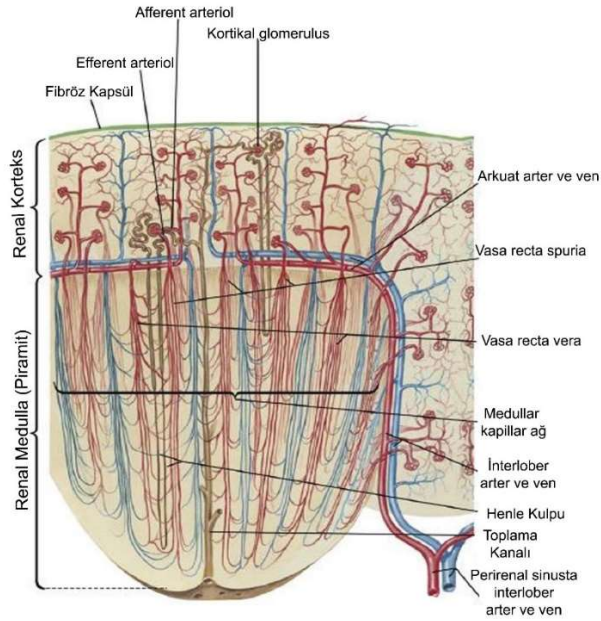
Kemirgen böbreği retroperitoneal olarak yerleşmiş olup beyaz yağ dokusu ile çevrelenmiştir. Her iki böbrekte üst orta karın bölgesinde bulunur (Şekil 2.1). Karaciğerin sağ lobuna komşu olan sağ böbrek nispeten daha kraniyal konumlanırken sol böbrek daha kaudalde bulunur. Kemirgen böbreği kırmızı-kahverenginde, pürüzsüz, fasulye şeklinde ve dorsoventral olarak nispeten incedir (Şekil 2.2). Erkek kemirgenler, dişi kemirgenlere göre daha büyük böbreklere sahiptirler. Kan damarları, lenfatikler ve sinirler, böbrek kalikslerinin kapladığı yağ dolu bir alan olan renal sinüsü içeren renal hilusdan (böbrek hilusu, hilum renale) böbreğe girer ve çıkar. Kemirgenlerde böbrekler renal pelvis derinlemesine uzanan tek bir papillaya sahiptir (unipiramidal-unilobar) (Şekil 2.2). Korteksde koni şekilli kortikal labirentler, dış ve iç şerit olarak bölünmüş olan dış medulladan uzanan medüller ışınlar bulunur. Medullanın en iç kısmı renal pelvis ve üretere uzanan renal papilladır. Kanın böbreğe gelmesi tüm türlerde benzerdir. İnterlobar arterlerin tanımı, segmental ve arkuat arterleri birbirine bağlayan damar kısmı için kullanılır (Şekil 2.3) (Treuting, Dintzis et al., 2017).



Şekil 2.1. Kemirgen (fare) bölgesel anatomi. (A) Retroperitoneal boşluk. (B) Böbrekler ve perirenal yumuşak dokular. Kemirgen böbrekleri kraniyal orta karın bölgesinde retroperitoneal olarak bulunur. Vücut kondisyonu iyi olan kemirgenlerde, kahverengi yağ dokusu cepleri olan beyaz yağ dokusu ile çevrilidirler. Sağ böbrek nispeten kraniyaldedir ve böbrek fossa içinde karaciğerin sağ lobunun bitişiğinde yer alır. Sol böbrek, karın bölgesinde aşağıdadır. Böbreküstü bezleri böbreklerin kraniyal kutuplarında bulunur. Kemirgenlerin üreterleri küçüktür ve yağ dokusu fazla olan hayvanlarda bulmak zor olabilir. Fareler (0,5-1 mL) ve sıçanlar (8,25-16,5 mL) yüksek konsantrasyonlu idrar üretirler (Treuting, Dintzis et al., 2017).



Şekil 2.2. Kemirgen (fare) sağ böbreği. Unilobar böbrek düz ve kapsüler bir yüzeye sahiptir ve dorsoventral olarak düzleştirilmiştir. Ortada bulunan hilum; kan damarları, sinirleri ve üreteri içerir. Tek medullar papilla hem beyaz hem de kahverengi yağ dokusu içeren renal pelvise kadar uzanır. Çapraz veya uzunlamasına kesitlerde, korteks, koni şeklindeki kortikal labirentler, dış ve iç şerit olarak bölünmüş olan dış medulladan uzanan medullar ışınlar olarak görünür. Papilla, medullanın iç kısmıdır. Küçük üreterler, retroperitoneal boşlukta, üreme yolunun ve mesanenin dorsalinde bulunur ve mesanenin trigonuna eğik olarak girer (Treuting, Dintzis et al., 2017).

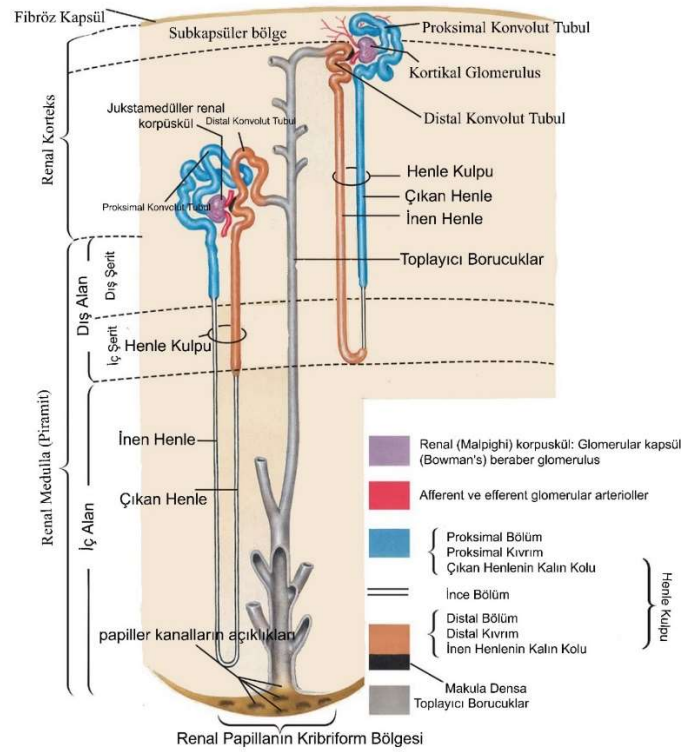


Şekil 2.3. Renal vaskülatür diyagramı. Böbrekler kalp debisinin ~%25'ini alır. İdrar üretimi, böbreklere akan kan miktarı ile tanımlanan glomerüler filtrasyon hızına bağlıdır. Arteriyel kan, ultrafiltrasyon bölgesi olan afferent arteriyoller yoluyla doğrudan glomerulusa akar. Glomerulus, afferent ve efferent arteriyollerini içerir; afferent arteriyoller, glomerüler yumağın pencereci kılcal damarlarının çoğunu oluşturur. Efferent arteriyoller, filtrelenmiş kanı jukstamedüller nefronların vasa rektasına taşır ve daha sonra kanı venöz sisteme boşaltır. Kemirgenlerde, vasa rektta, yüksek konsantre idrar oluşturma becerilerinin artmasına yardımcı olan dev vasküler demetler oluşturmak için birleşir (Treuting, Dintzis et al., 2017).

2.2.2. Histoloji

2.2.2.1. Nefron

Nefron, memeli böbreğinin fonksiyonel birimidir. Farelerde ve sıçanlarda nefronun yapısı; glomerulus, proksimal tubul (kıvrımlı ve düz), inen ve çıkan Henle kulpu, düz segment, makula densa ve kıvrımlı distal tubulden oluşur. Nefronlar kortekste konumlarına göre sınıflandırılır: farelerde yüzeysel veya jukstamedüller (böbrek medullası yanında olan); sıçanlarda yüzeysel, orta kortikal veya jukstamedüllerdir (Şekil 2.4). Bir diğer nefron sınıflandırması ise kısa veya uzun segment olarak tanımlanan Henle kulpunun uzunluğu ile yapılır. Kemirgenler, kırsadan (3:1) daha uzun bölümlü nefronlara sahiptir. Kemirgen böbreklerinin sahip olduğu bu özellik yüksek özgül ağırlığına sahip konsantre idrar (1.030-1.060 g/ml) üretmesine ve erkek kemirgenlerde belirgin olan proteinüriye neden olurlar. Farelerde ~14.000, sıçanlarda 30.000-35.000 nefron vardır. Kortekste dıştan içe gidildikçe glomerüllerin boyutunun artması ve yoğunluğu azalmasına rağmen, yaşla beraber glomerüllerin sayısı değişmez (Treuting, Dintzis et al., 2017).



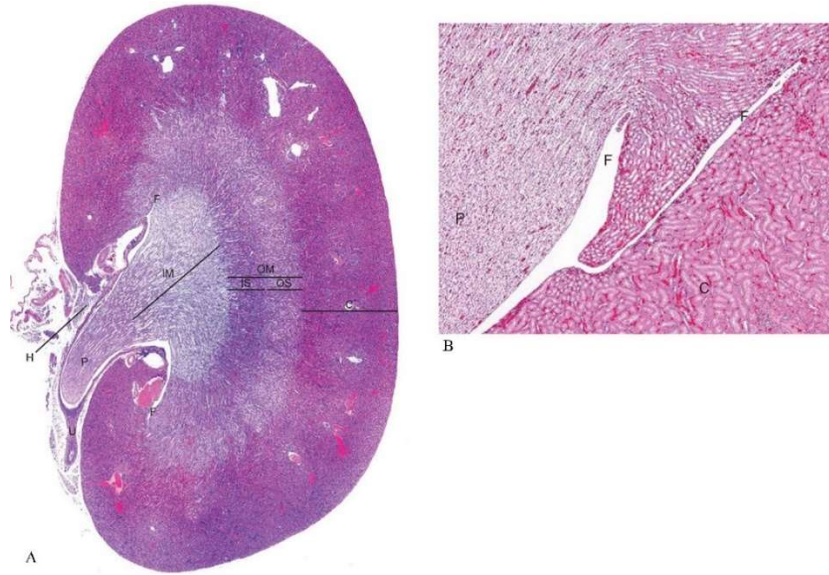
Şekil 2.4. Bir nefronun diyagramı. Nefron, böbreğin fonksiyonel birimidir, renal korpüskülden (glomerüler kapillar yumak ve onu çevreleyen Bowman kapsülü) ve Henle kulpu ile bağlanan proksimal ve distal tubullerden oluşur. Filtrat, böbrek papillasının kribriform bölgesinden çıkan daha büyük toplama kanallarına akan toplama tubullerine boşalır. Nefronlar, korteks konumu ve Henle kulpu uzunluğuna göre sınıflandırılır. Proksimal kıvrımlı tubul morfolojik ve fonksiyonel olarak üç bölüme (P1-3) bölünmüştür (Treuting, Dintzis et al., 2017).

2.2.2.2. Glomeruluslar

Kemirgen böbrek dokusu (Şekil 2.5), nispeten ince bir korteks (glomerülden yoksun subkapsüler bölge) ve daha küçük glomerulus boyutuna (farelerde ve sıçanlarda ortalama 73.4 ve 90 μm) sahiptir. Jukstamedüller glomeruluslar, yüzeysel kortekstekilerden daha büyük görünebilir. Glomerüler korpüskül, bowman kapsülü ile çevrili bir kılcal damar ağı içerir. Glomerulus vasküler ağ, hücre dışı matriks içine gömülü olan miyoepitelyal hücreler (mezangiyal hücreler) tarafından desteklenir. Genellikle mezangiyal alan başına bir veya iki hücre vardır. Kapıllarların lumen yüzeyi, fenestre endotel ile kaplıyken, üriner yüzey, ultra strüktürel olarak görülen karakteristik ayakları bulunan visseral epitel hücreleri (podositler) ile kaplıdır. Her iki türde de glomerüler bazal membran, endotel hücreleri ve podositler arasında bulunur. Periyodik asit-Schiff (PAS) ve Jones'un metenamin gümüşü gibi özel boyalar, glomerüler bazal membranı göstermek için insan böbrek patolojisinde rutin bir incelemenin parçasıdır. Bowman kapsülü normalde düz bir parietal epitel hücre tabakası ile kaplıdır.

Kemirgenler, tür ve yaşa bağlı olarak glomeruluslar dahil böbreklerde değişken eşeysel dimorfizm sergiler. Dişi kemirgenlerde Bowman kapsülünün parietal epiteli yassı iken, erkek kemirgenlerde kübik olabilir. Bu bulgu, sıçanlarda daha az görülmekle birlikte, mevcut olduğunda patolojiye işaret etmez. Ayrıca, dişi sıçanlar erkek sıçanlardan daha küçük ancak daha fazla sayıda glomerulusa sahip olma eğilimindedir.

Fare ve sıçan glomerulusunun ultra strüktürel özellikleri, glomerüler bazal membran kalınlığındaki fark hariç, çoğunlukla benzerdir. Glomerüler kapillar bazal membran üç katmandan oluşur: Lamina rara interna, lamina densa ve lamina rara externa. Farelerde glomerulus bazal membran kalınlığı 80-200 nm iken, sıçanlarda ortalama 335-414 nm'dir. Farelerde, bazal membran katmanları olduğundan daha belirgin görünmektedir. Fenestre endotelyum ve glomerüler podositler arasındaki boşluklar gibi diğer ultra strüktürel özellikler, her iki türde de benzerdir (Treuting, Dintzis et al., 2017).



Şekil 2.5. Kemirgen (fare) böbrek subgrossu. (A) Böbreğin kapsüler yüzeyi pürüzsüzdür. Korteks (C), medulla (M) ve hilus (H) kolaylıkla ayırt edilebilir. Tek bir papilla (P) renal pelvisine derinlemesine uzanır. Pelvislerin üst kısımlarında yüzey alanını artıran forniks (F) adı verilen kıvrımlar bulunur. Renal hilus (H) bol miktarda kahverengi yağ içerir. Korteks (C), dış medullar (OM), iç şerit (IS), dış şerit (OS), iç medullar (IM) ve üreter (U) belirtilmiştir. Kaynak: Dr. Julie Randolph-Habecker'in izniyle. (B) Forniks (F), korteks (C) ve papilla (P) ile ilişkiyi gösteren büyük büyütme (Treuting, Dintzis et al., 2017).

2.2.2.3. Kortikal Labirentler

Kemirgenlerin kortikal labirentleri çoğunlukla medüller ışıklarda sonlanan proksimal kıvrımlı tubuller (PCT) içerir (Şekil 2.4). Medullada tubuller; pars rekta, düz inen kol ve Henle'nin ince kulpudur. Henle kulpunun dört bölümü vardır. (1) Kalın

inen kulp (PCT'nin pars rektası), (2) ince inen kulp, (3) ince çıkan kulp ve (4) kalın çıkan kulp (Distal kıvrımlı tubulun pars rektası). Distal kıvrımlı tubuller, soluk boyanmaları ve fırçamsı kenarlarının olmaması nedeniyle histolojik olarak ayırt edilebilirler. Kemirgenlerin renal tubullerinin bölümleri, histolojik kesitlerde kolaylıkla tanımlanabilir. Proksimal tubuler epitel, iki tür arasında benzerdir, PCT ve düz segmentler fonksiyonel kapasiteye göre P1, P2 ve P3 olarak üç segmente ayrılır (Şekil 2.4). Bu segmentler ayrıca S1, S2 ve S3 olarak da bilinir ve histokimyasal ve ultra strüktürel mikroskopi ile tanımlanabilir. Işık mikroskobu ile incelenen kesitlerde, proksimal kıvrımlı tubul PAS boyama ile belirgin, nispeten kalın bir fırçamsı kenara sahiptir. P2, düz segmentin ilk kısmına uzanır ve daha az belirgin bir fırçamsı kenara sahiptir. P3 medullar ışınların içinde ve dış medullanın dış şeridine doğru ilerler. Kemirgenlerde, bu bölümlerin cinsel dimorfizmi vardır; örneğin erkek sıçanlar, ultra yapısal olarak değerlendirilebilecek olan P1 ve P2'de artmış pürüzsüz ER'ye sahiptir. Benzer şekilde, erkek farelerde P2'nin mitokondrileri daha büyüktür, elektron lüsenttir ve daha fazla otofajik vakuol içerir. Yapılardaki bu cinsiyet farklılıkları fonksiyonel farklılıkları yansıtır.

Proksimal tubul küboidal-kolumnar epitel hücreleri, yüksek sayıda mitokondri nedeniyle granüler sitoplazmaya ve yoğun PAS-pozitif fırça kenarı sayesinde parlak eozinofilik yapıya sahiptir. Kemirgenlerde, distal kıvrımlı tubul, PCT'nin belirgin fırça kenarından yoksundur, ancak H&E ile boyanmış kesitlerde ayırt etmek zor olabilir. Kemirgen glomerulusların ve tubullerinin cinsel dimorfizmi hem ışık hem de elektron mikroskopik seviyelerde görülebilir. Örneğin, erkek farelerde dış kortikal tubuler hücreler çeşitli şekillerde vakuollüdür. Bu vakuoller tipik olarak küçük, ayrı, renksizdir ve mikroveziküler lipid birikimi ile benzerdir. Cinsel olarak olgun genç erkek sıçanların proksimal tubulleri sıklıkla Mallory–Heidenhain boyası ile iyi görselleştirilen ve hiyalin damlacıkları olarak adlandırılan eozinofilik (α -2u-globulin) granüller içerir. Bu α -2u-globulin granüllerinin önemi bilinmemektedir, ancak normal genç erkek sıçanlarda renal tubuler epitel hücrelerinin apikal kısımlarında birikebilir. Bazı kimyasallara maruz kaldıktan sonra, çeşitli böbrek ve diğer hastalıklarda daha yüksek miktarlarda da tespit edilebilirler. Buna karşılık, dişi kemirgenlerde tipik olarak proksimal tubuler hücrelerde vakuolasyon görülmez, dişi ve yaşlı erkek sıçanların hücreleri bol miktarda eozinofilik granül içermez. Kemirgenlerin dış medullasında ince kıvrımlar, kemirgen nefronunun yüksek konsantrasyon yeteneğine yardımcı olan büyük damar demetleriyle sarılmıştır. Distal tubulun inen kalın kolu,

her iki türde de benzer olan JGA'da kortekse yeniden girer. Renal korpüskülün vasküler kutbunda yer alan JGA, afferent ve efferent arterioller, makula densa ve ekstraglomerüler mezangiyal hücrelerden oluşur. Granüler renin üreten hücreler en çok afferent arteriyolde belirgindir ve PAS pozitifdir (Treuting, Dintzis et al., 2017).

2.2.2.4. Medulla

Kemirgenlerde medulla, iç ve dış bölgelere, dış bölge ise farklı boyama ile açıkça görülen iç ve dış şeritlere bölünmüştür. Medullar ışınlar içinde, distal kıvrımlı tubuller toplayıcı tubullere katılır ve bunlar daha sonra iç medullayı oluşturan renal papillalarda daha büyük toplayıcı kanallarla birleşir. İç medulla ve dış medullanın iç şeridi, distal tubulün ince çıkan ve inen kolları olan toplayıcı kanalları içerir. Dış medullanın dış şeridi, proksimal tubulün terminal segmentlerini, distal tubulün kalın çıkan kolunu ve toplayıcı tubulleri içerir. Orantılı olarak, kemirgenler daha uzun nefronlara sahiptir ve daha fazlası korteksten renal papillanın derinliklerine uzanır, bu da idrarı konsantre etme yeteneğinin artmasına neden olur. Distal tubulleri ve toplayıcı kanalları çevreleyen vaza rekta ve interstisyel hücrelerdir. Kemirgenlerin interstisyel hücreleri, toplayıcı tubuller ve kapillarlar arasında yatay bir oryantasyonla fusiformdur ve ozmotik gradyanlara izin vererek medullanın bölümlenmesine yardım ederler. Sıçanlar, toplayıcı tubuller arasında hücre sütunları olarak görünen medullar interstisyel hücrelerin benzer histolojik özelliklerine sahiptir. Medulla üç tip interstisyel hücre içerir: Uzun sitoplazmik uzantılara sahip, çoğunlukla iç medullada lokalize ve genellikle Henle kulpu ile vaza rekta arasında sıralar halinde belirgin lipid içeren hücreler, lenfosit benzeri hücreler ve vaza rekta yakınında yer alan perisitler. Sıçanlarda interstisyel hücrelerin ultrastrüktürel karakterizasyonu, hücre fonksiyonuyla ilgili üç farklı tipte yapısal özellik ile insanlara benzer bir yapı ortaya koymuştur. Tip 1 veya yıldızsı interstisyel hücreler düzensiz şekilli olup, bol miktarda lipid vakuölü ve kaba endoplazmik retikulum içeren uzun sitoplazmik uzantılara sahiptir. Prostaglandin üretiminde rol oynayan bu hücreler Henle kulpu ve kapillarlarla yakından ilişkilidir. Tip 2 (monositik) interstisyel hücreler belirgin olmayan sitoplazma, az miktarda endoplazmik retikulum, bol miktarda serbest ribozom ile yuvarlaktır ve uzantıları bulunmaz. Tip 3 interstisyel hücreler ince sitoplazmik uzantılarla yassılaştırmıştır ve pars (vaza) rekta ile ilişkilidir; bu hücrelerin bir perisit gibi işlev gördüğü düşünülmektedir. Benzer interstisyel hücre tipleri fare böbreklerinde de görülmektedir, ancak sıçanlar için yapılan detaylı ultrastrüktürel çalışmalar şu anda mevcut değildir (Treuting, Dintzis et al., 2017).

2.2.2.5. Papilla

Kemirgen papillası, renal pelvisin içine doğru uzanır. Tüm türlerde renal pelvis, üreter ve mesanede bulunana benzer şekilde ürotelyum ile kaplıdır. Kemirgen renal pelvisindeki ürotelyumda küçük eozinofilik (hiyalin) sitoplazmik damlacıklar veya önemi bilinmeyen vakuoller bulunabilir (Treuting, Dintzis et al., 2017).

2.3. Diyabetes Mellitus

Kilo kaybı ve poliüri ile karakterize diyabet, ilk olarak Mısırlılar tarafından belgelenmiştir. DM terimini ilk kullanan kişi Yunan Doktor *Aretaeustur*. Yunanca'da diyabet, 'geçmek', latince bir kelime olan mellitus 'bal' -tatlılığa atıf- anlamına gelmektedir. Uzun süreli hastalıkların ve erken ölümlerin bir nedeni olan diyabet, her on saniyede bir ölüme yol açarak, bir yılda HIV-AIDS'ten daha fazla can almaktadır.

Dünya çapında sanayileşme ile obezitedeki şaşırtıcı artış, diyabeti küresel bir salgın haline dönüştürmüştür. Her ne kadar doğru bir yaygınlık ölçüsüne ulaşmak iki ana nedenden dolayı çok zor olsa da -dünyanın farklı yerlerinde büyük farklılıklar gösteren veri toplama yöntemleri- yapılan çalışmalar yetişkinlerde, 1995'te %4 olan diyabet prevalansının, 2025 yılına kadar %6.4'e çıkacağını tahmin etmektedir (King et al., 1998). Ayrıca gelişmiş ülkelerde %42'lik bir artışla 51 milyondan 72 milyona, gelişmekte olan ülkelere ise %170'lik bir artışla 84 milyondan 228 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Dünya genelinde yetişkin diyabet hastası 2003'te 194 milyondan 2025'te yaklaşık 380 milyona çıkacağı öngörülmektedir. 2025 yılına kadar bu salgından en çok etkilenen ülkelerin Hindistan, Çin ve ABD olacağı düşünülmektedir (King, Aubert et al., 1998). İkinci ve oldukça endişe verici neden, bugün bile tanı konmamış hastaların büyük popülasyonu (neredeyse %50) oluşturmaktadır.

Yaşam beklentisindeki değişiklik ve sağlık hizmetlerinde gelişme eksikliği, DM insidansında şaşırtıcı artıştan kısmen sorumludur. Bu nedenle kentsel alanlarda diyabet oluşumunda artış eğilimi vardır. Sonuç olarak diyabetli hastalar hem kısa hem de uzun vadeli komplikasyonlara ve erken ölüme eğilimli olduklarından, dünya genelindeki ülkelere sağlık hizmetleri yükünde önemli bir artışla karşı karşıya kalacaklardır.

2.3.1. Diyabetin Patofizyolojisi

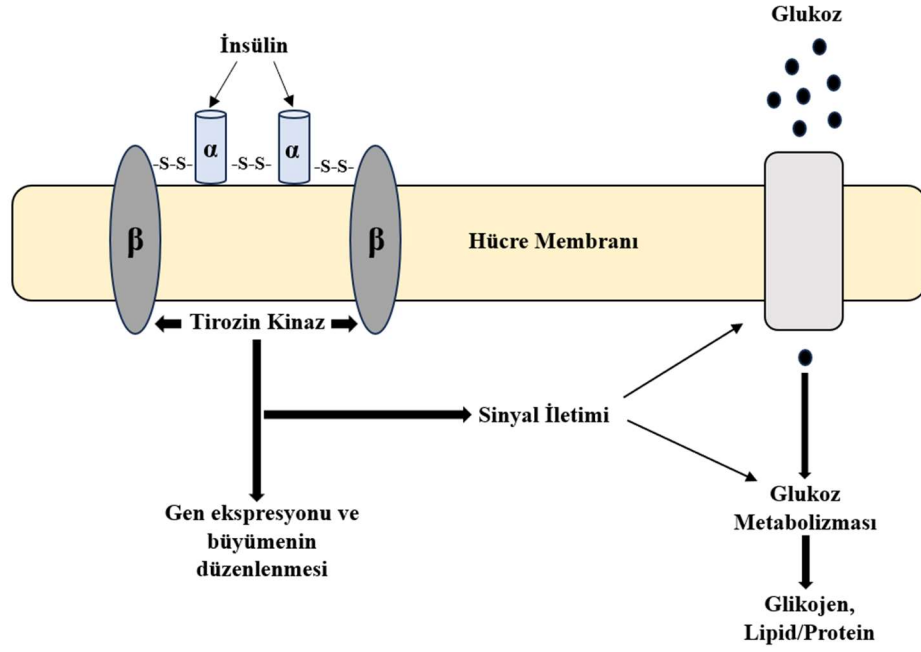
Canlıların vücudunda, sağlıklı fizyolojik durumunu korumak ve sürdürmek için bir dizi sistem eşzamanlı olarak işlev görür. Bu süreçlerin özünde, organizmanın homeostazı sürdürme yeteneği yatar. Homeostazda meydana gelen küçük bir değişiklik, çeşitli organ ve sistemlerde patolojik durumun gelişmesine neden olur.

DM'lu bir bireyin kan glukoz seviyesini düzenleme yeteneği azalır ve bu da küçük ve büyük komplikasyonlara neden olur.

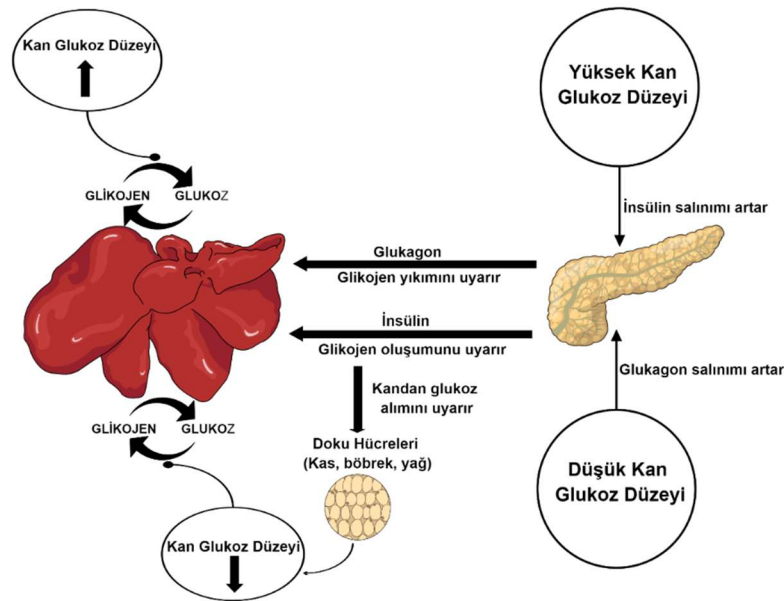
2.3.2. Kan Glukoz Düzeyinin Düzenlenmesi

Negatif geri bildirim yoluyla regüle edilen kandaki glukoz düzeyi, insülin ve glukagon salınımıyla düzenlenmektedir. Pankreasta bulunan Langerhans adacıklarının β hücreleri, kandaki glukoz düzeyi yüksek olduğu zaman disülfid köprüleriyle birbirine bağlanan iki zincirden (A ve B) oluşan 51 amino asitli bir polipeptid olan insülini serbest bırakmak için tetiklenir (Pessin and Saltiel, 2000).

İnsülin, disülfid bağlarıyla birbirine bağlanan iki α alt birim (hücre dışı) ve iki β alt biriminden (zar içi) oluşan tirozin kinaz insülin reseptörüne bağlanır (Şekil 2.6). İnsülinin, tirozin kinaz insülin reseptörünün β alt birimine bağlanması, β alt biriminin otofosforilasyonuna ön ayak olur. İnsülin karaciğere fazla glukozu depolama ve glikojene dönüştürmesi için sinyal gönderir; aynı zamanda vücuttaki diğ er hücreleri (yağ/iskelet kası hücreleri) glukoz taşıyıcısının (GLUT4) hücre yüzeyine yer değ işt irmesiyle daha fazla glukoz almaları için tetikler. Bu dolaşımdaki glukoz konsantrasyonlarını normal seviyeye getirmeye yardımcı olur. Kandaki glukoz konsantrasyonu düşük olduğ unda, pankreasın α hücreleri glukagon salgılamak için uyarılır. Glukagon, karaciğ ere depolanmış glikojeni, homeostazı sağ lamak için kana salınan glukozu dönüştürmesi için sinyal verir (Şekil 2.7).



Şekil 2.6. İnsülin Etkisi. İnsülinin, insülin reseptörünün α alt birimlerine bağlanması, β alt birimindeki tirozin kinazı aktive ederek β alt biriminin otofosforilasyonunu teşvik eder. İnsülin, karaciğere fazla glukozu depolanmak üzere glikojene dönüştürmesi için sinyal verir; ayrıca vücuttaki diğer hücreleri (yağ/iskelet kası hücreleri), insüline yanıt olarak hücre yüzeyine taşınan glukoz taşıyıcı (GLUT4) yoluyla daha fazla glukoz almaları için tetikler (Kaul et al., 2013).



Şekil 2.7. Glukoz homeostazı. Kan glukoz seviyesi yükseldiğinde, β hücrelerinden insülin salgılanır ve karaciğeri ve diğer doku hücrelerinin çoğunu glukozu absorbe etmek için uyarır. Glukoz glikojen, trigliserit ve proteine dönüştürülür. Glukoz seviyesi düşerse, α hücrelerinden glukagon salgılanması glukozu karaciğere salması için uyarır. Glukoz, glikojenin parçalanması ve amino asitler ile yağ asitlerinin glukozla dönüştürülmesiyle açığa çıkar. Glukoz metabolizmasındaki bozukluk, insülin eksikliğinden (T1DM) ve hedef dokuların insülin etkisine direnç göstermesinden (T2DM) kaynaklanır (Kaul, Tarr et al., 2013).

2.4. Diyabetes Mellitus'un Sınıflandırılması

Diyabetin ilk sınıflandırılması 1979 yılında Ulusal Diyabet Veri Grubu (NDDG) tarafından yayınlanmıştır (Group, 1979). Bu öneri, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 1980 yılında onaylanmış ve 1985 yılında modifiye edilmiştir (Alberti and Zimmet, 1998). NDDG'nin sınıflandırılması, uygulanan farmakolojik tedavi esas alınarak iki gruba ayrılmıştır: insüline bağımlı DM (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan DM (NIDDM). NDDG ayrıca DM'yi a) gestasyonel diyabet b) yetersiz beslenmeyle ilişkili diyabet c) diğer bazı tipler şeklinde sınıflandırmıştır. IDDM terimi başlangıçta, zayıf, ketozise yatkın ve tedavi için esas olarak insülin gerektiren hastaları tanımlarken, NIDDM terimi ise, obez, ketozise yatkın olmayan, tedavi için insülin gerektirmeyen fakat kilo kontrolü, egzersiz ve/veya ilaçlar gibi diğer önlemlere ihtiyaç duyan hastaları tanımlamaktaydı.

Ulusal diyabet veri grubu tarafından 1979 yılında öne sürülen terimler 1980 ve 1990'larda popüler hale gelmiştir. Terimlerin daha sık kullanılması bazı anlam kargaşalarını da beraberinde getirmiştir. NIDDM'li bazı hastaların hastalığı kontrol etmek için insüline ihtiyaç duyması buna örnek olarak verilebilmektedir. Diyabetin patogenezi hakkında yeni elde edilen bilgiler NDDG'nin sınıflandırmasını gereksiz kılmıştır.

Mevcut diyabet sınıflandırılması, 1997 yılında ADA uzman paneli tarafından oluşturulmuş ve yayınlanmıştır. Bu gözden geçirilmiş sınıflandırma, 1998'de WHO tarafından onaylanmıştır (Alberti and Zimmet, 1998). 2003 yılında ADA tarafından revize edilmiş (Genuth and KG, 2003) ve 2006 yılında WHO tarafından onaylanmıştır (Organization, 2006). Yeni diyabetin sınıflandırılması hastalığın tedavisine değil patogeneze dayanamaktaydı. Sınıflandırmada dört kategori önerilmiştir. Tip 1 Diyabetes Mellitus (T1DM), tip 2 diyabetes mellitus (T2DM), diğer spesifik tipler ve gestasyonel diyabet (Tablo 2.1).

Diyabetes mellitus'un uzun süreli hiperglisemiye yol açan bir grup hastalık için kullanılan geniş bir terim olduğunu anlamak çok önemlidir. Farklı diyabet tiplerini geliştirme mekanizmalarındaki farklılık, sınıflandırmalarının temelini oluşturur.

Tablo 2.1. Diyabetes Mellitus'un Sınıflandırılması

1. Tip 1 Diyabet
a) İmmun aracılı
b) İdiopatik
2. Tip 2 Diyabet
3. Diğer Tipler
a) β Hücre Fonksiyonunun Genetik Defektleri (MODY, Mitokondriyal)
b) İnsülin Etkisindeki Genetik Defektler
c) Ekzokrin Pankreas Hastalıkları
d) Endokrinopatiler
e) İlaç veya Kimyasal Kaynaklı
f) Enfeksiyonlar
g) İmmun aracılı diyabetin yaygın olmayan formları
h) Diğer genetik sendromlar (Down, Turner, diğer)
4. Gestasyonel Diyabet (Gebelikte Diyabet)
MODY: Gençlerin Olgunluk Başlangıçlı Diyabeti

2.4.1. Tip I Diyabetes Mellitus (T1DM)

Diyabetin bu tipinde tam bir insülin eksikliği mevcuttur. Biyokimyasal testler, hiperglisemi ve düşük C-peptid (insülin sekresyon belirteci) düzeylerini ortaya çıkarır. Hastalık en çok çocukluk ve ergenlik döneminde ortaya çıksa da her yaşta görülebilmektedir. T1DM tüm diyabet vakalarının %5-10'unu oluşturmaktadır ve İskandinavya'da prevalansı yüksektir (Karvonen et al., 1993). T1DM ayrıca Tip 1A ve Tip 1B olarak alt sınıfa ayrılmıştır.

2.4.1.1. Otoimmün veya Tip 1A Diyabet

Yapılan genetik çalışmalar, kromozom 6 üzerinde bulunan *HLA* (insan lenfosit antijeni) geninin T1DM ile yakından ilişkili olabileceğini göstermiştir. *HLA* proteinleri, bağışıklık sisteminin vücudun normal hücrelerini yabancı, enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan etkenlerden ayırt etmesine yardımcı olan hücre yüzeylerinde bulunur. T1DM'de *HLA* proteinlerindeki anormallik, β hücrelerine karşı otoimmün reaksiyona yol açar. Başka bir gen olan *DR* T1DM'da önemli rol oynamaktadır (Gorodezky et al., 2006). Bazı virusların da T1DM tetiklemeden sorumlu olabileceğini gösteren kanıtlar mevcuttur (Jun and Yoon, 2003). β hücrelerinin yıkım hızı (insülin yokluğunun derecesini yansıtmaktadır) hastadan hastaya değişmektedir. Antikorlar, önemli β hücre yıkımı gerçekleşmeden önce, otoimmün sürecin başlarında kan dolaşımında ortaya çıkar ve bağışıklık yanıtının belirteçleri olarak kabul edilirler. Adacık hücresi antikorları (ICA), anti glutamik asit dekarboksilaz (anti-GAD), IA-2, IA-2 β ve anti-insülin antikorları en çok çalışılanlardır. Bu antikorlar, yeni teşhis edilen diyabet vakalarını sınıflandırmaya yardımcı olabilir, ancak laboratuvar

standardizasyonunun olmaması günlük klinik uygulamada kullanımlarını sınırlamaktadır.

2.4.1.2. İdiopatik veya Tip 1B Diyabet

Otoimmünite içermeyen idiyopatik diyabet adı verilen başka bir T1DM formu bulunmaktadır. Otoimmun T1DM'den daha az yaygın olan bu form Afrika ve Asya popülasyonlarında bildirilmiştir. Etiyoloji ve patogenezi tam olarak aydınlatılamamış bu formda insülin üretimi yoktur ve β hücrelerine karşı antikorların yokluğunda ketoasidoza eğilimlidir (Harris et al., 1998). Fulminant T1DM, β hücrelerinin son derecede hızlı ve neredeyse tam yıkımın meydana geldiği bir başka alt tipidir.

2.4.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM)

Tip 2 Diyabetes mellitus, insülin direncine veya yetersiz insülin sentezi ve salgılanması ile karakterizedir. Normal olarak insanlarda yaşamın dördüncü on yılından sonra teşhis edilir ve dünya çapındaki tüm diyabetlerin yaklaşık %85-90'ını oluşturur. T2DM'nin yaşla birlikte insidansı ve prevalansı artmaktadır (Masharani, 2005). T2DM, obeziteli ve obezitesiz diyabet olmak üzere iki alt gruba ayrılır. Obez T2DM hastaları, hücre reseptörlerindeki değişiklikler nedeniyle genellikle endojen insüline direnç geliştirir bu da abdomen yağının dağılımıyla ilişkilidir. Obez olmayan T2DM'de insülin üretimi ve salınımındaki eksikliğe ek olarak reseptör sonrası seviyelerde bir miktar insülin direnci vardır. Obezite ve metabolik faktörlerin anormalliği T2DM insidansının merkezinde yer aldığından, gelişmekte olan ülkelerdeki diyet ve yaşam tarzındaki dikkate değer değişiklikler, bu ülkelerde meydana gelen en yüksek diyabet prevalansını desteklemektedir.

2.4.3. Diğer Spesifik Diyabet Türleri

2.4.3.1. Gençlerin Olgunluk Başlangıçlı Diyabeti (MODY)

Olgunlukta başlayan genç diyabet (MODY) tipi, genellikle 25 yaşından önce ortaya çıkan otozomal dominant kalıtımla karakterizedir. İnsülin sekresyonunun düzenlenmesinde yer alan bazı genlerdeki mutasyonlar hipergliseminin nedeni olduğu gösterilmiştir ve insülin direnci çok nadirdir (Fajans et al., 2001). Her biri kendine özgü fenotip ve genetik özelliklere sahip altı ana MODY tipi vardır (Tablo 2.2). MODY tipi, T2DM'den farklıdır çünkü MODY tipi daha genç yaşta olma eğilimindedir (<25 yaş), obez olmaz ve metabolik sendromun bileşenlerinden (hipertansiyon, insülin direnci ve hipertrigliseridemi) yoksundur. MODY'nin nadir

olduğu düşünülmektedir, ancak son veriler T2DM vakalarının %2-5'i MODY tipi olabileceğini ortaya koymuştur (Velho and Froguel, 1997) .

Tablo 2.2. MODY özellikleri (Fajans, Bell et al., 2001)

MODY Tipi	Gen	Klinik Özellikler	Yaygın Tedavi
MODY 1	HNF-4 α	Diyabet, mikrovasküler komplikasyonlar, trigliseritlerde azalma	Oral diyabetik ajanlar, insülin
MODY 2	Glukokinaz	Bozulmuş açlık glukozu, bozulmuş glukoz toleransı, hafif diyabet	Diyet ve egzersiz
MODY 3	HNF-1 α	Diyabet, mikrovasküler komplikasyonlar, renal glikozüri, sülfonilüre ilaçlarına karşı artan duyarlılık	Oral diyabetik ajanlar, insülin
MODY 4	IPF-1	Diyabet	Oral diyabet ilaçları, insülin
MODY 5	HNF-1 β	Diyabet, böbrek kistleri ve diğer böbrek gelişimindeki anormallikler, ilerleyici diyabetik olmayan böbrek işlev bozukluğu, böbrek yetmezliği, iç genital anormallikler (dişi)	İnsülin
MODY 6	NeuroD1 ya da β 2	Diyabet	İnsülin

MODY: Gençlerin Olgunluk Başlangıçlı Diyabeti, **HNF-4 α :** Hepatosit Nükleer Faktör-4 Alfa, **HNF-1 α :** Hepatosit Nükleer Faktör-1 Alfa, **HNF-1 β :** Hepatosit Nükleer Faktör-1 Beta, **NeuroD1:** Nörojenik Farklılaşma 1, **β 2:** Beta 2

2.4.3.2. İnsülinin Etkisini Bozan Genetik Kusurlar

İnsülinin biyolojik işlevini yerine getirmesi için diğer hormonlarda olduğu gibi, hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanması gerekir. Reseptör bağlanması ardından, metabolik ve mitojenik etkilere yol açan karmaşık olaylar dizisi gerçekleşmektedir. Bu kompleks fenomen henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Bununla birlikte, insülinin etkisinin bozulduğu bazı hayvan modelleri mevcuttur, ancak insanlarda çok azı gösterilmiştir (Haneda et al., 1984). Donohue (Leprechaunism) ve Rabson-Mendenhall sendromu; diyabet, hiperinsülinemi ve uterusu değişen büyüme ile ilişkili nadir görülen doğuştan bozukluklardır.

Tip A insülin direnci, şiddetli insülin direnci, akantozis nigrikans, kadınlarda hiperandrojenizmin görüldüğü bir sendromdur. Glukoz intoleransı ve diyabet olmayabilir.

Tip B insülin direnci, insülin reseptörüne karşı antikorların insülin direncine ve hiperinsülinemiye yol açtığı nadir bir sendromu tanımlar (Tritos and Mantzoros, 1998).

2.4.4. Gestasyonel Diyabet (Gebelik)

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM), diyabetin gebelik sırasında ortaya çıkması ve buna bağlı olarak gebelik döneminin sonunda çözülmesini ifade eder.

Gebelik dönemi boyunca, dişiler büyük miktarda glukoz dalgalanması ve sıklıkla açlık yaşarlar. Bu, plasenta tarafından insülin sekresyonunda bir artış ve ilk trimesterin sonunda insülin duyarlılığında bir azalma ile birleştiğinde, geçici bir insülin direnci durumu ile sonuçlanır. Bu diyabet formu gebelik döneminin sonunda düzelse de geri dönüşü olmayan bazı komplikasyonlar gelişebilir. Örneğin gestasyonel diyabet hem anne hem de fötusta ölüm riskini belirgin şekilde artırır ve potansiyel bir teratojendir. Ayrıca, GDM'de diyabetik nefropati gelişimi, intrauterin büyüme geriliği, erken doğum ve ölü doğum gibi fötal gelişimde birtakım anormallikler ile ilişkili olan preeklampsiye yol açabilir (de Souza Rugolo et al., 2011).

2.5. Tanı Kriterleri

Klinik olarak diyabetik durum, kan glukoz düzeyinin sürekli yükselmesi ile karakterizedir. Diyabette, glukoz konsantrasyonları normal üst sınırı aşar. Diyabet teşhisi için tercih edilen yöntem, aşağıda ayrıntıları verilen farklı durumlarda kandaki glukoz seviyelerinin ölçülmesine dayanır:

1. Rastgele plazma glukozu ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)
2. Açlık plazma glukozu ≥ 126 mg/dL (7 mmol/L)
3. Oral glukoz tolerans testi (glukoz oral yoldan verildikten 2 saat sonra plazma glukoz düzeylerinin ölçümü) >200 mg/dL (11.1 mmol/L)

Tip 1 Diyabetes mellitus'un semptomları arasında poliüri, polifaji, artan susuzluk hissi, kilo kaybı, halsizlik ve yorgunluk bulunur. Ek olarak T2DM'li hastalarda bulanık görme, yaraların yavaş iyileşmesi, sinirlilik, ellerde veya ayaklarda karıncalanma, idrar kesesi, vajina ve deride sık enfeksiyon görülebilir.

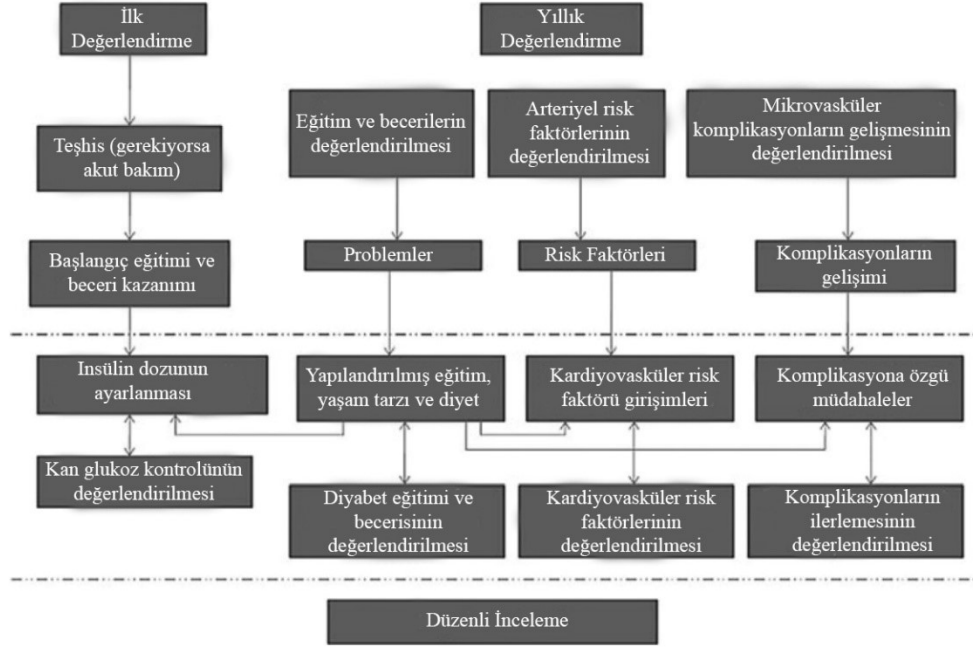
2.6. Diyabetes Mellitus'un Yönetimi

Diyabet yönetiminde temel amaç, hipoglisemiden kaçınırken kan şekeri düzeylerini mümkün olduğunca normale yakın tutmaktır. Bunu başarmak için diyabet tedavisinde yer alan eğitim, egzersiz/aktivite, diyet, oral ilaçlar ve/veya sıklıkla insülin birlikte kullanılan olmak üzere beş araç vardır.

2.6.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus Yönetimi

Tip 1 Diyabetes mellitus tedavisindeki en büyük zorluk, mikrovasküler ve arteriyel komplikasyonların gelişmesini önlemek için büyük dalgalanmalardan kaçınırken normal kan şekeri seviyesini olabildiğince normale yakın tutmaktır. T1DM'li hastalar, enjekte edilebilir, oral veya inhale formlarda uygulanabilen insülin veya nanoteknolojiye dayalı yeni dağıtım sistemleri ile tedavi edilir (Chaillous et al.,

2000; Card and Magnuson, 2011; Zarogoulidis et al., 2011). Yönetim, insülin dozunu ayarlamak için kan şekeri için kendi kendini izleme cihazlarının kullanımını ve diyabetle ilişkili komplikasyonları önlemek için risk faktörlerinin düzenli olarak izlenmesini içerir (Şekil 2.8) (National Collaborating Centre for Chronic, 2004).



Şekil 2.8. Tip 1 Diyabetes Mellitus'un yönetiminin şematik diyagramı (Kaul, Tarr et al., 2013).

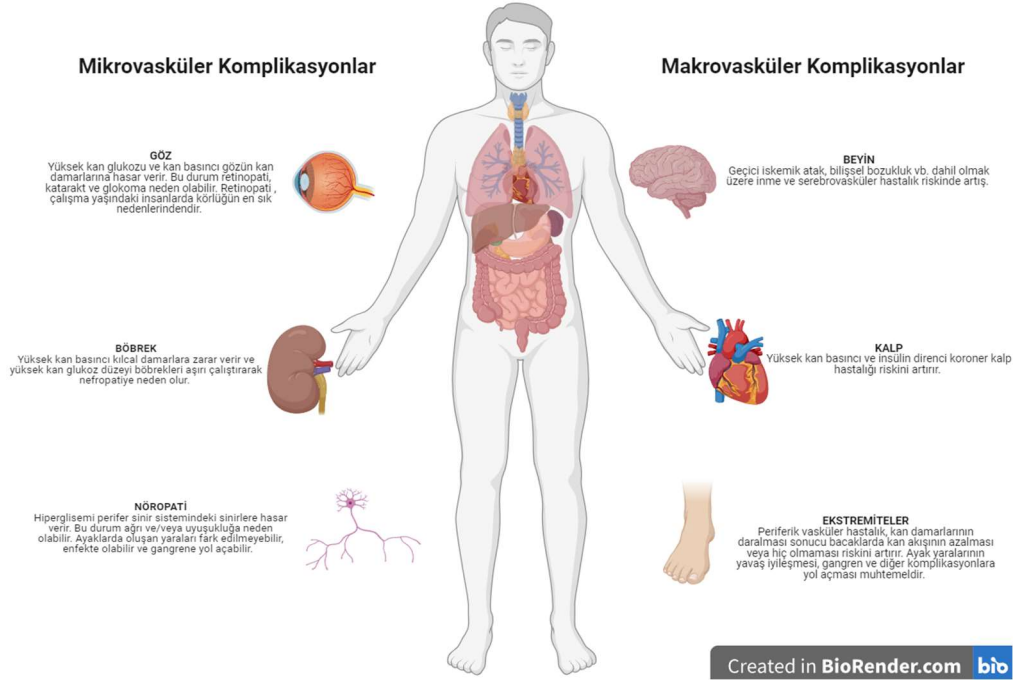
2.6.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus Yönetimi

Yaşam tarzında değişiklik, diyet, kilo kontrolü, kan basıncı ve kan şekeri düzeyinin daha sıkı kontrolü, T2DM'ye karşı ilk savunma hattıdır. Bu eylemlere yanıt vermeyen, yüksek kan şekeri ve glikemik hemoglobin (HbA1c>6.0) göstermeye devam eden hastalarda oral anti-diyabetik ilaçlar kullanılır (National Collaborating Centre for Chronic, 2008).

Anti-diyabetik ajanların dört ana grubu şunlardır: (a) karaciğerde glukoneogenezi azaltan ve metformin içeren biguanidler, (b) pankreası insülin salgılaması için uyaran ve sülfonilüreler gibi ilaçları içeren insülin salgılatıcılar, (c) periferik dokuların insüline duyarlılığını artıran ve tiyalzolidindionları içeren insülin duyarlılaştırıcılar ve (d) insülini eksojen olarak rekombinant insülin formunda sağlayan insülin/insülin analogları. Şiddetli vakalarda, bu ilaçlar kan şekeri kontrolünü optimize etmek için kombinasyon halinde kullanılır (Nyenwe et al., 2011). T2DM hastalarına yönelik bazı güncel tedaviler, genellikle hipoglisemi nedeniyle oluşan kilo alımı dahil olmak üzere istenmeyen yan etkilerle ilişkilidir.

2.7. Diyabetes Mellitusun Komplikasyonları

Diyabet, hastaların morbidite ve mortalitesine neden olan vasküler komplikasyonların gelişme riskinin artmasıyla ilişkilidir. Zayıf glikemik ve kan basıncı kontrolü, büyük (makrovasküler), küçük (mikrovasküler) damarları veya her ikisini birden etkileyen vasküler komplikasyonlara yol açar (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Diyabetin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonları. Diyabet, arterlerde makrovasküler komplikasyonların (koroner ve serebrovasküler hastalıklar) ve kapillarlarda mikrovasküler komplikasyonların (retinopati, nöropati ve nefropati) gelişmesiyle yakından ilişkili kronik bir hastalıktır. Bu vaskülopatiler, ölüm oranını ve hastaların yaşam kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir (Created with BioRender.com).

2.7.1. Makrovasküler Komplikasyonlar

Dolaşım sisteminin büyük damarlarını etkileyen makrovasküler komplikasyonlar; ülserasyon, gangren ve alt ekstremitte amputasyonlarına yol açabilen inme (serebrovasküler), koroner kalp hastalığı (CHD) ve periferik vasküler hastalık insidansının 2 ila 4 kat artmasına neden olabilir (Ceriello, 2010). Bu makrovasküler komplikasyonlar, lökositlerin yaralanma bölgesine göçünü içeren hızlandırılmış ateroskleroz biçimleridir (Casellini and Vinik, 2007).

2.7.2. Mikrovasküler Komplikasyonlar

Mikrovasküler komplikasyonlar, küçük kan damarlarının hasar görmesini içerir ve diyabetik nöropatiye (sinir hasarı), nefropatiye (böbrek hastalığı) ve retinopatiye (göz hastalığı) neden olmaktadır.

2.7.2.1. Diyabetik Nöropati

Periferik, proksimal, fokal ve otonomik olarak sınıflandırılan diyabetik nöropati, diyabetin tüm uzun vadeli komplikasyonları arasında en yaygın olanıdır ve hastaların yaklaşık %60'ında sinir hasarı görülür (Casellini and Vinik, 2007; Edwards et al., 2008). His kaybının yanı sıra ağrı ve güçsüzlük içeren ve uzuv amputasyonlarına yol açabilen ilerleyici bir hastalıktır.

2.7.2.2. Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati, son dönem böbrek hastalığının (ESRD) önde gelen ve dünyada böbrek naklinin en yaygın nedenidir. Artmış glomerüler kan basıncı ile idrarda albüminin varlığı ve ilerleyici yükselişi nefropatinin biyobelirtecidir. Müdahale yapılmadığı takdirde bu durum devam eder ve idrarda protein kaybına ve glomerular filtrasyon hızında azalma şeklinde böbrek fonksiyonlarında azalmaya yol açar. Bu da sonunda ESRD'ye ve tam böbrek yetmezliğine yol açar. Klinik kanıtlar, T1DM'li hastaların yaklaşık %15-20'inde, T2DM'li hastaların ise %30-40'ında ESRD geliştiğini bildirmiştir (Selby et al., 1990).

2.7.2.3. Diyabetik Retinopati

Retinal vaskülatürde hasara neden olan diyabetik retinopati, çalışma çağındaki popülasyonda körlüğün ve görme bozukluğunun yaygın bir nedenidir. Diyabetik retinopati oluşumu, yeterli ve zamanında tedavi ile azaltılabilir ve/veya önlenir.

2.7.2.4. İmmun Sistemin Bozulması

Tip 1 Diyabetes mellitus, Langerhans adacıklarındaki insülin üreten β hücrelerinin tahrip edildiği ve bunun sonucunda insülin üretiminin durduğu otoimmün bir hastalıktır. Otoimmünite, genetik ve çevresel faktörlerden etkilenen karmaşık bir süreçtir. Son veriler T hücrelerinin T1DM'deki önemli rolünü vurguladığından, bağışıklık sistemlerinin B ve T hücreleri otoimmünitede önemli roller oynar (Salomon et al., 2000; Lindley et al., 2005).

2.7.2.5. Periodontal ve Ayak Hastalıkları

Diyabette vücudun bağışıklığı önemli ölçüde azaldığından, viral, bakteriyel, fungal ve protozoal enfeksiyonlar dahil olmak üzere istilacı yabancı patojenlere karşı savunma yeteneği etkilenebilmektedir (Pozzilli and Leslie, 1994; Vazquez and Sobel, 1995; Peleg et al., 2007). Bu enfeksiyonlar arasında en dikkat çekici olanı, ciddiye alınmadığı takdirde dişleri ciddi şekilde etkileyebilen periodontal hastalıklardır (Genco et al., 2005). Dişler, antijenler ve bağışıklık sistemi arasındaki etkileşim oldukça karmaşıktır. Aynı nedenlerle, ayak mantar enfeksiyonları (özellikle ayak

parmakları arasında) diyabetli hastalarda diyabetik olmayanlara göre daha sık görülür. Bu bölgede yeterli temizliğin yapılmaması ve nem, kalıcı enfeksiyonun en yaygın nedenidir. Sürekli enfeksiyonun bir başka nedeni de nöropati nedeniyle derinin hassasiyetinin azalmasıdır. Bu nedenle, enfeksiyonun teşhis edilmesi çok uzun zaman alabilir, bu süre zarfında enfeksiyon derinleşir, tedavi edilmesi daha zor hale gelir ve gangrene dönüşür, sonunda ayağın kesilmesine yol açar (Eckhard et al., 2007).

Diyabet, bu hastalıkla yaşayan insan sayısının 2025 yılına kadar 380 milyona çıkması beklenen büyük bir küresel sağlık sorunu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu popülasyonun yaklaşık %10'u, ilerleyici β hücre kaybı ve insülin eksikliği ile karakterize T1DM'ye sahip olacaktır. Nüfusun geri kalan %90'ı, insülin direnci ve bozulmuş insülin sekresyonu ile karakterize edilen T2DM'ye sahip olacaktır. Mevcut yönetim ve tedavi stratejileri diyabetli hastalara yardımcı olabilse de yeni etkili tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. T2DM terapötikleri için son gelişmeler, insülin sekresyonunu/etkisini, duyarlılığını artıran ve hepatik glukoz üretimini azaltan ilaçlara odaklanmaktadır. T1DM için potansiyel yeni tedaviler arasında tüm pankreas veya pankreas adacık nakli, β hücre rejenerasyonu ve kök hücre tedavisi yer almaktadır. Bu tedavilere kan şekerini düşürmek, erken morbidite ve mortalitenin birincil nedenleri olan uzun vadeli makrovasküler komplikasyonları (kardiyovasküler, serebrovasküler, periferik vasküler hastalık ve alt ekstremitte amputasyonu) ve mikrovasküler komplikasyonları (nöropati, nefropati ve retinopati) önlemek için acilen ihtiyaç vardır.

2.8. Diyabetik Nefropatiye Genel Bakış

Diyabetin en önemli uzun vadeli komplikasyonlarından olan diyabetik böbrek hastalığı (DKD) olarak da bilinen DN, son dönem böbrek hastalığının (ESRD) en yaygın nedenidir. Diyabetin bütün formlarında karşımıza çıkan DKD, normal veya anormal glomerüler filtrasyon hızı (GFR) varlığında klinik olarak tespit edilen albüminüri ile kendini gösteren yapısal ve fonksiyonel böbrek hasarı olarak tanımlanır. Diyabetin karakteristik mikrovasküler komplikasyonu olarak da kabul edilen bu durum, diyabetin süresiyle ilişkili olup çevresel faktörler ve genetik belirleyiciler arasındaki karmaşık etkileşimleri içermektedir.

Diyabetik böbrek hastalığı, T1DM'de hastalığın başlangıcından sonraki ilk 10-15 yıl içinde gelişirken, T2DM'de bazı hastalarda diyabetin geç teşhis edilmesi nedeniyle başlangıcı net olarak bilinmemektedir. Diyabetik nüfusun ortalama yaşam süresinin uzaması, tedavi ve hastalık yönetimindeki iyileşmelerin, DKD insidansı ve prevalansı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu da bilinmektedir (Arslan et al.,

2014). DKD'li hastalar aynı zamanda böbrek nakli talep eden hastaların üçte birini oluşturmaktadır. Tüm bu faktörler, sağlık hizmetleri maliyetleri ve kaynakları üzerinde büyük bir yük oluşturmaktadır. Dünya genelinde, DM için 760,3 milyon dolar harcanmaktadır. 2045 yılında bu miktarın 900 milyon dolardan fazla olacağı tahmin edilmektedir (Saeedi et al., 2019).

2.8.1. Diyabetik Böbrek Hastalığının (DKD) Teşhisi

Diyabetik böbrek hastalığı tanısı genellikle hastanın sağlık geçmişine ve klinik bilgilerine dayanır. Böbrek biyopsisi, diyabetli hastalarda yaygın olarak kullanılmaz. DKD tanısını destekleyen faktörler (özellikle T1DM) arasında uzun diyabet öyküsü, böbrek fonksiyonlarında bozulmadan önce proteinüri öyküsü, diyabetik retinopati varlığı ve ultrasonda nispeten korunmuş veya boyutu artmış böbreklerin varlığı yer almaktadır (Lampropoulou et al., 2014; Park, 2014).

Histopatolojik açıdan DKD, glomerüler mezangiumda hipertrofi ve genişleme, glomerüler bazal membranda kalınlaşma, podosit sayısında azalma, podosit disfonksiyonu, sentez ve degradasyondaki dengesizlikten kaynaklanan ekstraselüler matriks (ECM) proteinlerinin birikimi ile karakterizedir (Al-Malki, 2014; Brosius and Coward, 2014; Xu et al., 2014; Coward and Fornoni, 2015). Tubulo-interstisyum ve intrarenal vaskülatürde de morfolojik değişiklikler görülür. Tubulo-interstisyum değişiklikler fibrozisi içerirken, vasküler değişiklikler arteriyoller kalınlaşma ve hiyalinizasyonu içerir. DKD'de böbrek tutulumunun en erken belirteci proteinüridir. Ancak proteinüri ortaya çıktığında böbreklerin zaten önemli ölçüde hasar görmüş olabileceği ve dolayısıyla ESRD gelişimine karşı önleyici eylemin bu aşamada çok geç olabileceği de unutulmamalıdır (Higgins and Coughlan, 2014; Siwy et al., 2014).

2.8.2. Diyabetik Böbrek Hastalığının Aşamaları

Geleneksel olarak, DKD beş aşamadan oluşur:

1. Aşama: geri dönüşümlü glomerüler hiperfiltrasyon
2. Aşama: normal GFR ve normoalbuminüri
3. Aşama: mikroalbuminüri ve normal GFR (DM tanısından yaklaşık 5-10 yıl sonra)
4. Aşama: proteinüri varlığı; nefrotik düzeye ulaşabilir (genellikle 10-15 yıllık hastalık)
5. Aşama: terminal döneme yol açan kronik böbrek hastalığı (olağan GFR eğimi <10 mL/dak/yıl) (Halimi, 2012).

İşlevsellik açısından da DKD beş farklı aşamadan oluşabilir: (Mogensen et al., 1983; Haneda et al., 2015)

1. Aşama: Hiperfonksiyon ve hipertrofi. Değişiklikler genellikle T1DM’de tanı sırasında bulunur. Fazla miktarda idrar ile albümin atılımı olur ve fiziksel egzersiz sırasında bu durum şiddetlenebilir. Bu aşamada, değişiklikler insülin tedavisi ile kısmen geri döndürülebilir.
2. Aşama: Klinik hastalık belirtileri olmaksızın morfolojik lezyonlar ve artmış GFR. Albümin atılımı bu aşamada normal olabilir. Glisemik kontrolün iyi yapılamaması ve fiziksel egzersiz eksikliği albüminüriyi ortaya çıkarabilir. Bu lezyonlar genellikle uzun yıllar boyunca sessizce gelişir.
3. Aşama: Yeni başlayan DN, gizli olmayan DN'nin öncüsüdür. Anormal derecede yüksek idrar albümin atılımı (radyoimmünoassay ile ölçülür) ile karakterizedir. Bu evrede albüminüride, mikroalbüminüriden (30-300 mg albümin/gün [24 saat]) başlayarak makroalbüminüriye (>300 mg/gün) kadar ilerleyen bir artış vardır. Kan basıncı (BP) yüksek olan hastalarda albümin atılımı daha yüksektir. GFR bu aşamada normalin üzerinde olabilir.
4. Aşama: Gizli olmayan DN. Kalıcı protein idrarı (>0,5 g/gün) ve GFR’de azalma ile karakterizedir.
5. Aşama: DKD’e bağlı üremi ile ESRD.

Histopatolojik bulgulara dayanarak, DKD tablo 2.3 gösterildiği gibi sınıflandırılabilir. Ayrıca, interstisyel ve vasküler lezyonların varlığına dayalı olarak bir skora sistemine ortaya konmuştur (Tablo 2.3). Bu sisteme göre, interstisyel lezyonlar interstisyel fibrozis ve tubuler atrofi (IFTA) olanlar ve interstisyel yangı olanlar olarak ikiye ayrılabilir. IFTA yüzdesine göre 0-3 arası bir skor verilir ve infiltrasyonun yerine göre 0-2 arası bir skor verilir. Vasküler lezyonlar için arteriyoller hiyalinozis, büyük damarların tutulumu ve arteriyosklerozis dikkate alınır. Arteriyollerde hiyalinozisin derecesine bağlı olarak 0-2 arası bir skor verilir. Arteriosklerozis, intimal kalınlaşmanın derecesine bağlı olarak 0-2 arasında bir puan verilir.

2.9. Diyabetik Nefropatinin Patogenezi

Diyabetik böbrek hastalığı (DKD) olarak da bilinen DN, DM'nin önemli bir mikrovasküler komplikasyonudur. DM'li hastalarda albüminüri, hipertansiyon ve azalan böbrek fonksiyonu çoğunlukla beraber görülebilmektedir. Daha önceden yapılan çalışmalar nefropatinin, T1DM'li hastaların %30'u, T2DM'li hastaların %20'sini etkilediğini öne sürmekteydi. Fakat son yapılan çalışmalarda bu oranın T1DM'li hastalarda düşüşte olduğunu göstermektedir (Reutens, 2013).

Diyabetik nefropati, dünya genelinde kronik ve son dönem böbrek hastalığının (ESRD) önde gelen nedenidir. Hiperglisemik kontrol, antihipertansif önlemler, renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin (RAAS) inhibisyonu ve anti-inflamatuar yaklaşımlar gibi modern tedavilere rağmen, çoğu hasta ilerleyici böbrek hasarı göstermeye devam etmektedir. Bu sonuç, DN'nin oluşması ve ilerlemesinde yer alan anahtar patojenik mekanizmaların, en azından kısmen aktif kaldığını ve şu anda mevcut olan tedaviler tarafından engellenememiş olduğunu göstermektedir. DN'nin patogenezinin anlaşılması, DN gelişimini önlemek veya en azından ilerlemesini geciktirmek için daha etkili tedavilerin belirlenmesine yardımcı olmaktadır (Reutens, 2013).

Diyabetik nefropati, bireysel ve zamansal heterojenliği olan bir hastalık olarak kabul edilmektedir. DN'nin patogenezi, bir dizi karmaşık moleküler süreci içeren çok faktörlüdür. DN'nin patolojik değişiklikleri, birbiriyle etkileşime giren histopatolojik ve fonksiyonel değişikliklerden oluşur. DN'nin ilerlemesi klinik aşamalara bölünebilir (Tablo 2.3) (Nelson et al., 1993; Rudberg and Osterby, 1997). Diyabete bağlı böbrek tutulumunu düşündüren ilk klinik işaret, glomerüler filtrasyon oranının (GFR) >120 mL/dk/1,73 m² artması ve ardından mikroalbuminürinin başlamasıdır (albümin atılım hızı [AER] >30 mg/g kreatinin). Bu durum tedavi edilmezse, makroalbuminüri (AER > 300 mg/24 saat veya >300 mg/g kreatinin) ile karakterize olan belirgin nefropatiye ilerler (Nelson, Knowler et al., 1993; Rudberg and Osterby, 1997).

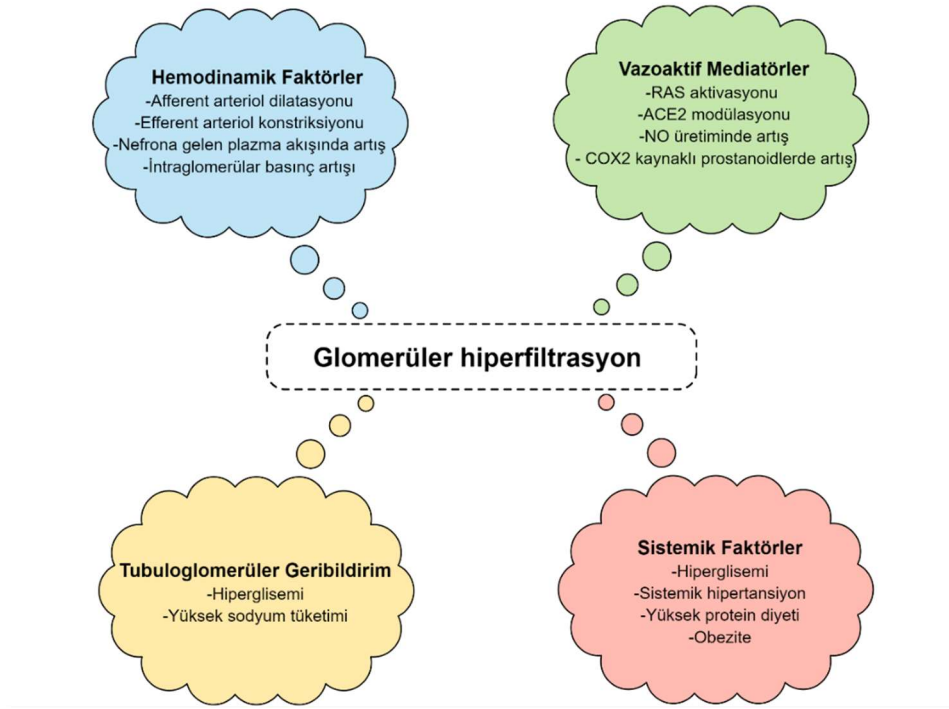
Tablo 2.3. Diyabetik nefropatinin klinik evreleri

Aşama	GFR (mL/min/1.73 m ²)	AER (mg/g kreatinin)	Diyabetin süresi (yıl)
1.Hiperfiltrasyon	>120	<30	0-5
2.Mikroalbuminüri	Normal	30-300	5-15
3.Makroalbuminüri/proteinüri	Normal ya da <90	>300	10-20
4.İlerleyici böbrek hastalığı	Normal ya da <90	>3000	15-25
5.Son dönem böbrek hastalığı	<15	>3000	20-10

AER: albümin atılım oranı, GFR: glomerüler filtrasyon oranı

2.9.1. Hemodinamik Değişiklikler

Diyabetik nefropatinin başlangıcı, T1DM'li genç hastaların büyük çoğunluğunda görülen glomerüler hiperfiltrasyon ile karakterizedir (Amin et al., 2005). Glomerüler hiperfiltrasyona yol açan potansiyel mekanizmalar hemodinamik, vazoaaktif, tubuler, büyümeyi teşvik eden ve metabolik faktörlerin kombinasyonunu içerir (Şekil 2.10) (Premaratne et al., 2015).



Şekil 2.10. Glomerüler hiperfiltrasyon mekanizması. Diyabette glomerüler hiperfiltrasyonu etkileyen faktörler. **ACE2**: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2, **COX**: Siklooksijenaz, **NO**: Nitrik Oksit, **RAS**: Renin Anjiyotensin Sistemi (Premaratne et al., 2005; Kaul, Tarr et al., 2013).

Glomerüler hiperfiltrasyon, diyabet ve hipertansiyonda mikroalbüminüri gelişme riski ile güçlü bir şekilde ilişkilidir ve hiperfiltrasyonu bu koşullarda nefropatinin öncüsü olarak düşünmek mantıklıdır (Magee et al., 2009). T1DM'li yetişkinlerde hızlı bir GFR düşüşü renal hiperfiltrasyon ile ilişkilidir (Bjornstad et al., 2015) ve T2DM'li hastalarda glomerüler hiperfiltrasyon gelecekteki GFR düşüşünü öngörebilir (Moriya et al., 2012).

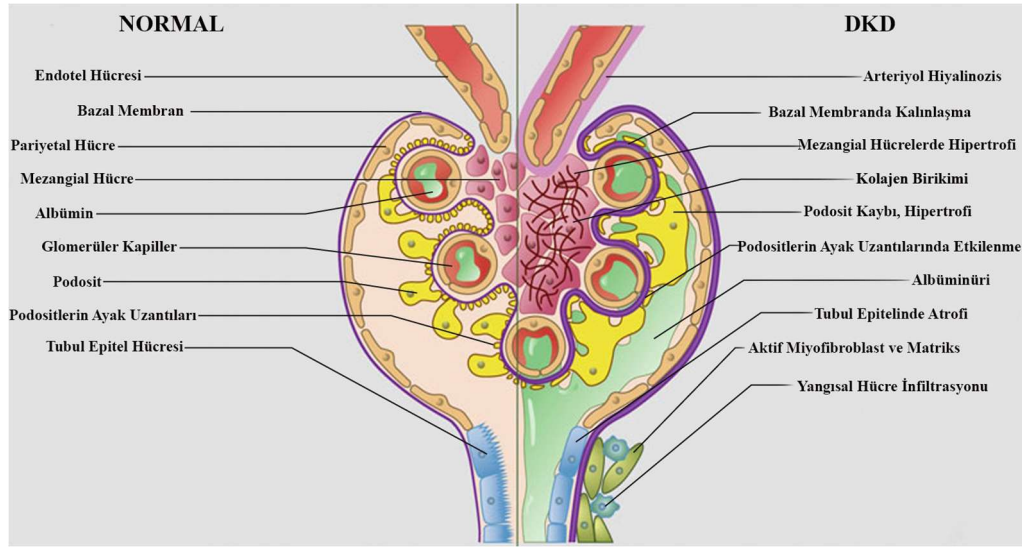
Hiperfiltrasyon teşhisi ile ilgili bir sorun, bu klinik durum için genel olarak evrensel kabul görmüş tanımın mevcut olmamasıdır. Bunun bir nedeni, hiperfiltrasyona karşılık gelen GFR düzeylerinin büyük ölçüde yaşa bağlı olmasıdır. Bu nedenle, T2DM'li hastalarda glomerüler hiperfiltrasyon prevalansına ilişkin tahminler büyük farklılıklar göstermektedir. Yapılan bir çalışmada hiperfiltrasyon prevalansının %7,4 olduğunu göstermiştir, ancak yaşa göre ayarlandığında bu oran

%16,6'ya yükselmiştir (Premaratne, Macisaac et al., 2005). Ayrıca, yakın zamanda yapılan uzun vadeli prospektif araştırmalar, T1DM'li hastalarda glomerüler hiperfiltrasyonun böbrek sonuçları açısından belirleyici olduğu konusunda şüphe uyandırmaktadır (Premaratne, Verma et al., 2015).

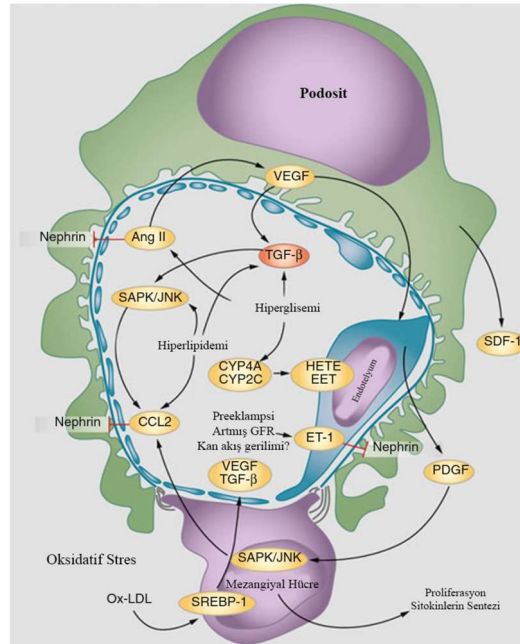
2.9.2. Histopatolojik Değişiklikler

Günümüzde DN'li hastaların çoğu klinik olarak teşhis edilmekte ve hastaların sadece küçük bir kısmına böbrek biyopsisi yapılmaktadır. Diyabetli hastalarda DN'den başka böbrek hastalıklarının da ortaya çıkabileceğini unutmamak önemlidir. Buna göre, diyabetle ilişkili olmayan böbrek hastalığı şüphesi yüksek olan diyabetli hastalarda böbrek biyopsisi yapılmalıdır. Bu hastalarda böbrek biyopsisini teşvik eden atipik klinik özellikler arasında, diyabetik retinopati olmaması, hızla artan proteinüri, hızla azalan GFR veya aktif idrar sedimenti varlığı (örn. önemli mikroskopik hematüri veya piyüri) yer alır (Rutledge et al., 2010).

Diyabetik nefropati, glomerüler bazal membran (GBM) kalınlaşması, mezangiyal genişleme (erken DN'de), Kimmelstiel-Wilson nodülleri (mezangiyal hücrelerin ve mezangiyal matrisin bir araya toplanması), arteriyel hiyalinozis ve tubulointerstisyel değişiklikler (örn. ilerlemiş DN'de fibrozis ve tubuler atrofi) dahil olmak üzere bir dizi histopatolojik değişikliklerle karakterize edilir (Şekil 2.11) (Tervaert et al., 2010; Reidy et al., 2014). DN'deki glomerüler değişiklikler hiperglisemi, hiperlipidemi, ileri glikasyon son ürünleri (AGE'ler) ve insülinle ilişkili yanıtların doğrudan etkileriyle başlatılır (Şekil 2.12) (Rutledge, Ng et al., 2010).



Şekil 2.11. Diyabetik böbrek hastalığının patolojik bulguları. Normal sağlıklı glomerulus, afferent arteriyoller, kapiller damarlar, endotel hücreleri, bazal membran, podositler, pariyetal epitel hücreleri ve tubul epitel hücrelerini içerir ve albümini geçirmez. Bunun aksine, diyabetik glomerulus arteriyel hiyalinozis, mezangiyal genişleme, kolajen birikimi, bazal membran kalınlaşması, podosit kaybı ve hipertrofisi, albüminüri, tubuler epitel atrofisi, aktif miyofibroblast ve matriks birikimi, yangısal hücre infiltrasyonu gösterir (Kaul, Tarr et al., 2013; Reidy, Kang et al., 2014).



Şekil 2.12. Diyabetik nefropatide glomerüler yeniden yapılanmanın temel araçları. Glomerüler kapillerlerin yapısal bütünlüğü podosit kaynaklı vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gradyanına, podositler ve endotel tarafından bir bazal lamina sentezine, kontraktıl mezangiyal hücreler tarafından kapiller üzerine uygulanan gerilme kuvvetine ve nefrinin önemli bir bileşeni olduğu podosit diyafram kompleksinin korunmasına bağlıdır. Hiperglisemi anjiyotensin II sentezini uyarır, dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β aktivasyonunu uyarır ve endotel hücreleri tarafından eikosanoitlerin (örn. HETE ve EET) sentezinde rol oynayan CYP4A ve CYP2C'de değişikliklere neden olur. Hiperlipidemi ve buna bağlı oksidatif stres, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) inaktivasyonu ve ürik asit artışı sinyali veren MAPK'nın stresle ilişkili protein kinaz alt kümesi aracılığıyla etki eder (Furuta et al., 1993; Nakagawa et al., 2011).

Diyabetik glomerülopatinin şiddeti diyabetin süresinden büyük ölçüde etkilenmektedir (Urizar et al., 1969; Fioretto et al., 2008). Mezangiyal matriks genişlemesi ve GBM kalınlaşmasının yanı sıra, podosit kaybı da DN gelişimi için kritik bir faktördür. Glomerüler podosit yoğunluğu ve albüminüri progresyonun en iyi belirleyicisidir (Pagtalunan et al., 1997; Steffes et al., 2001). Podositler kolayca yenilenemediğinden, kalan podositler, GBM'nin kaybolan podositler tarafından 'çıplak' bırakılan kısmını örtmek için boyutlarını ve şekillerini değiştirir (Romagnani and Remuzzi, 2013; Reidy, Kang et al., 2014).

2.9.3. Metabolik Yolaklar

Diyabetik nefropati içinde metabolik olarak yönlendirilen, glukoza bağlı çeşitli yollar aktive olur. Bu yolaklar arasında oksidatif stres, poliol yolu, hekzozamin yolağı akışı ve AGE birikimi yer alır. Hiperglisemi, matriks proteinlerinin enzimatik olmayan glikasyonuna neden olur, bu da daha sonra mezangiyal hücrelerdeki ileri glikasyon son ürünleri reseptörlerine (RAGE) bağlanan ve hücre hasarını indükleyen geri dönüşümsüz AGE'lere dönüşür (Singh et al., 1998). Glukoz sorbitole metabolize olabilir ve mezangiyal hücrelerde birikebilir, bu da nikotinamid adenin dinükleotid fosfat tükenmesine, nitrik oksidin (NO) azalmasına, oksidatif stresin artmasına ve protein kinaz C'nin (PKC) aktivasyonuna yol açar. PKC'nin fosforilasyonu daha sonra dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) yolaklarının yanı sıra reaktif oksijen türleri (ROS) ve anjiyotensin II'yi aktive eder. Bu da mezangiyal genişlemeye neden olur (Sung et al., 2006; Arora and Singh, 2013). ROS biyoyararlanımının artması (oksidatif stres) yangı, fibrozis ve endotelial disfonksiyona yol açar (Kaneto et al., 2007; Thallas-Bonke et al., 2008). DN'nin gelişimi ve ilerlemesinde tanımlanan sinyal yolları Tablo 2.4'de özetlenmiştir (Tavafı, 2013).

Tablo 2.4. Diyabetik nefropati patogenezinin karışık ağı (Tavafi, 2013)

HİPERGLİSEMİ	AgII	-TGF- β -VEGF -NADPH Oksidaz -ROS -IL-1		AGEs	-ROS -PKC -Fibronectin -Laminin -Kolajen 1		DİYABETİK NEFROPATİ
	Aldosteron	-TGF- β -VEGF -ROS		Polyol Yolağı	-ROS -AGEs -PKC		
	Renin	-TGF- β -TNF- α -VEGF		PPARs	-TGF- β -ROS -VEGF		
	PKC	-TGF- β -NADPH Oksidaz -VEGF -ROS -AgII		TNF- α	-TGF- β -CTGF		
	TCF- β	-CTGF -NADPH Oksidaz - Fibronectin -ROS		Adenozin reseptörleri (A2b-AR)	-TGF- β -VEGF		
	NADPH Oksidaz	-TGF- β -IL-8 - Fibronectin -Kolajen 4		Oksidatif Stres	-TGF- β -NF- $\kappa\beta$ -RAS -PKC -Polyol -AGEs -VEGF -TNF- α -IL-18 -IL-16		
	Jack/STAT Yolağı	-TGF- β -NF- $\kappa\beta$ -ICAM					

TGF- β : Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta, **VEGF:** Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü, **NADPH Oksidaz:** Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz, **ROS:** Reaktif Oksijen Türleri, **IL-1:** İnterlökin-1, **TNF- α :** Tümör Nekroz Faktörü Alfa, **CTGF:** Bağ Dokusu Büyüme Faktörü, **IL-8:** İnterlökin-8, **NF- $\kappa\beta$:** Nükleer Faktör Kappa B, **ICAM:** Hücre İçi Adhezyon Molekülü, **PKC:** Proteinaz Kinaz C, **IL-18:** İnterlökin-18, **IL-16:** İnterlökin-16

2.9.4. Potansiyel Bir Etken Olarak Endotel Disfonksiyonu

Endotel disfonksiyonu insan DN'si ve diyabetik retinopati ile ilişkilidir. Endotel disfonksiyonunun derecesi hem T1DM hem de T2DM'de DN'nin ciddiyeti ile ilişkilendirilebilir (Stehouwer et al., 1991; Stehouwer et al., 1992) ve ayrıca T2DM'li hastalarda glomerüler hasar ile pozitif korelasyon göstermektedir (Fioretto et al., 1998). Diyabetik durumda, hiperglisemi ve diğer faktörler endoteldeki NO seviyelerinde azalmaya neden olur ve endotelial disfonksiyon gelişimine sebep olur. Bu faktörler arasında ROS artışı, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) inaktivasyonu ve ürik asit artışı yer almaktadır (Şekil 2.13) (Nakagawa, Tanabe et al., 2011).



Şekil 2.13. Endotel disfonksiyonuna neden olan faktörler. Reaktif oksijen türleri (ROS), eNOS inaktivasyonu ve ürik asit gibi faktörler endotelyumdaki nitrik oksit seviyelerinde azalmaya neden olur bu da endotelial disfonksiyona yol açar. **eNOS**: Endotelial nitrik oksit sentaz (Nakagawa, Tanabe et al., 2011; Kaul, Tarr et al., 2013)

2.9.5. Yangısal Yollar

Diyet, yaş, yaşam tarzı ve obezite gibi birçok faktörün DN gelişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Yangının DN'nin ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı ortaya konulmuştur (Rivero et al., 2009; Navarro-González et al., 2011). İnsan böbrek biyopsilerinden elde edilen bulgular, diyabetli hastaların böbreklerindeki makrofaj birikiminin böbrek fonksiyonlarının azalmasına neden olduğunu göstermiştir ve bu da DN'de bu hücreler için patojenik bir rol olduğunu düşündürmektedir (Furuta, Saito et al., 1993; Nguyen et al., 2006; Yonemoto et al., 2006). Bu bulgular hem T1DM hem de T2DM'de yapılan çeşitli hayvan çalışmalarında desteklenmektedir (Chow et al., 2004; Chow et al., 2004). Tip 1 diyabetik fare modelinde (STZ enjekte edilmiş fareler), diyabetin başlamasından sonraki 2 ila 18 hafta arasında glomerüller ve interstisyel makrofajlarda üç kat artış tespit edilmiştir. Makrofaj birikimi, böbrek hasarının klinik bulguları olan albüminüri ve serum kreatinin seviyelerinde artış ile pozitif korelasyon göstermiştir. Böbreğin histolojik analizi, makrofajlar ile DN'de sıklıkla görülen patolojik değişiklikler (örn. glomerüller hipertrofi, hipersellülarite, tubuler atrofi, interstisyel miyofibroblast birikimi ve kolajen IV birikimi) arasında bir ilişki tespit etmiştir (Chow, Nikolic-Paterson et al., 2004). Tip 2 diyabetik fare modelinde (db/db fareler), diyabetli erkek farelerin %50'sinde 4 ila 8 aylıkken glomerüller makrofajlarda (on kat) ve interstisyel makrofajlarda (üç kat) progresif bir artış gelişmiştir; bu artış,

insanlarda DN'de de mevcut olan hiperglisemi, albüminüri ve fibrozis gelişimi ile ilişkilidir (Chow, Ozols et al., 2004).

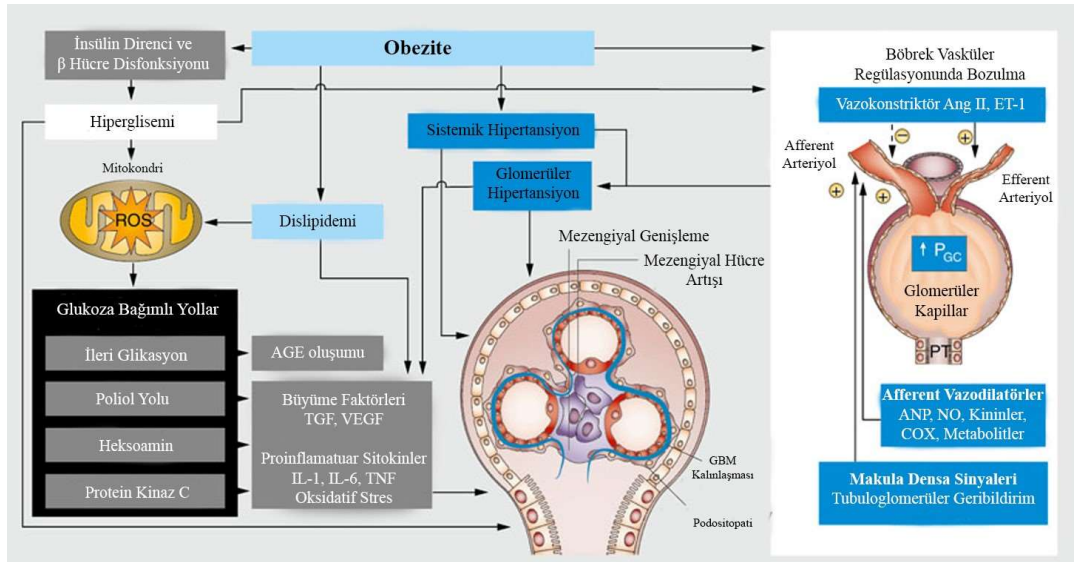
Birçok yangısal molekül, diyabetik nefropatide makrofaj infiltrasyonu ve ardından böbrek hasarında yer alır. Örneğin, lökositlerin vasküler endotele sağlam bağlanmasında yer alan ana moleküllerden biri olan hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1), DN'li hastaların hem glomerüllerinde hem de interstisyumunda aşırı eksprese edilir (Hirata et al., 1998). Hiperglisemi, CD4 hücreleri tarafından interferon- γ (IFN- γ) üretimini uyarabilen interlökin (IL)-12'nin makrofaj üretimini indükleyebilir (Wen et al., 2006). Serbest yağ asitleri, hiperglisemi ve obezite nükleer faktör κ B'yi (NF- κ B) aktive edebilir ve NF- κ B'nin çekirdeğe translokasyonuna izin verebilir, bu da daha sonra DN gelişimini destekleyen endotelin-1, vasküler hücre adezyon molekülü-1, ICAM-1, IL-6 ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ile ilgili olanlar gibi genlerin transkripsiyonunu uyarır (Ha et al., 2002; Chen et al., 2004).

Yangının DN gelişiminde önemli bir rol oynadığına dair kanıtlara dayanarak, birçok anti-enflamatuvar ilaç, farklı etkinlik düzeyleri ile DN için tedavi olarak denenmiştir. Örneğin, pentoksifilin, TNF- α mRNA ekspresyonunu inhibe etmektedir (Han et al., 1990). Bununla birlikte, RAAS inhibe eden ilaçlarla birlikte pentoksifilin ile tedavi edilen hastalarda albüminüri azalmamıştır (Perkins et al., 2009; Badri et al., 2011).

2.9.6. Renin-Anjiyotensin Aldosteron Sisteminin Rolü

Anjiyotensin II ve RAAS'ın diğer bileşenleri DN patogenezisinde ve ilerlemesinde merkezi bir role sahiptir. Yangısal bir durum olduğu için, makrofajlarda ve lenfositlerde anjiyotensin II seviyelerinin yükseldiği bulunmuştur (Rodríguez-Iturbe et al., 2001). Anjiyotensin II, NF- κ B'yi aktive edip yükselterek kemokinlerin üretimine neden olabilir ve daha fazla böbrek hasarına yol açabilir (Ruiz-Ortega et al., 2001). Anjiyotensin II aynı zamanda tubuler, interstisyel ve fibroblast benzeri hücrelerde de lokalize olup, yüksek glikoz ve yangısal mediatörlerle birlikte çalışarak tubuler hücreleri hedef alır ve diyabette böbrek fonksiyonlarının bozulmasına neden olur (Mezzano et al., 2003). Artan anjiyotensin II aktivitesi ayrıca mezangiyal hücrelerin ve tubuler epitel hücrelerinin hipertrofisine neden olabilir (Wolf et al., 1993) ve glomerüler skleroza neden olabilen TGF- β üretimini teşvik edebilir. Anjiyotensin II üretiminin veya aktivitesinin anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri veya anjiyotensin II reseptör blokerleri (ARB'ler) tarafından inhibe edilmesinin diyabetli hastalarda renoprotektif etkileri vardır.

Özetle, DN patogenezi hem genetik hem de çevresel faktörleri içeren çok faktörlü bir süreçtir (Şekil 2.14) (Muskiet et al., 2014). Hiperglisemi, DN'ye yakınlıkla ilişkili aday genleri taşıyan hastaları etkileyerek, metabolik ve hemodinamik değişikliklere neden olur. Hiperglisemi, glomerüler arteriyoller tonusun vazoaaktif düzenleyicilerini değiştirir ve glomerüler hiperfiltrasyona neden olur. AGE'lerin üretimi ve oksidatif stres, TGF- β ve anjiyotensin II gibi çeşitli sitokinlerle etkileşime girerek böbrek hasarına neden olabilmektedir. Ayrıca, oksidatif stres endotelial işlev bozukluğuna ve sistemik hipertansiyona neden olabilir. Yangısal yollar da aktive olup, böbrek hasarına neden olmak için diğer yollarla etkileşime girebilir.



Şekil 2.14. Diyabetli hastalarda böbrek hastalığının patogenezi. Kronik hipergliseminin merkezi rol oynadığı hemodinamik ve metabolik faktörler diyabetik nefropatinin patofizyolojisinde çok önemli role sahiptir. Obezite ve kronik hiperglisemi, afferent ve efferent arteriyoller tonusun vazoaaktif düzenleyicilerini değiştirerek P_{GC} , hiperperfüzyon ve hiperfiltrasyon artışına yol açar. Bu erken renal hemodinamik değişiklikler, sistemik hipertansiyon ile, T2DM'de renal hastalığın gelişimi ve ilerlemesinde önemlidir. Ek olarak, kronik hiperglisemi ve dislipidemi mitokondriyal süperoksit aşırı üretimini indükler ve bu da diyabetik nefropatinin gelişmesine ve ilerlemesine yol açan iyi tanımlanmış birkaç yolu aktive eder. Diyabetik ortamdaki bu faktörler bir araya geldiğinde, histolojik olarak glomerüller ve tubuler bazal membranların kalınlaşması, mezangiyal genişleme ve podositopati ile karakterize edilen glomerüler hasara yol açar. **AGE**: İleri Glikasyon Son Ürünleri, **Ang II**: Anjiyotensin II, **ANP**: Atriyal Natriüretik Peptid, **COX**: Siklooksijenaz, **ET-1**: Endotelin-1, **GBM**: Glomerüler Bazal Membran, **IL**: İnterlökin, **NO**: Nitrik Oksit, **PGC**: Glomerüler Kapiller Hidrostatik Basınç, **PT**: Proksimal Tubul, **ROS**: Reaktif Oksijen Türleri, **T2DM**: Tip 2 Diyabetes Mellitus, **TGF**: Transforme Büyüme Faktörü, **TNF**: Tümör Nekroz Faktörü, **VEGF**: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (Kaul, Tarr et al., 2013; Muskiet, Smits et al., 2014).

2.10. Apoptoz

Apoptozun başlıca belirleyicileri arasında hücre hacminin azalması, kromatin yoğunlaşması ve DNA'nın bölünmesi yer alır. Bu değişikliklerin bir sonucu olarak apoptotik ve piknotik hücreler oluşur. Bu değişikliklere esas olarak sistein proteazlar yani kaspazlar aracılık eder. Kaspazlar, ölüm reseptörü yolu ve mitokondriyal yol olmak üzere iki farklı yolla apoptozu indükler. Mitokondriyal yolda, mitokondriden sitokrom c salınımı, anti- ve pro- apoptotik Bcl-2 (B-hücreli lenfom 2) proteinleri arasındaki denge tarafından kontrol edilir (Adams and Cory, 1998). Apoptoz proteaz aktive edici faktör-1 (APAF-1) ve sitokrom c, kompleks prokaspaz-9 oluşturur. Daha sonra APAF-1 ve prokaspaz-9 '*apoptozom*' adı verilen başka bir kompleks oluşturur. Bu kompleks içerisinde kaspaz-9 aktive olur.

Ölüm reseptörü yolunda, Fas-Fas ligand (FasL) etkileşimi Fas-ilişkili ölüm alanını (FADD) aktive edebilir ve FADD pro-kaspaz 8'i indükleyebilir. Bu iki molekül ölüm indükleyici sinyal kompleksi (DISC) oluşturur (Shi, 2002). Bir sonraki adımda, hem kaspaz -8 hem de -9, kaspaz-3 üretimini indükleyebilir (Edelstein, 2008).

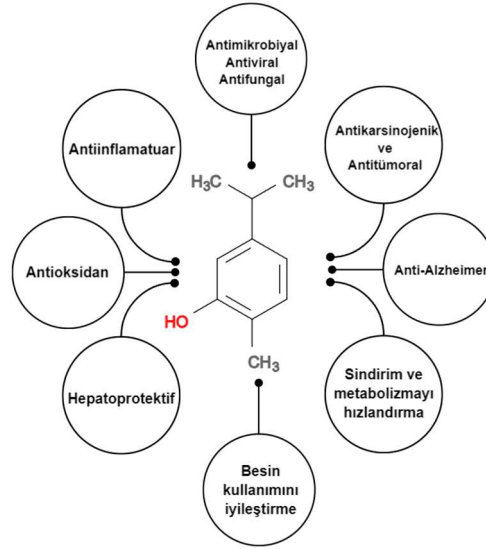
Bcl-2 protein ailesi üç ana alt birimden oluşur. Bu domainler pro- ve anti-apoptotik özelliklere sahiptir. İsimlerinden de anlaşılacağı üzere, ilk alt grup Bcl-2, Bcl-xL, Bcl2A1, Bcl-w ve Mcl-1 gibi anti-apoptotik özelliklere sahiptir. İkinci alt grup pro-apoptik olarak hareket eder ve Bax, Bak ve Bok proteinlerinden oluşur. Son grup Bim (Bcl-2 etkileşimli hücre ölüm aracısı), Bid (Bcl-2 ilişkili hücre ölüm agonisti), Bad (Bcl-2 ile etkileşen ilişkili ölüm promotörü), Bik (Bcl-2 etkileşimli öldürücü), Hrk (Harakiri), Puma (p53 ile düzenlenen apoptoz modülatörü), Bmf (Bcl-2 modifiye edici faktör) ve Noxa'yı (Latince hasar anlamına gelir) içerir (Cory and Adams, 2002).

Apoptoz, çok hücreli organizmaların gelişimi ve normal homeostazı için gerekli olan doğal hücre ölümü sürecidir (Schwartzman and Cidlowski, 1993). Hiperglisemi durumu, proksimal tubul epitel hücreleri de dahil olmak üzere DN'deki çeşitli hücre türlerinde, mekanizması tam olarak anlaşılmamış apoptozu teşvik eder (Allen et al., 2003). Daha önce, apoptozun fosfoinositid 3-kinaz (PI3K)/Akt sinyal yolağı da dahil olmak üzere bir dizi hücre içi sinyal yolağının aktivasyonundan kaynaklandığı açıklanmıştır (Simone et al., 2008). Bununla birlikte, hiperglisemik durumun apoptozu indüklediği ve DN'de böbrek fonksiyonunun kademeli olarak kaybına katkıda bulunduğu bilinmektedir (Adegate, 2004). DN'li hastaların böbrek biyopsilerinde tubuler epitel hücrelerinde, endotelial ve interstisyel hücrelerde apoptoz bulunmuştur (Dröge, 2002).

2.11. Karvakrol

Gelişmekte olan ülkelerde bitkilerin kullanımı, diyabetik komplikasyonların önlenmesinde ve tedavisinde etkili, ekonomik ve güvenlidir. Sentetik ajanların bitkisel ilaçlarla kıyaslandığında insan sağlığı üzerine çok sayıda olumsuz etkiye sahip olması, diyabet komplikasyonlarının kontrolü için bitkisel beslenme ve bileşiklere ilgiyi arttırmıştır (Ali Asgar, 2013; Agte and Gite, 2019). Diyabetik nefropatide serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresi azaltmak için önerilen tedavilerden biri de bitkisel antioksidan kullanımıdır (Samarghandian et al., 2016).

Fenolik bir monoterpen olan karvakrol (CAR, 2-metil-5-izopropilfenol), *Origanum vulgare* (mercanköşk) ve *Thymus vulgaris* (bahçe kekiği) cinslerini içeren *Lamiacea* familyasına ait çok sayıda aromatik bitki tarafından üretilen uçucu yağların ana bileşiğidir (Can Baser, 2008; Arigesavan and Sudhandiran, 2015; Sharifi-Rad, Varoni et al., 2018). Genel olarak güvenli bir gıda katkı maddesi olarak kabul edilen CAR, tatlılarda, içeceklerde ve sakızlarda aroma maddesi olarak kullanılmaktadır (Lagouri et al., 1993). Son zamanlarda yapılan çalışmalar CAR'ın antioksidan (Arigesavan and Sudhandiran, 2015; Ozturk et al., 2018; Chenet et al., 2019; Hakimi et al., 2020), antidiyabetik (Bayramoglu et al., 2014; Ezhumalai et al., 2014), antibakteriyel (Mbese and Aderibigbe, 2018), antifungal, antikanser (Mbese and Aderibigbe, 2018), antiapoptotik (Shoorei, Khaki et al., 2019; Zeytun and Özkorkmaz, 2021), anti-inflamatuvar (Arigesavan and Sudhandiran, 2015; Barnwal, Vafa et al., 2018; Ozturk, Cetinkaya et al., 2018; Chenet, Duarte et al., 2019; Ezz-Eldin et al., 2020; Hakimi, Salmani et al., 2020; Lee et al., 2020; Zeytun and Özkorkmaz, 2021) ve hepatoprotektif etki dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahip olduğunu ortaya koymuştur. İn vivo ve in vitro çalışmalarda antioksidan özelliği ortaya koyulmuş CAR'ın bu yeteneği aromatik halkaya kovalent olarak bağlı hidroksil grubunun (OH·) varlığı sayesinde (Guimarães, Oliveira et al., 2010; Aristatile, Al-Numair et al., 2015) (Şekil 2.15).



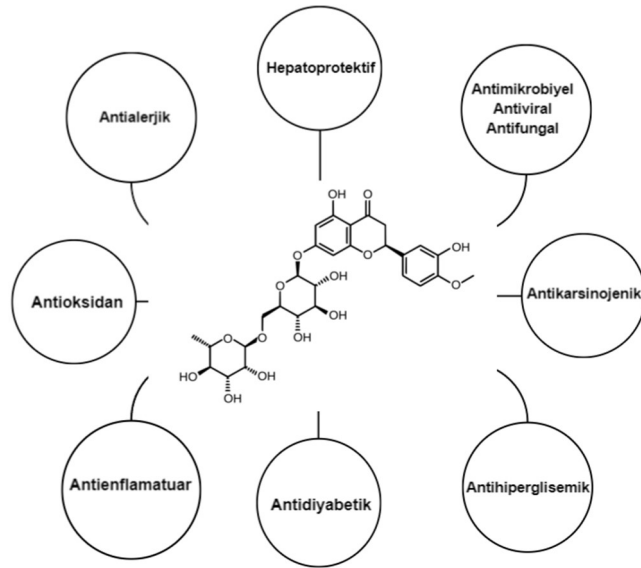
Şekil 2.15. Karvakrolün kimyasal yapısı ve sahip olduğu biyolojik aktiviteleri

2.12. Hesperidin

Tıbbi bitkiler doğru dozaj rejiminde uygulandığında sentetik ilaçlara göre daha az toksik olduğu ve yan etkilerinin bulunmadığı düşünülmektedir. WHO, diyabet için tıbbi tedavinin yetersiz kaldığı ülkelerde, alternatif ve tamamlayıcı tedavileri tavsiye etmektedir (Santhakumari et al., 2003). Bitkilerde bulunan çeşitli biyoflavonoidlerin hiperglisemi ve/veya diyabetin komplikasyonlarını azalttığı bildirilmiştir (Choi et al., 1991; Shisheva and Shechter, 1992; Ong and Khoo, 1996; Hsu et al., 2003).

Hesperidin (HP, 3,5,7-trihidroksi flavanon-7-rhamnoglukozit, $C_{28}H_{34}O_{15}$), limon ve tatlı portakalda bol miktarda bulunan flavanon glikozitidir (Garg et al., 2001). Toksikolojik çalışmalar hesperidin'in herhangi bir yan etkisi olmadığını ortaya koymuştur (Kurata, Fukushima et al., 1990). HP'nin antioksidatif, antiinflamatuar, antidiyabetik, antihiperglisemik, antihipertansif, antihiperlipidemik, antikarsinojenik, antialerjik, antimikrobiyal, antifungal, antiviral, hepatoprotektif ve vazodilatör etkilere sahip narenciye flavonoidi olduğu çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur (Garg, Garg et al., 2001; Chiba, Uehara et al., 2003; Erlund, 2004; Jung et al., 2004; Tirkey, Pilkhwal et al., 2005; Akiyama, Katsumata et al., 2009; Ahmed et al., 2012; Shi et al., 2012; Parhiz et al., 2015; Alu'Datt et al., 2017; Jayaraman, Subramani et al., 2018; Mas-Capdevila et al., 2020) (Şekil 2.16). HP nefropati, nöropati, kardiyomiyopati ve beyin hasarı gibi diyabet kaynaklı komplikasyonların önlenmesinde hayati rol oynadığı bilinmektedir (İbrahim, 2008; Kakadiya et al., 2010; Visnagri et al., 2014; Zhang et al., 2018). HP hem T1DM hem de T2DM modellerinde kan glukoz ve

kolesterol seviyelerini azalttığı ve insülin seviyesini arttırdığı ortaya konulmuştur (Erlund, 2004; Akiyama, Katsumata et al., 2009; Akiyama, Katsumata et al., 2009; Kakadiya et al., 2010; Mahmoud et al., 2012; Agrawal et al., 2014; Iskender, Dokumacioglu et al., 2017). Ayrıca diyabetik hayvanların karaciğer ve böbreklerinde NF- κ B ve oksidatif stresi inhibe etmiştir (Iskender, Dokumacioglu et al., 2017). Pro-enflamatuvar sitokinlerin ve oksidatif stres belirteçlerinin serum seviyelerini azalttığı bir başka çalışmada görülmüştür (Dokumacioglu, Iskender et al., 2018). HP, retinal ganglion hücrelerinde yüksek glukoz kaynaklı oksidatif strese ve apoptoza karşı koruma sağladığı dikkati çekmiştir (Liu, Liou et al., 2017). Diyabetik sıçanlarda kardiyak iskemi ve reperfüzyon (I/R) hasarında Bcl-2 protein ekspresyonunu artırarak ve Bax protein ekspresyonunu azaltarak antiapoptotik etkiler göstermiştir (Agrawal, Sharma et al., 2014). Ayrıca HP kolon, pankreas ve meme kanseri hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli kanser hücrelerinde apoptozu indüklediği bildirilmiştir (Natarajan et al., 2011; Saiprasad et al., 2014). Buna karşılık HP, nöroblastoma ve insan keratinosit hücre hatlarında anti-apoptotik özelliklere sahiptir (Tamilselvam et al., 2013; Hewage et al., 2016).



Şekil 2.16. Hesperidin kimyasal yapısı ve sahip olduğu biyolojik aktiviteleri

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Temini

Çalışma yapılabilmesi için gerekli etik kurul izni Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (OMÜ HADYЕК)’ten 05/03/2020 tarih, 2020/13 kabul nolu ve 68489742-604.01.03-E.5651 sayılı karar ile alındı. Çalışmada OMÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi’nden (DEHAM) temin edilen 160-200 gram ağırlığında, 6-8 haftalık, 60 adet yetişkin erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar, çalışma süresi boyunca $22\pm2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, nispi nem oranı $\%50\pm5$ olan 12 saat karanlık 12 saat yapay ışıkla aydınlatılmış odada bekletildi. Herhangi bir kısıtlama olmaksızın (*ad libitum*) günlük taze içme suyu ve standart sıçan pelet yemi verildi. Çalışmaya başlamadan önce sıçanların iki hafta süreyle yeni ortamlarına adaptasyonları sağlandı. Bu süre zarfında hayvanlara herhangi bir deneysel müdahale yapılmadı. Her grupta 10 tane sıçan olmak üzere toplam altı grup oluşturuldu.

3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması

Diyabetes mellitus, pH 4.5 olan 0.1 M sitrat tamponunda çözölmüş 50 mg/kg dozunda taze hazırlanmış STZ'nin (Sigma-Aldrich, Katolog No: S0130-1 G) tek doz intraperitoneal (IP) enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra, gece boyu aç bırakılmış olan sıçanların kuyruk veninden kan alınmış ve kan glukoz düzeyi *On Call Plus* şeker ölçüm cihazı ile ölçölmüştür. Kan glukoz düzeyi 250 mg/dl'den yüksek olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edilmiştir. Diyabet oluşmayan sıçanlara aynı dozda tekrar STZ enjekte edilmiştir. STZ enjeksiyonu takiben gerçekleşen hipogliseminin önüne geçmek için doymuş şekerli su bir gün süreyle sıçanlara verilmiştir.

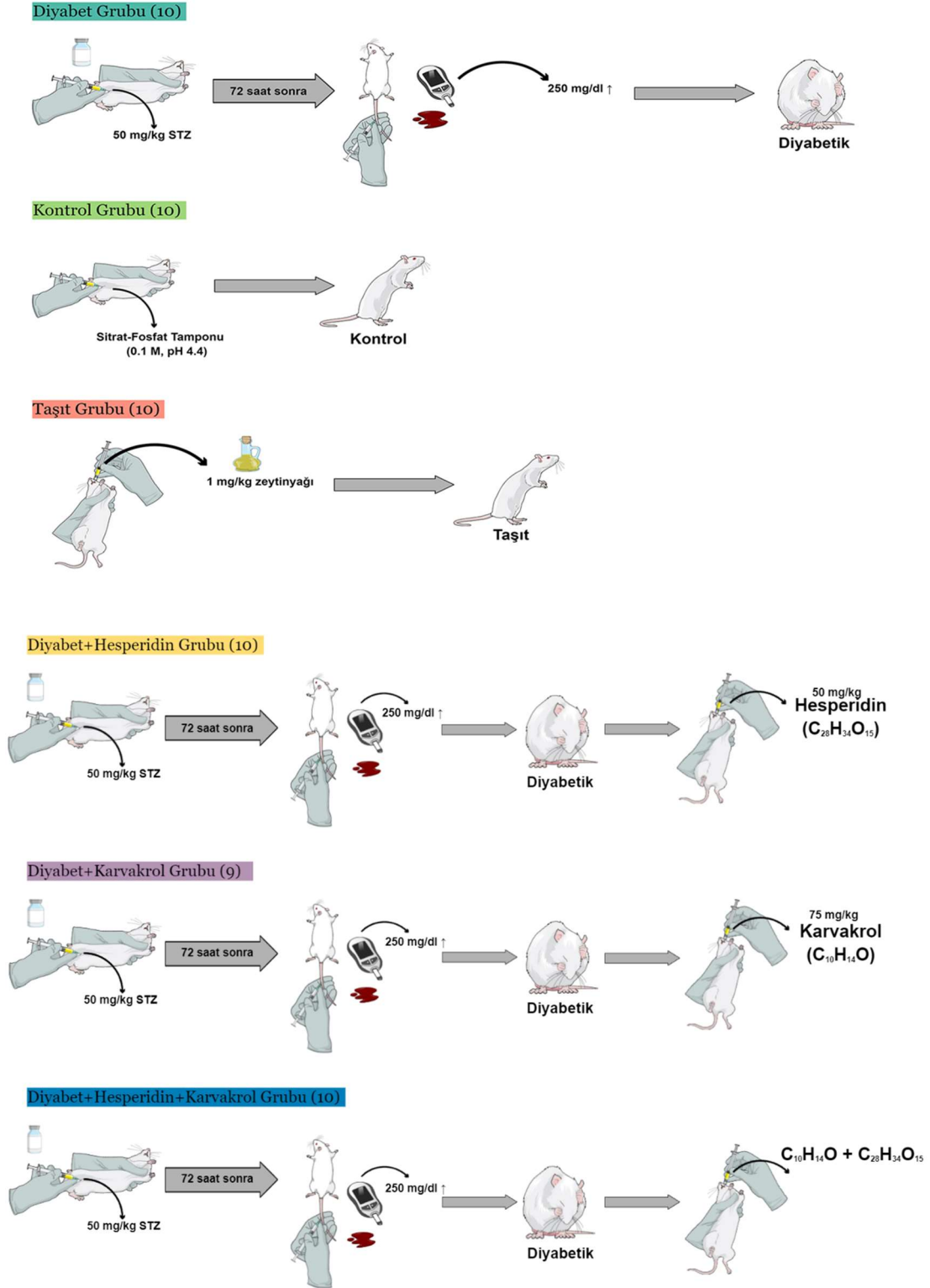
3.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Karvakrol (Sigma-Aldrich, Katolog No: W224511, Natural %99) ve hesperidin (Sigma-Aldrich, Katolog No: H5254-100 G) ticari olarak temin edildi. Karvakrol'ün çözücüsü olarak zeytinyağı kullanılırken, hesperidin suda çözdüröldü. Hesperidin ve karvakrol hayvan başına en fazla 1 mL olacak şekilde orogastrik gavajla verildi. Çalışma süresi boyunca yapılan işlemler Tablo 3.1 ve Şekil 3.1'de özetlenmiştir. Ağızdan gavaj uygulaması için ucu eğri ve küt, paslanmaz çelikten yapılmış 6 cm uzunluğunda gavaj kanülü kullanıldı (Şekil 3.2). Her kullanım öncesi ve sonrası gavaj kanülü %70'lik alkolle dezenfekte edilip uygun koşullarda saklandı.

Tablo 3.1. Çalışmadaki grupların sınıflandırılması ve yapılan uygulamalar

Grup	Sıçan (n)	Grup	Yapılan Uygulamalar
1	10	Kontrol (K) grubu	Kontrol grubuna deneyin ilk günü IP enjeksiyonla fosfat-sitrat tamponu (pH:4.4, 0.1 M) verildi. Her gün tartılmaları dışında çalışma süresince hiçbir uygulama yapılmadı.
2	10	Diyabet (D) grubu	Diyabet grubuna 50 mg/kg dozunda STZ taze olarak hazırlanmış fosfat-sitrat tamponunda (pH:4.4, 0.1 M) çözülerek IP enjeksiyonla tek doz olarak verildi. Her gün tartılmaları dışında çalışma süresince hiçbir uygulama yapılmadı.
3	10	Taşıt (T) grubu	Taşıt grubuna CAR'ın çözücüsü olan zeytinyağı 6 hafta boyunca 1 ml/kg bw dozda ağızdan gavaj ile verildi. HP suda çözülerek verildiğinden taşıt grubu bulunmamaktadır.
4	9	Diyabet + Karvakrol (CAR) grubu	STZ enjeksiyonunu takiben 72 saat sonra, açlık kan şekerinin ölçülmesi için sıçanların kuyruk veninden alınan kan örneği (0.1-2 ml) ile glukoz ölçümleri yapıp 250 mg/dl veya üstü çıkan sıçanlar diyabetik kabul edildi. Diyabet oluşumunu takiben sıçanlar tek tek tutulup, tartılıp 6 hafta boyunca 75 mg/kg dozda CAR ağızdan gavajla verildi.
5	10	Diyabet + Hesperidin (HP) grubu	STZ enjeksiyonunu takiben 72 saat sonra, açlık kan şekerinin ölçülmesi için sıçanların kuyruk veninden alınan kan örneği ile glukoz ölçümleri yapıp 250 mg/dl veya üstü sıçanlar diyabetik kabul edildi. Diyabet oluşumunu takiben sıçanlar tek tek tutulup tartılıp 6 hafta boyunca 50 mg/kg dozda HP ağızdan gavajla verildi.
6	10	Diyabet + Hesperidin (HP) grubu + Karvakrol (CAR)	STZ enjeksiyonunu takiben 72 saat sonra, açlık kan şekerinin ölçülmesi için sıçanların kuyruk veninden alınan kan örneği ile glukoz ölçümleri yapıp 250 mg/dl veya üstü sıçanlar diyabetik kabul edildi. Diyabet oluşumunu takiben sıçanlar tek tek tutulup 6 hafta boyunca 75 mg/kg CAR ve 50 mg/kg dozda HP ağızdan gavajla verildi.

CAR: Karvakrol, HP: Hesperidin, STZ: Streptozotosin, IP: Intraperitoneal, n: sayı



Şekil 3.1. Çalışmadaki grupların sınıflandırılması ve yapılan uygulamalar



Şekil 3.2. Oral gavaj uygulaması

Çalışma süresi boyunca gruptaki her hayvan, her gün tartıldı (Şekil 3.3) ve ağırlıklarına uygun olarak HP ve CAR'ın doz hesapları yeniden yapıldı. CAR grubundan bir adet sıçan kan ölçüm işlemi sırasında öldü. Çalışmanın 42.gününde (6 hafta) her grup 10'lu düzenekten oluşan metabolik kafeslere (Şekil 3.4) alındı. Bir sonraki gün ksilazin-ketamin anestezisi altında olan sıçanlardan serum örnekleri elde etmek için kardiyak yolla vakumlu jelli sarı kapaklı tüplere kan alındı ve sıçanlar dekapitasyon yöntemi ile ötenazi edildi. Sıçanların sağ ve sol böbrekleri %10'luk tamponlu formalin solüsyonuna alındı. Glikojen boyanması (Best's Carmine) yapılacak olan böbreklerden parça alınarak Carnoy solüsyonunda fikse edildi. Sıçanlardan alınan kanlar, tüplerde 20 dakika bekletildikten sonra 10 dakika 3500 rpm'de santrifüjlendi. Süpernatant ependorflara alındı ve analiz yapılınca kadar -80°C saklandı.



Şekil 3.3. Sıçanların tartım işlemleri



Şekil 3.4. Metabolik Kafes Düzeni

3.4. Alınan Dokuların Histopatolojik İncelemeler İçin Hazırlanması

Nekropsi sırasında %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonuna alınan böbrek dokuları 48 saat tespit edildi. Böbrek dokuları uygun boyutlarda küçültüldükten sonra doku takip kasetlerine alındı. Formaldehitin etkisinin giderilmesi amacıyla doku takip kasetleri akan çeşme suyu altında 8 saat yıkandı. Kasetler, doku takip cihazındaki (Leica®, TP1020) alkol (%50, %70, %80, %96, absolüt) ve ksilen serilerinden geçirildi ve doku gömme ünitesi (Leica®, EG1150) ile parafin bloklar yapıldı. Mikrotom cihazı (Leica®, RM2125 RTS) ile parafine gömülü dokulardan 5 mikron (μm) kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen kesitler histopatolojik inceleme için kullanıldı. Kesitler periyodik asit-Schiff (PAS), Masson'un trikromu, pikrik asit-Sirius red ve Best's Carmine yöntemleri ile boyandı (Tablo 3.2) (Luna, 1968). Boyanan kesitler kamera ekli ışık mikroskobu (Nikon, Eclipse E600) kullanılarak değerlendirildi ve Nikon digital-sight görüntüleme sistemi (Nikon DS Camera Head DS-5M) ile fotoğraflar çekildi.

Tablo 3.2. Histopatolojik incelemelerde kullanılan boyama yöntemleri

Boyama Yöntemi	Yapılış Amacı
Periyodik asit-Schiff (PAS)	Tubulus bazal membranın, Bowman kapsülünün pariyetal ve visseral yaprağının kalınlığı ile glomeruluslarda mezengiyal matriks artışını değerlendirmek için kullanıldı.
Masson'un trikromu	Bağ doku artışının değerlendirilmesinde kullanıldı.
Pikrik asit-Sirius kırmızı	Bağ doku artışının değerlendirilmesinde kullanıldı.
Best's Carmine	Glomeruluslarda ve tubuluslarda biriken glikojen birikiminin değerlendirilmesinde kullanıldı.

3.5. İmmunohistokimyasal (IHC) Boyama Tekniği

İmmunohistokimyasal boyamalar için parafine gömülen doku örnekleri mikrotomda (Leica, RM2125RT) 5 μm kalınlığında kesilerek 3-aminopropiltriethoksilane (APES, Sigma-Aldrich) ile kaplanmış adeziv lamlara alındı. Streptavidin-biotin peroksidaz kompleks (SABPK) tekniği ile, kiti üreten firmanın (Thermo Scientific-Ultravision Large Volume Detection System, USA) yönergesi doğrultusunda standart prosedür uygulandı. Maskelenmiş antijenik epitopların açığa çıkarılması için kesitler sitrat buffer (pH:6) içerisinde mikrodalga fırında 600 watt'da 20 dakika kaynatıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini bloklamak için metanolde hazırlanmış %0,5'lik H_2O_2 'de 10 dakika bekletildi. Kesitlere protein bloklama işlemi

yapıldıktan sonra primer antikorlar (Tablo 3.3) damlatılarak bir saat oda ısısında ya da bir gece +4 °C’de inkübe edildi. Kromojen olarak 3-amino-9-etilkarbazol (Abcam AEC Substrate System-Ready to Use-ab64252) mikroskop altında kontrollü olarak uygulandı ve kesitlerin çekirdek boyaması Mayer’s hematoksilin ile yapıldı. Daha sonra CC/Mount Aqueous Mounting Medium (Sigma-Aldrich, C9368) kullanarak lamel ile kapatıldı ve Nikon Eclipse E600 ışık mikroskopunda incelendi.

Tablo 3.3. İmmunohistokimyasal boyamalarda kullanılan antikorlar, üretici firma ve katalog numarası, özellikleri, antijeni açığa çıkarma yöntemi ve sulandırma oranı

Antikorum İsmi	Üretici Firma ve Katalog numarası	Özellikleri	Antijen açığa çıkarma yöntemi	Dilüsyon IHC
Bcl-2	Novus, NB100-56098	Rabbit poliklonal	Sitrat tamponlu (pH:6) solüsyonda mikrodalgada 600 W 20 dk süre ısıtarak	1:100
Bax	Novus, NB100-56095	Rabbit poliklonal	Sitrat tamponlu (pH:6) solüsyonda mikrodalgada 600 W 20 dk süre ısıtarak	1:100
Caspase 3 (active/cleaved)	Novus, NB100-56113	Rabbit poliklonal	Sitrat tamponlu (pH:6) solüsyonda mikrodalgada 600 W 20 dk süre ısıtarak	1:150
Caspase 9	Novus, NB100-56118	Rabbit poliklonal	Sitrat tamponlu (pH:6) solüsyonda mikrodalgada 600 W 20 dk süre ısıtarak	1:150

3.6. TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labelling) Tekniği

Apoptotik hücre ölümü, TUNEL Apoptoz Test Kiti (HRP-DAB) (Elabscience, Katolog No: E-CK-A331) kullanılarak tespit edildi. 5 µm kalınlığındaki parafin kesitler deparafinize edildi ve 3 kere beş dakika PBS ile yıkandı. Kesitler, 37°C’de 20 dakika, 1x Proteinaz K solüsyonunda bekletildikten sonra 3 kere beş dakika PBS ile yıkandı. Bloklama solüsyonu olan %3 H₂O₂ ile oda ısısında 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Kesitler 3 kere beş dakika PBS ile yıkandı. Kesitler TdT (terminal deoksinnükleotidil transferaz) enzim ve işaretleme solüsyonu karışımında 37°C’de 1 saat bekletildi. 3 kere beş dakika PBS ile yıkandı. Daha sonra Streptavidin-HRP çalışma solüsyonunda 37°C’de 1 saat bekletildi. Kesitler 3 kere beş dakika PBS ile yıkandıktan sonra DAB ile kontrollü olarak mikroskop altında incelendi. Karşıt boyama Mayer’s hematoksilin ile yapıldı ve seri alkollerden geçirilerek dehidre edilen kesitler ksilolde 10 dakika bekletildikten sonra üzerine entellan (Merck 107961) damlatılarak lamel ile kapatıldı.

3.7. Periyodik Asit-Schiff (PAS) Boyamaların Değerlendirilmesi

Glomerular sklerotik indeks (GSI), El Nahas ve arkadaşları tarafından önerilen semikantitatif skorlama sistemine (skor 0-4) göre değerlendirildi (El Nahas et al., 1987). 400x büyütme kullanılarak, her bir hayvanın 50 adet glomerulus boyutu (μm), Bowman boşluğu genişliği (μm), Bowman kapsülünün visseral ve pariyetal yaprağının kalınlığı (μm), proksimal tubulusların bazal membranlarının kalınlığı (μm) Image J programı ile ölçüldü. Tubuler ve interstisyel hasar skorları aynı PAS boyalı kesitlerde 200x büyütmede ayrı ayrı değerlendirildi (Piecha et al., 2008) (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Böbrek korteks ve medullasına ait histopatolojik bulguların skorlama kriterleri (Piecha, Kokeny et al., 2008)

GSI	0= normal glomerüller 1= GBM kalınlaşması 1.5= Glomerüler kalınlaşma artı segmental hipersellülarite 2= hafif segmental hiyalinozis (<%25); 2.5= şiddetli segmental hiyalinozis (>%50) 3= diffuz glomerüler hiyalinozis ('blob' hiyalin materyal birikimi) 4= tam tuft obliterasyonu ve kollapsı ile diffuz glomerüler skleroz	
Tubuler Hasar (200x)	Tubuler Dilatasyon	0= yok 1= dilate tubul
	Tubuler Atrofi	0= yok 1= atrofinin belirtileri 2= apoptosis ve hücrelerin dökülmesi
	İntraselüler Vakuoller	0= yok 1= hafif (<Görüş alanı başına 10 hücre) 2= şiddetli
	Hiyalin Birikimi	0= yok 1= hiyalin birikimi
İntersitisyel Hasar (200x)	İntersitisyel Fibrozis	0= yok 1= hafif 2= şiddetli
	Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu	0= yok 1= hafif 2= şiddetli

GSI: Glomerular Sklerotik İndeks, **GBM:** Glomerular Bazal Membran

3.8. Masson'un Trikrom Boyamaların Değerlendirilmesi

Her kesit için rastgele seçilen 200x büyütmede 20 alan fotoğraflandı ve mavi kolajen alanının yüzdesini ölçmek için Bs200Pro Görüntü Analiz sistemi (BAB Software, Ankara) kullanılarak analiz edildi.

3.9. Pikrik Asit-Sirius Kırmızısı Boyamalarının Değerlendirilmesi

Her kesit için rastgele seçilen 200x büyütmede 20 alan fotoğraflandı ve kırmızı renge boyanan kolajen alanının yüzdesini ölçmek için Bs200Pro Görüntü Analiz sistemi (BAB Software, Ankara) kullanılarak analiz edildi.

3.10. İmmunohistokimyasal Boyamaların Değerlendirilmesi

Böbreğin korteks ve medullasına ait bölgelerinde Bcl-2, Bax, Kaspaz-3 ve Kaspaz-9 immunopozitifliğini belirlemek için yapılan immun boyamalar ayrı ayrı değerlendirildi. Korteks ve medulla bölgesinden 200x büyütmede 10'ar adet fotoğraf çekildi. Çekilen fotoğrafların incelenmesinde Bs200Pro Görüntü Analiz sistemi (BAB Software, Ankara) kullanıldı. Pozitif yüzdelere hesaplanarak bu yüzdelere üzerinden değerlendirmeler yapıldı.

3.11. TUNEL Boyamalarının Değerlendirilmesi

TUNEL metoduyla boyanan lamlarda apoptotik aktiviteyi belirlemek için hücrelerin boyanma yoğunluğu dikkate alınmaksızın kırmızı-kahverengi boyanan çekirdekler pozitif, mavi boyanan çekirdekler negatif olarak kabul edildi. Değerlendirme 20 farklı alanda (10 bölge korteks, 10 bölge medulla) 200x objektif büyütme alanında 1000 hücre sayılarak skorlandı. Boyanmış bir çekirdek, boyanma yoğunluğuna bakılmaksızın pozitif olarak kabul edildi.

3.12. İstatistiksel Analiz Metodu

Araştırmada elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 21.0 istatistik analiz programı ile analiz edildi. Verilerin normal dağılışa uygunluğunun araştırılması için çarpıklık ve basıklık (skewness ve kurtosis) değerleri incelendi veya Shapiro-Wilk testi uygulandı. Verilerin homojenliği Levene Homojenlik testi ile test edildi. Normal dağılışa uyumluluk sağlayan verilerin analizi için Tek Yönlü Varyans Analizinden (One-Way ANOVA) yararlanıldı. Verilerin normal dağılıma uyumluluk sağlamadığı durumlarda Kruskal-Wallis-H testi uygulandı. Normal dağılıma uyumluluk gösteren verilerin çoklu karşılaştırmaları Duncan testi ile gerçekleştirilirken, normal dağılıma uymayan verilerin karşılaştırmaları Mann-Whitney-U testi kullanılarak karşılaştırıldı. Kullanılan tüm analizlerde anlamlılık kriteri olarak $P < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Sıçanların Vücut Ağırlıkları

Deney süresi boyunca her gün tartılan sıçanların canlı ağırlıklarının (gr) ortalamaları Tablo 4.1’de gösterildi.

Tablo 4.1. Gruplardaki sıçanların canlı ağırlıklarının ortalamaları (gr)

Grup	1.Gün	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta	5. Hafta	6. Hafta
K	132,2±12,5 ^c	145,6±14,1 ^d	168,9±15,9 ^{bc}	199,1±12,6 ^b	227,1±19,6 ^a	234,7±21,3 ^b	248,9±22,5 ^b
D	122,5±8,9 ^c	127,1±9,6 ^c	148,1±11,6 ^d	166,6±15,6 ^c	181,6±15,7 ^c	187,4±18,5 ^d	191,6±24,1 ^d
T	166,9±9,8 ^b	180,2±10,6 ^a	204,7±11,9 ^a	222,7±14,1 ^a	236,8±14 ^a	255,2±13,5 ^a	272,9±13,1 ^a
D+CAR	152,9±12,6 ^b	147±9,3 ^{cd}	153,2±8,4 ^{cd}	164,8±9,5 ^c	165,7±13 ^{cd}	170,7±16,6 ^{de}	172,6±17,5 ^{de}
D+HP	182,1±31,5 ^a	175,2±34,2 ^{ab}	168,7±40,3 ^{bc}	151,7±19,6 ^c	163,3±21,1 ^d	166,4±18,4 ^c	169,2±21,3 ^c
D+HP+CAR	161,1±12,1 ^b	162,4±11,6 ^{bc}	181,3±15,8 ^b	195±17,7 ^b	203,9±21,4 ^b	208,5±25,7 ^c	213,7±28,2 ^c
R							
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder (P<0,05). **K:** Kontrol, **D:** Diyabet, **T:** Taşıt, **D+CAR:** Diyabet+karvakrol, **D+HP:** Diyabet+hesperidin, **D+HP+CAR:** Diyabet+hesperidin+karvakrol

Grupların canlı ağırlıkları arasındaki farklılık incelenmiş olup, ilk gün D+HP grubunun diğer tüm gruplardan daha fazla canlı ağırlığına sahip olduğu, K ve D grubunun diğer tüm gruplardan daha az canlı ağırlığa sahip olduğu belirlendi.

Birinci hafta canlı ağırlıklar incelendiğinde; T grubunun D+HP grubu hariç tüm gruplardan daha fazla canlı ağırlığa sahip olduğu, D+HP grubunun K, D ve D+CAR gruplarından daha fazla canlı ağırlığa sahip olduğu görüldü. D+HP+CAR grubunun K ve D grubundan daha fazla canlı ağırlığa sahip olduğu dikkati çekti. D grubunun birinci hafta canlı ağırlığı diğer tüm gruplardan daha az olduğu görüldü.

İkinci hafta canlı ağırlıkları incelendiğinde; T grubunun diğer tüm gruplardan daha fazla canlı ağırlığa, D grubunun diğer tüm gruplardan daha az canlı ağırlığa sahip olduğu belirlendi. D+HP+CAR grubunun D+CAR grubundan daha fazla canlı ağırlığa sahip olduğu görüldü.

Üçüncü hafta canlı ağırlıkları incelendiğinde; T grubunun diğer tüm gruplardan daha fazla canlı ağırlığa sahip olduğu belirlenirken, K ve D+HP+CAR gruplarının D, D+HP ve D+CAR gruplarından daha fazla canlı ağırlığa sahip olduğu belirlendi.

Dördüncü hafta canlı ağırlıkları incelendiğinde; T ve K grubunun diğer tüm gruplardan daha fazla canlı ağırlığa sahip olduğu, D+HP+CAR grubunun D ve D+CAR grubundan daha fazla canlı ağırlığa sahip olduğu belirlendi.

Beş ve altıncı haftadaki canlı ağırlıkları incelendiğinde; T grubunun diğer tüm gruplardan daha fazla olduğu, K grubunun T grubu hariç diğer tüm gruplardan fazla canlı ağırlığa sahip olduğu, D+HP+CAR grubunun D+CAR, D+HP ve D gruplarından

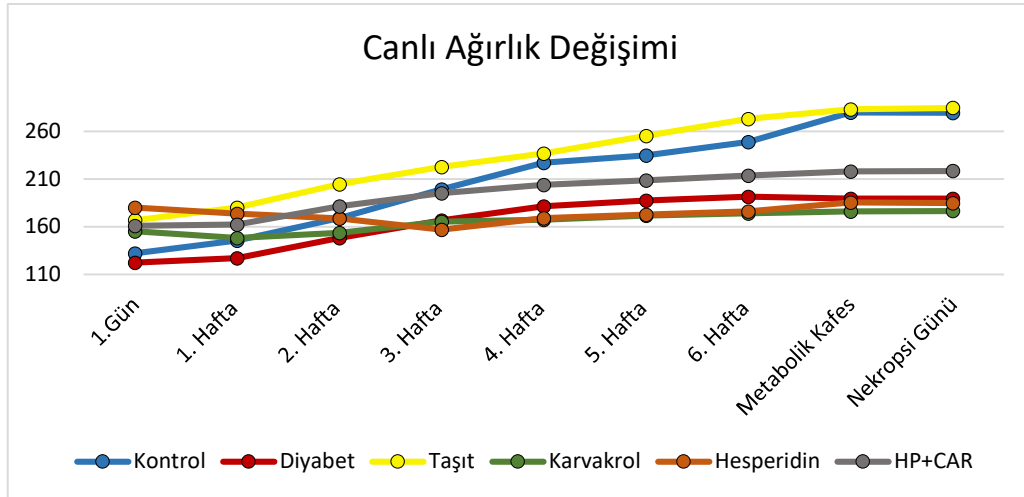
daha fazla canlı ağırlığı sahip olduğu, D grubunun ise D+HP grubundan daha fazla canlı ağırlığa sahip olduğu belirlendi. Bunun yanı sıra D+CAR grubunun D+HP ve D grubu hariç diğer gruplardan daha az ağırlığa sahip olduğu görüldü.

Tablo 4.2. Gruplardaki sıçanların deney süresi boyunca aldıkları/verdikleri gram değerleri

Grup	1.Gün	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta	5. Hafta	6. Hafta
K	132,2	13,4	23,3	30,2	28	7,6	14,2
D	122,5	4,6	21	18,5	15	5,8	4,2
T	166,9	13,3	24,5	18	14,1	18,4	17,7
D+CAR	152,9	-5,9	6,2	11,6	0,9	5	1,9
D+HP	182,1	-6,9	-6,5	-17	11,6	3,1	2,8
D+HP+CAR	161,1	1,3	18,9	13,7	8,9	4,6	5,2

K: Kontrol, D: Diyabet, T: Taşıt, D+CAR: Diyabet+karvakrol, D+HP: Diyabet+hesperidin, D+HP+CAR: Diyabet+hesperidin+karvakrol

Tablo 4.2 incelendiğinde 1. hafta en fazla canlı ağırlık artışı alan grup K grubu iken, bunu sırasıyla T, D, D+HP+CAR grubu izledi. D+CAR ve D+HP grubu 1. hafta canlı ağırlık kaybı yaşadığı kaydedildi. 2. hafta en fazla canlı ağırlık artışı T, K, D, D+HP+CAR, D+CAR şeklinde idi. D+HP grubu 2. hafta canlı ağırlık kaybetmiştir. 3. hafta canlı ağırlık artışı en fazla K grubunda dikkati çekerken, bunu sırasıyla, D, T, D+HP+CAR ve D+CAR gruplarının takip ettiği gözlemlendi. D+HP grubundaki sıçanların 3. haftada canlı ağırlık kaybı yaşadığı belirlendi. 4. hafta canlı ağırlık artışı sırasıyla K, D, T, D+HP, D+HP+CAR ve D+CAR şeklindeydi. 5. hafta canlı ağırlık artışı sırasıyla T, K, D, D+CAR, D+HP+CAR ve D+HP şeklinde idi. 6. Hafta canlı ağırlık artışı sırasıyla T, K, D+HP+CAR, D, D+HP ve D+CAR şeklindeydi.



Şekil 4.1. Gruplardaki sıçanların canlı ağırlıklarının değişimleri

Sıçanlara ait canlı ağırlıklar 6 hafta süresince ölçüldü. Canlı ağırlık değişimi Şekil 4.1'de gösterildi. Şekil 4.1 incelendiğinde, D+HP grubu hariç tüm grupların

deney başlangıcından deney sonuna ulaştığında daha fazla canlı ağırlığa ulaştığı belirlendi. D+HP grubunun ilk 3 hafta canlı ağırlık kaybettiği sonraki haftalarda ise tekrar canlı ağırlık kazandığı kaydedildi, ancak 6. hafta sonunda başlangıç ağırlığına tekrar ulaşamadığı belirlendi. D+CAR grubu ise ilk hafta sonunda canlı ağırlık kaybederken, 2. hafta başlangıç ağırlığına ulaşmış sonraki haftalar ise hafif canlı ağırlık artışı kaydedildi. T ve K grubunun canlı ağırlığı, D+HP+CAR ve D grubundaki sıçanlarda canlı ağırlıkları benzer hızda idi.

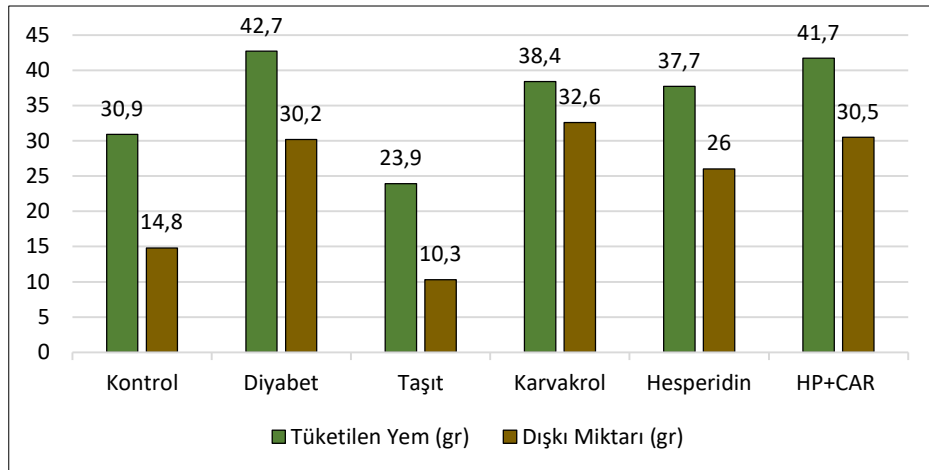
4.2. Metabolik Kafes Bilgileri

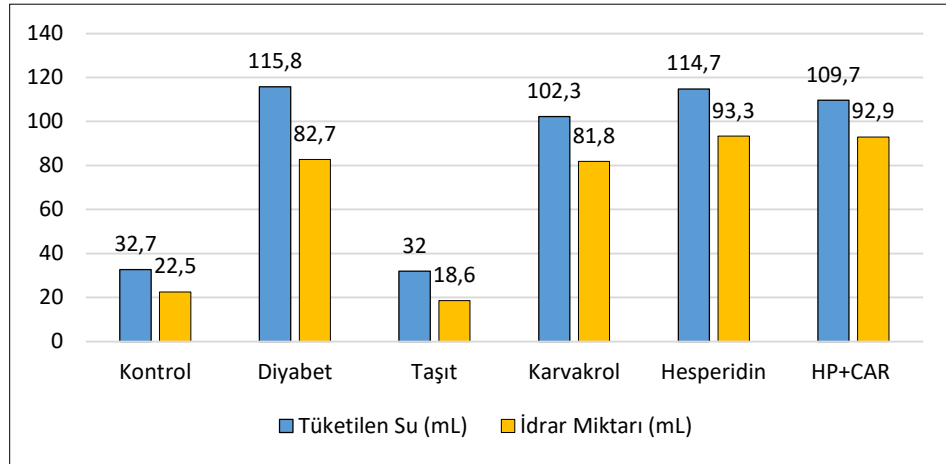
Nekropsiden bir gün önce metabolik kafeslere alınan sıçanların tükettiği su (mL) ve yem (gr) miktarları ve ürettiği idrar (mL) ve dışkı (gr) miktarları Tablo 4.3 ve Şekil 4.2’de gösterildi.

Tablo 4.3. Metabolik kafeslere alınan sıçanların tükettiği su ve yem miktarları ile ürettiği idrar ve dışkı miktarları

Grup	Tüketilen Su (mL)	Tüketilen Yem (gr)	İdrar Miktarı (mL)	Dışkı Miktarı (gr)
K	32,7±7,5 ^b	30,9±8,3 ^{bc}	22,5±6,3 ^b	14,8±4 ^b
D	115,8±35,2 ^a	42,7±6,7 ^a	82,7±24,7 ^a	30,2±10,7 ^a
T	32±10,6 ^b	23,9±7,5 ^c	18,6±8,2 ^b	10,3±2,6 ^b
D+CAR	102,3±31,6 ^a	38,4±8,6 ^{ab}	81,8±22,8 ^a	32,6±10,9 ^a
D+HP	114,7±17,9 ^a	37,7±7,8 ^{ab}	93,3±13,8 ^a	26±6,8 ^a
D+HP+CAR	109,7±37,9 ^a	41,7±14,4 ^a	92,9±21,3 ^a	30,5±11,7 ^a
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder (P<0,05). **K**: Kontrol, **D**: Diyabet, **T**: Taşıt, **D+CAR**: Diyabet+karvakrol, **D+HP**: Diyabet+hesperidin, **D+HP+CAR**: Diyabet+hesperidin+karvakrol





Şekil 4.2. Metabolik kafeslere alınan sıçanların tükettiği su ve ürettiği idrar miktarı, tükettiği yem ve ürettiği dışkı miktarı

Kontrol ve taşıt grubundaki sıçanların diğer gruptakilere göre daha az su tükettiği ve daha az idrar yaptığı belirlendi. Tüketilen yem miktarları incelendiğinde D ve D+HP+CAR grubundaki sıçanların K ve T grubundakilerle göre daha fazla yem tükettiği, D+HP ve D+CAR gruplarındakilerin T grubundakilerden daha fazla yem tükettiği belirlendi. Deney gruplarının dışkı miktarları incelendiğinde K ve T grubundaki sıçanların diğer tüm gruptakilerden daha az miktarda dışkı yaptıkları gözlemlendi.

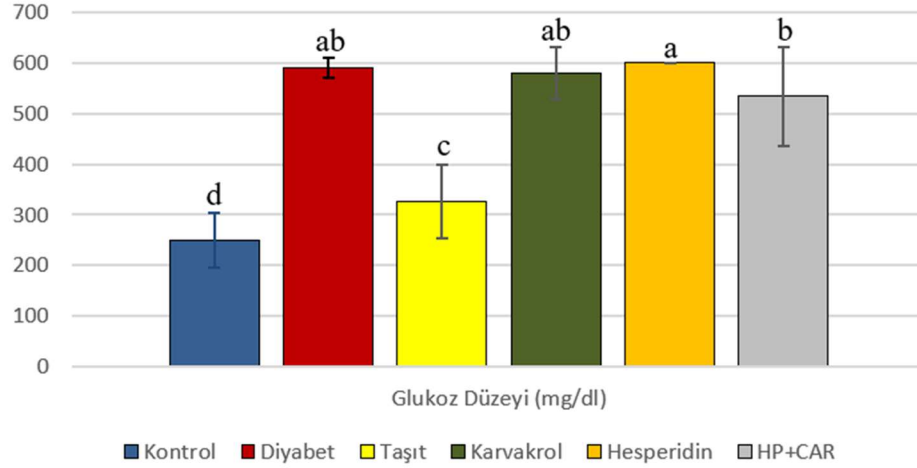
4.3. Kan Glukoz Düzeyleri

Nekropsi öncesinde hayvanların kuyruk veninden kan alınmış ve şeker ölçüm cihazıyla (On-Call® Plus) kan glukoz düzeyleri ölçüldü (Tablo 4.4 ve Şekil 4.3).

Tablo 4.4. Grupların kan glukoz düzeyleri (mg/dl)

Grup	Glukoz (mg/dl)
K	249±53,8 ^d
D	590,6±20 ^{ab}
T	327,3±72,5 ^c
D+CAR	580,2±51 ^{ab}
D+HP	600±0 ^a
D+HP+CAR	533,9±97 ^b
P	<0,001

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder (P<0,05). **K:** Kontrol, **D:** Diyabet, **T:** Taşıt, **D+CAR:** Diyabet+karvakrol, **D+HP:** Diyabet+hesperidin, **D+HP+CAR:** Diyabet+hesperidin+karvakrol



Şekil 4.3. Grupların kan glukoz düzeyleri (mg/dl)

Gruplardaki sıçanların kan glukoz değerleri incelendiğinde, gruplar arasında önemli istatistiksel farklılıklar belirlendi ($p < 0,001$). STZ uygulanan gruplardaki sıçanların kan glukoz seviyelerinde anlamlı bir artış dikkati çekti. D ($590,6 \pm 20$) grubundaki hayvanların kan glukoz değerlerinin, K ($249 \pm 53,8$) grubundakilerden daha fazla olduğu göze çarptı. D+CAR ($580,2 \pm 51$) ve D+HP (600 ± 0) grubundaki sıçanların kan glukoz değerleri istatistiksel olarak D grubundakilerle anlamlı bir fark içermediği, D+HP+CAR ($533,9 \pm 97$) grubundakilerin kan glukoz değerleri ise D grubundakilerde daha düşük olduğu belirlendi (Tablo 4.4 ve Şekil 4.3).

4.4. Böbreklere Ait Bilgiler

Tüm deney gruplarına ait sıçanların sağ/sol böbrek ağırlıkları, sağ/sol böbrek en ve boyu, sağ/sol böbrek korteks ve medulla ölçümleri Tablo 4.5 ve Tablo 4.6’da gösterildi.

Tablo 4.5. Grupların sağ böbreğine ait sonuçlar

Grup	Böbrek ağırlığı (gr)	Boy (mm)	En (mm)	Korteks (mm)	Medulla (mm)
K	$1,244 \pm 0,07^b$	$17,92 \pm 0,6$	$7,6 \pm 0,64$	$1,89 \pm 0,31^b$	$1,91 \pm 0,56$
D	$1,137 \pm 0,12^{bc}$	$16,83 \pm 1,65$	$7,44 \pm 1,18$	$1,96 \pm 0,5^{ab}$	$1,56 \pm 0,36$
T	$1,239 \pm 0,08^b$	$16,71 \pm 0,55$	$7,53 \pm 0,9$	$2,29 \pm 0,46^{ab}$	$1,8 \pm 0,56$
D+CAR	$1,174 \pm 0,15^{bc}$	$17,33 \pm 0,87$	$7,47 \pm 1,32$	$2,17 \pm 0,46^{ab}$	$1,68 \pm 0,25$
D+HP	$1,111 \pm 0,14^c$	$17,61 \pm 0,9$	$7,6 \pm 1,13$	$2,37 \pm 0,36^a$	$1,68 \pm 0,34$
D+HP+CAR	$1,361 \pm 0,16^a$	$17,78 \pm 1,07$	$7,5 \pm 1,18$	$1,9 \pm 0,34^b$	$1,41 \pm 0,18$
p	0,001	0,059	0,999	0,047	0,149

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P < 0,05$). K: Kontrol, D: Diyabet, T: Taşıt, D+CAR: Diyabet+karvakrol, D+HP: Diyabet+hesperidin, D+HP+CAR: Diyabet+hesperidin+karvakrol

Grupların sağ böbreklerine ait ölçümler incelendiğinde, D+HP+CAR grubunun diğer gruplardan daha fazla böbrek ağırlığına sahip olduğu, K ve T grubunun D+HP

grubundan daha fazla böbrek ağırlığına sahip olduğu ($p<0,01$) belirlendi. Korteks boyutları incelendiğinde HP grubunun, K ve D+HP+CAR grubundan daha uzun olduğu ($p<0,05$) belirlendi. Gruplar arasında sağ böbreklerin eni, boyu ve medulla uzunlukları arasında istatistiksel farklılık ($p>0,05$) önemli değil idi. (Tablo 4.5).

Tablo 4.6. Grupların sol böbreğine ait sonuçlar

Grup	Böbrek ağırlığı (gr)	Boy (mm)	En (mm)	Korteks (mm)	Medulla (mm)
K	1,33±0,23 ^a	17,92±0,6	7,53±0,75	1,99±0,49	1,73±0,29
D	1,089±0,14 ^c	18,76±0,99	6,91±0,64	2,1±0,45	1,92±0,54
T	1,183±0,11 ^{bc}	17,91±0,98	7,73±0,84	2,25±0,47	1,69±0,33
D+CAR	1,094±0,1 ^c	17,93±0,9	7,3±1,51	1,73±0,35	1,43±0,33
D+HP	1,116±0,12 ^c	17,99±1,03	7,59±0,75	1,84±0,53	1,58±0,45
D+HP+CAR	1,295±0,15 ^{ab}	18,62±1,75	7,27±1,66	1,9±0,42	1,5±0,4
p	0,001	0,338	0,652	0,189	0,138

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). **K**: Kontrol, **D**: Diyabet, **T**: Taşıt, **D+CAR**: Diyabet+karvakrol, **D+HP**: Diyabet+hesperidin, **D+HP+CAR**: Diyabet+hesperidin+karvakrol

Grupların sol böbreklerine ait ölçümler incelendiğinde, K grubunun böbrek ağırlığının D+HP+CAR grubu hariç tüm gruplardan daha fazla ağırlığa sahip olduğu belirlenirken, D+HP+CAR grubunun böbrek ağırlığı ortalaması D+HP, D+CAR ve D grubundan daha fazla ağırlığa sahip olduğu ($p<0,05$) dikkati çekti. Gruplar arasında sol böbreklerin eni, boyu, korteks ve medulla uzunlukları arasında istatistiksel farklılık ($p>0,05$) görülmedi (Tablo 4.6).

Tablo 4.7. Grupların sağ ve sol rölatif böbrek ağırlıkları

Grup	Sağ Böbrek Ağırlığı (gr)	Sol Böbrek Ağırlığı (gr)
K	0,44±0,04 ^a	0,47±0,06 ^a
D	0,60±0,03 ^b	0,57±0,05 ^c
T	0,43±0,01 ^a	0,41±0,02 ^b
D+CAR	0,67±0,09 ^c	0,62±0,03 ^c
D+HP	0,61±0,06 ^{bc}	0,62±0,08 ^c
D+HP+CAR	0,62±0,08 ^{bc}	0,59±0,05 ^c
p	0,001	0,001

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). **K**: Kontrol, **D**: Diyabet, **T**: Taşıt, **D+CAR**: Diyabet+karvakrol, **D+HP**: Diyabet+hesperidin, **D+HP+CAR**: Diyabet+hesperidin+karvakrol

Grupların rölatif sağ böbrek ağırlıkları incelendiğinde D+CAR grubunun diğer bütün gruplardan daha fazla rölatif böbrek ağırlığına sahip olduğu dikkati çekti. K ve T grubunun rölatif böbrek ağırlıkları istatistiksel olarak benzerdir ve diğer tüm gruplardan daha azdır. Grupların rölatif sol böbrek ağırlıkları incelendiğinde K ve T grubu hariç diğer tüm gruplar istatistiksel olarak aynı idi (Tablo 4.7).

4.5. Biyokimyasal Bulgular

Serum değerlerinin verildiği Tablo 4.8 incelendiğinde; kreatinin (CRE), C-reaktif protein (CRP), HDL hariç diğer tüm parametrelerde istatistiksel olarak farklılık görüldü ($p<0,05$).

Kontrol grubunun diğer tüm gruplardan daha fazla albümin (ALB) değerine sahip olduğu, D ve T grubunun D+CAR, D+HP ve D+HP+CAR gruplarından daha fazla, D+HP+CAR grubunun ise D+CAR grubundan daha fazla ALB değerine sahip olduğu dikkati çekti.

Diyabet, D+CAR ve D+HP gruplarının alanin transaminaz (ALT) değerinin K, T ve D+HP+CAR gruplarından daha fazla olduğu görüldü. D+HP ve D+CAR gruplarının T grubu hariç tüm gruplardan daha fazla aspartat aminotransferaz (AST) değerine sahip olduğu belirlenmiştir. D+HP grubunun T ve K grubundan daha fazla CHO değerine sahip olduğu, D+CAR ve D grubunun T grubundan daha fazla CHO değerine sahip olduğu dikkati çekti.

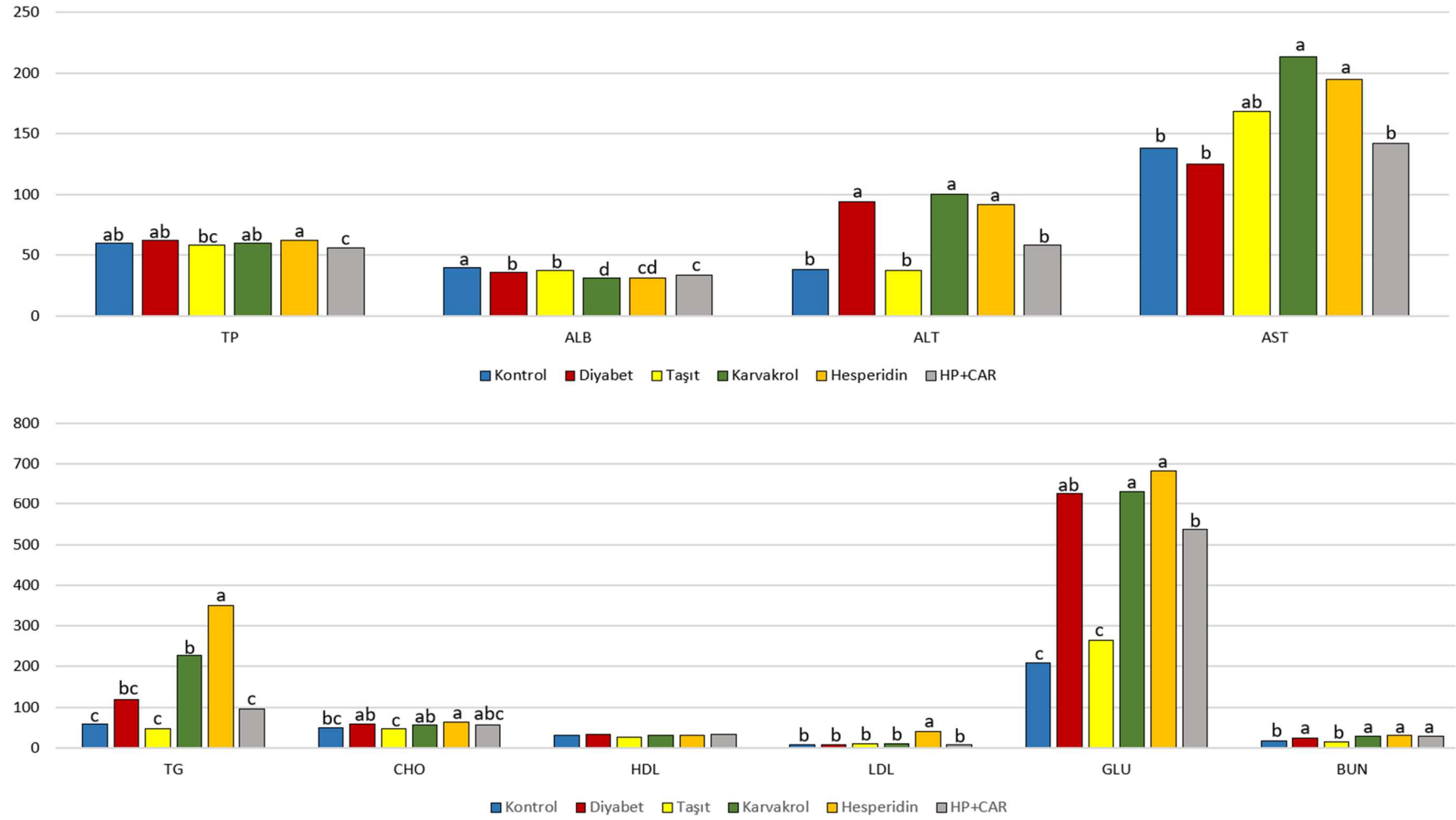
Gama glutamil transferaz (GGT) değeri K ve T grubunda 0 olurken, en yüksek ölçüm D+HP grubunda olduğu görüldü. D+HP grubu, D+CAR grubu hariç diğer tüm gruplardan daha fazla GGT değerine sahip olurken, D+CAR grubu D+HP+CAR, K ve T grubundan daha fazla GGT değerine sahip olduğu göze çarptı. D ve D+HP+CAR gruplarının ise K ve T grubundan daha fazla GGT değerine sahip olduğu görüldü.

Glukoz (GLU) değeri incelendiğinde D+CAR, D+HP ve D grubunun diğer gruplardan daha fazla GLU değerine sahip olduğu belirlenirken, D ve D+HP+CAR gruplarının T ve K grubundan daha fazla GLU değerine sahip olduğu belirlendi. LDL değerine bakıldığında D+HP grubunun diğer tüm gruplardan daha fazla olduğu kaydedildi. D+HP grubunun T ve D+HP+CAR grubundan K, D ve D+CAR gruplarının D+HP+CAR grubundan daha fazla total protein (TP) değerine sahip olduğu dikkati çekti. D+HP grubunun diğer tüm gruplardan daha fazla trigliserid (TG) düzeyine sahipti. Grupların BUN değerleri incelendiğinde, K ve T grubunun diğer tüm gruplardan daha az BUN değerine sahip olduğu dikkati çekti.

İdrar ölçüm sonuçlarının gruplara göre dağılımı Tablo 4.9, 4.10 ve 4.11’de sunuldu.

Tablo 4.8. Serum değ erlerinin gruplara göre karşılaştırılması

	K (n=10)	D (n=10)	T (n=10)	D+CAR (n=9)	D+HP (n=10)	D+HP+CAR (n=10)	P
ALB	39,74±1,9 ^a	35,95±1,9 ^b	37,21±1,3 ^b	30,9±3,5 ^d	31,53±2 ^{cd}	33,42±3,5 ^c	<0,001
ALT	38,03±4,5 ^b	94,35±34,7 ^a	37,36±1,2 ^b	100,03±55,4 ^a	91,67±11,3 ^a	58,5±16,5 ^b	<0,001
AST	137,89±37,3 ^b	125,13±34,5 ^b	168,5±37,3 ^{ab}	212,86±88,3 ^a	194,6±19,6 ^a	142±35,7 ^b	0,005
CHO	49,79±5,9 ^{bc}	57,61±9,5 ^{ab}	47,86±4,1 ^c	57,28±12,3 ^{ab}	62,73±14,5 ^a	56,56±5,6 ^{abc}	0,011
CRE	0,39±0,1	0,42±0,1	0,37±0,1	0,43±0,1	0,35±0	0,39±0,1	0,361
CRP	0,01±0	0,016±0,007	0,011±0,004	0,013±0,005	0,013±0,005	0,01±0	0,088
GGT	0±0 ^d	3,3±1,6 ^{bc}	0±0 ^d	4,78±2,1 ^{ab}	5,5±2,7 ^a	2,44±1,7 ^c	<0,001
GLU	208,47±50,2 ^c	626,58±77,4 ^{ab}	264,15±45,6 ^c	633,13±144,4 ^a	682,99±101,8 ^a	536,71±129,7 ^b	<0,001
HDL	31,42±3,4	33,66±6,9	27,35±2,9	29,77±5,8	31,63±5,6	33,2±3,9	0,079
LDL	6,87±4,3 ^b	7,91±3 ^b	8,93±4,3 ^b	9,78±3,2 ^b	39,03±32,9 ^a	8,73±3,6 ^b	<0,001
TP	60,08±2,1 ^{ab}	61,91±3,7 ^{ab}	58,36±2 ^{bc}	60,16±4,5 ^{ab}	62,08±3,9 ^a	55,9±4,5 ^c	0,007
TG	58±22,6 ^c	119,29±56,4 ^{bc}	48±13,1 ^c	228,11±142 ^b	350,63±207,4 ^a	95±44,7 ^c	<0,001
BUN	16,73±1,8 ^b	25,1±7,4 ^a	14,76±1 ^b	27,8±3,1 ^a	30,86±10 ^a	28,6±2,4 ^a	<0,001



Şekil 4.4. Serum değerlerinin gruplara göre karşılaştırılması

Tablo 4.9. İdrar ölçüm sonuçlarının gruplara göre dağılımı

		K (n=8)		D (n=10)		T (n=7)		D+CAR (n=8)		D+HP (n=9)		D+HP+CAR (n=9)	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
ERY	0	4	50	2	20	1	14,3	0	0	2	22,2	0	0,
	1	1	12,5	7	70	6	85,7	8	100	4	44,4	3	33,3
	2	3	37,5	1	10	0	0	0	0	1	11,1	5	55,6
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	2	22,2	1	11,1
LEU	Negatif	1	12,5	10	100	0	0	8	100	9	100	8	88,9
	Pozitif	7	87,5	0	0	7	100	0	0	0	0	1	11,1
NIT	Negatif	7	87,5	9	90	5	71,4	7	87,5	9	100	9	100
	Pozitif	1	12,5	1	10	2	28,6	1	12,5	0	0	0	0
KET	Negatif	8	100	10	100	6	85,7	8	100	7	77,8	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	1	14,3	0	0	2	22,2	0	0
GLU	0	8	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	3	42,9	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	3	42,9	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	1	14,3	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	10	100	0	0	8	100	9	100	9	100
PRO	0	0	0	10	100	0	0	8	100	9	100	7	77,8
	1	7	87,5	0	0	7	100	0	0	0	0	2	22,2
	2	1	12,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UBG	Negatif	8	100	10	100	7	100	8	100	9	100	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BIL	Negatif	8	100	10	100	7	100	8	100	9	100	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COL	Amber	1	12,5	1	10	2	28,6	1	12,5	0	0	9	100
	Brown	7	87,5	0	0	5	71,4	0	0	0	0	0	0
	Pale Yellow	0	0	2	20	0	0	3	37,5	4	44,4	0	0
	Yellow	0	0	7	70	0	0	4	50	5	55,6	0	0
CLA	Clear	0	0	0	0	0	0	1	12,5	0	0	0	0
	Light turbid	0	0	8	80	0	0	6	75	6	66,7	0	0
	Turbid	8	100	2	20	7	100	1	12,5	3	33,3	9	100

Tablo 4.10. İdrar ölçüm sonuçlarının gruplara göre dağılımı

		K (n=9)		D (n=10)		T (n=8)		D+CAR (n=8)		D+HP (n=9)		D+HP+CAR (n=9)	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
RBC	Negatif	9	100	10	100	8	100	8	100	9	100	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BAC	Negatif	9	100	2	20	8	100	1	12,5	4	44,4	8	88,9
	Pozitif	0	0	8	80	0	0	7	87,5	5	55,6	1	11,1
NEC	Negatif	9	100	10	100	8	100	8	100	7	77,8	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	0	0	0	0	2	22,2	0	0
SEC	Negatif	4	44,4	10	100	1	12,5	8	100	9	100	8	88,9
	Pozitif	5	55,6	0	0	7	87,5	0	0	0	0	1	11,1
PAT	Negatif	0	0	2	20	5	62,5	1	12,5	1	11,1	1	11,1
	Pozitif	9	100	8	80	3	37,5	7	87,5	8	88,9	8	88,9
HYA	Negatif	9	100	10	100	8	100	8	100	9	100	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CRY	Negatif	0	0	2	20	6	75	6	75	1	11,1	6	66,7
	Pozitif	9	100	8	80	2	25	2	25	8	88,9	3	33,3
CAOX	Negatif	7	77,8	10	100	8	100	8	100	9	100	9	100
	Pozitif	2	22,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AMO	Negatif	9	100	10	100	8	100	8	100	9	100	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
URI	Negatif	9	100	10	100	8	100	8	100	9	100	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
YEA	Negatif	9	100	10	100	8	100	7	87,5	9	100	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	0	0	1	12,5	0	0	0	0
SPRM	Negatif	9	100	10	100	8	100	8	100	9	100	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MUC	Negatif	9	100	10	100	8	100	8	100	9	100	9	100
	Pozitif	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tablo 4.11. Bazı idrar ölçümlerinin gruplara göre Kruskal Wallis Testi ile karşılaştırılması

	K^a		D^b		T^c		D+CAR^d		D+HP^e		D+HP+CAR^f		p	Post-Hoc*
	n	Med (Min-Maks)	n	Med (Min-Maks)	n	Med (Min-Maks)	n	Med (Min-Maks)	n	Med (Min-Maks)	n	Med (Min-Maks)		
Ph	8	8,5 (8-9)	10	7 (6-7)	7	7 (7-8)	8	7 (6-8)	9	6 (6-7)	9	6,5 (6-7)	0,00	a>b, a>d, a>e, a>f
SG	8	1,031 (1,023-1,044)	10	1,0435 (1,031-1,049)	7	1,038 (1,023-1,05)	8	1,0435 (1,035-1,05)	9	1,046 (1,044-1,05)	9	1,047 (1,044-1,049)	0,00	e>a, f>a
RBC	9	0,23 (0,23-0,23)	10	0,23 (1-0,23)	8	0,23 (0,23-0,23)	8	0,23 (3-0,7)	9	0,23 (9,86-0,23)	9	0,23 (0,43-0,23)	0,02	d>a
WBC	9	0,84 (21,66-7,07)	10	0,23 (0,9-0,23)	8	0,23 (3,38-0,23)	8	0,23 (0,6-0,23)	9	0,23 (17,36-0,3)	9	0,23 (0,32-0,23)	0,00	a>b, a>c, a>d, a>f

*Mann Whitney U testi uygulandı, p değerleri için Benferroni düzeltmesi yapıldı.

4.6. Histopatolojik Bulgular

4.6.1. Periyodik Asit-Schiff (PAS) Boyamaları

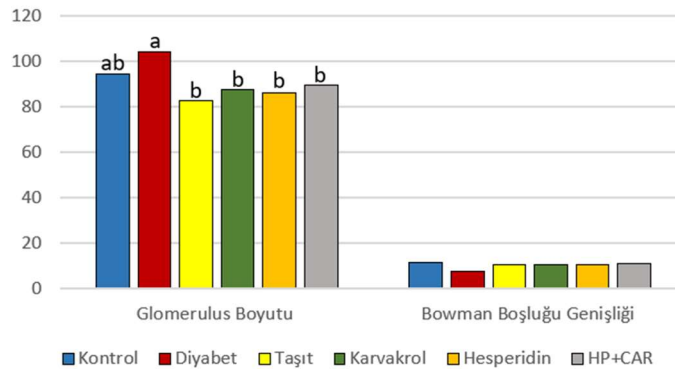
Yapılan tek yönlü varyans analizi sonucunda glomerulus boyutu (μm), Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının kalınlığı (μm) ve tubuler bazal membran (TBM- μm) kalınlığı açısından gruplar arasında istatistiksel farklılık önemliydi ($p<0.05$). Bowman boşluğu genişliği (μm) ve Bowman kapsülünün visseral yaprağının kalınlığı (μm) sonuçları istatistiksel olarak önemli bir farklılık teşkil etmedi.

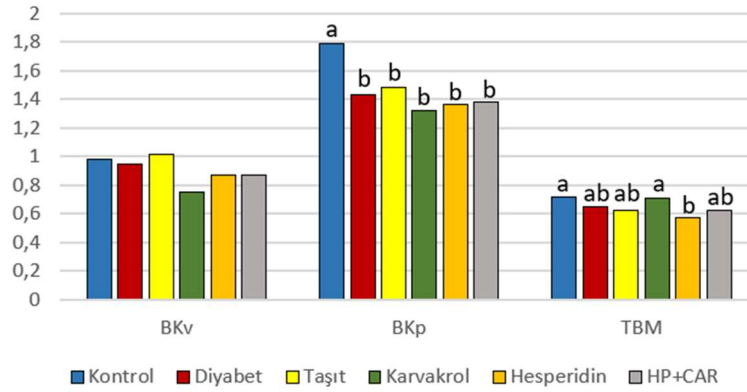
Yapılan çoklu karşılaştırma analizi sonucunda D grubundaki glomerulus değerlerinin, K grubu hariç, tüm gruplardan daha fazla olduğu ve istatistiksel olarak da anlamlı olduğu kaydedildi ($p<0,017$). K grubundaki olgularda Bowman kapsülünün pariyetal yaprağı kalınlığı, diğer tüm gruplardakilere göre daha fazla olduğu ($p=0,001$) dikkati çekti. K ve D+CAR grubundaki olgularda tubulus bazal membran kalınlığının, D+HP grubundakilere göre daha fazla olduğu ($p=0,03$) görüldü (Tablo 4.12 ve Şekil 4.5).

Tablo 4.12. Deney gruplarının glomerulus boyutu, bowman boşluğu genişliği, bowman kapsülünün pariyetal (BKp) ve visseral (BKv) yaprağının kalınlığı, tubulus bazal membran (TBM) kalınlığı (ortalama $\pm$ SS)

Grup	Glomerulus Boyutu (μm)	Bowman Boşluğu Genişliği (μm)	BKv (μm)	BKp (μm)	TBM (μm)
K	94,22 $\pm$ 6,1 ^{ab}	11,34 $\pm$ 3	0,98 $\pm$ 0,2	1,79 $\pm$ 0,2 ^a	0,72 $\pm$ 0,1 ^a
D	104,04 $\pm$ 7,3 ^a	7,53 $\pm$ 2,3	0,95 $\pm$ 0,1	1,43 $\pm$ 0,1 ^b	0,65 $\pm$ 0,1 ^{ab}
T	82,5 $\pm$ 15,9 ^b	10,28 $\pm$ 1,9	1,01 $\pm$ 0,2	1,48 $\pm$ 0,2 ^b	0,62 $\pm$ 0,1 ^{ab}
D+CAR	87,73 $\pm$ 6,6 ^b	10,34 $\pm$ 1,8	0,75 $\pm$ 0	1,32 $\pm$ 0,2 ^b	0,71 $\pm$ 0 ^a
D+HP	86,27 $\pm$ 6,4 ^b	10,57 $\pm$ 2,4	0,87 $\pm$ 0,2	1,36 $\pm$ 0,1 ^b	0,57 $\pm$ 0,1 ^b
D+HP+CAR	89,6 $\pm$ 8,6 ^b	10,87 $\pm$ 2,3	0,87 $\pm$ 0,1	1,38 $\pm$ 0,1 ^b	0,62 $\pm$ 0 ^{ab}
p	0,017	0,185	0,247	0,001	0,03

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). K: Kontrol, D: Diyabet, T: Taşit, D+CAR: Diyabet+karvakrol, D+HP: Diyabet+hesperidin, D+HP+CAR: Diyabet+hesperidin+karvakrol





Şekil 4.5. Deney gruplarının glomerulus boyutu, bowman boşluğu genişliği, bowman kapsülünün pariyetal (BKp) ve visseral (BKv) yaprağının kalınlığı, tubulus bazal membran (TBM) kalınlığı

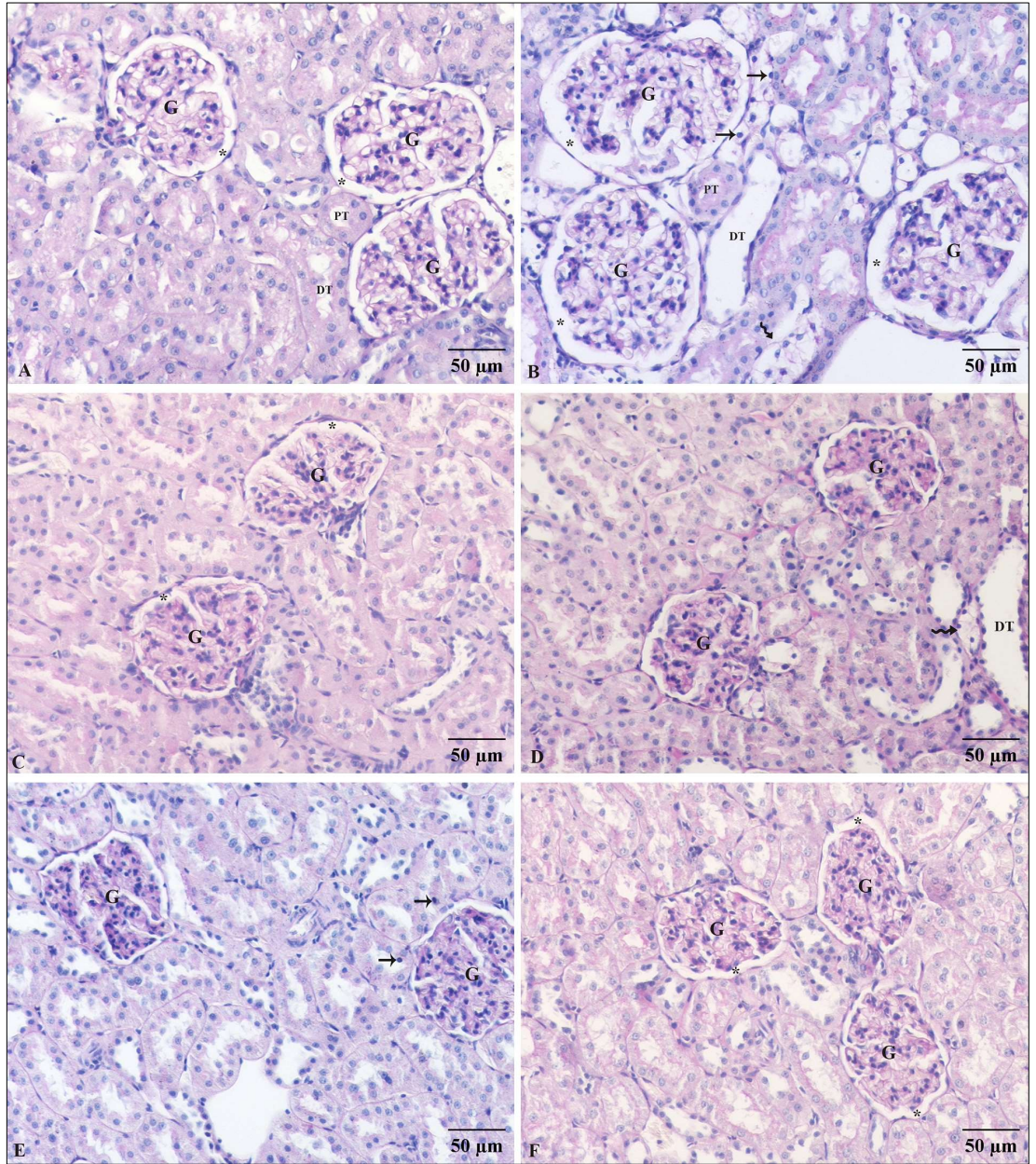
Grupların tubuler dilatasyon, intraselüler vakuolizasyon ve mesangiyal matriks artışının istatistiksel olarak farklı olduğu ($p < 0,05$) belirlenirken, tubuler atrofi, hiyalin birikimi, mononükleer hücre infiltrasyonu ve sklerotik glomerulus sayısında istatistiksel olarak farklılık ($p > 0,05$) görülmedi.

Diyabet grubunda tubuler dilatasyon, K ve T grubundakilere göre daha fazla olduğu kaydedildi ($p = 0,011$). D grubu diğer tüm gruplardan daha fazla mesangiyal matriks artışına sahip olurken, D+HP grubu D+CAR, T ve K grubundan daha fazla mesangiyal matriks artışı not edildi. D+HP+CAR grubu, T ve K grubundan daha fazla mesangiyal matriks artışına sahipken, D+CAR grubu K grubundan daha fazla mesangiyal matriks artışına sahip olduğu dikkati çekti ($p < 0,001$) (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Deney gruplarının tubuler dilatasyon (TD), tubuler atrofi (TA), intraselüler vakuolizasyon (ISV), hiyalin birikimi (HB), mononükleer hücre infiltrasyonu (MHİ), sklerotik glomerulus sayısı (SGS), mesangiyal matriks (MM) artışı (med (min:max))

Grup	TD	TA	ISV	HB	MHİ	SGS	MMA
K	0 (0:0) ^b	0 (0:0)	0 (0:0) ^b	0 (0:0)	0 (0:0)	2 (1:3)	0 (0:1) ^c
D	1 (1:1) ^a	0 (0:0)	2 (0:2) ^a	0 (0:0)	0 (0:0)	5 (4:7)	3 (2:3) ^a
T	0 (0:0) ^b	0 (0:0)	0 (0:0) ^b	0 (0:0)	0 (0:0)	3 (2:5)	1 (0:1) ^{de}
D+CAR	1 (0:1) ^{ab}	0 (0:0)	1 (0:1) ^b	0 (0:0)	0 (0:0)	4 (3:5)	1 (1:2) ^{cd}
D+HP	1 (0:1) ^{ab}	0 (0:0)	1 (0:1) ^b	0 (0:0)	0 (0:0)	5 (1:7)	2 (2:2) ^b
D+HP+CAR	0 (0:1) ^{ab}	0 (0:0)	0 (0:1)	0 (0:0)	0 (0:0)	4 (2:6)	2 (1:2) ^{bc}
p	0,011	1	<0,001	1	1	0,056	<0,001

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P < 0,05$). K: Kontrol, D: Diyabet, T: Taşıt, D+CAR: Diyabet+karvakrol, D+HP: Diyabet+hesperidin, D+HP+CAR: Diyabet+hesperidin+karvakrol



Şekil 4.6. Farklı deney gruplarına ait PAS ile boyanmış sıçan böbrek korteksinin görüntüleri. A) Kontrol grubu normal histolojik yapıyı, glomerulusları (G), proksimal tubülü (PT), distal tubülü (DT) ve Bowman boşluğunu (yıldız) göstermektedir. B) Diyabet grubu, glomerulusları (G), proksimal tubülü (PT), dilate distal tubülü (DT), Bowman boşluğunu (yıldız), piknotik çekirdekleri (ok), balonumsu dejenerasyona uğramış tubülü (zikzak ok) göstermektedir. C) Taşıt grubu, kontrol grubuna benzer histopatolojik özellikler sergilemektedir. D) Diyabet+Karvakrol grubu, dilate tubul (DT) ve balonumsu dejenerasyona uğramış tubul epitelini (zikzak ok) göstermektedir. E) Diyabet+Hesperidin grubu, piknotik çekirdekleri (oklar) göstermektedir. F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu kontrol ve taşıt grubuna benzer histopatolojik özellikler sergilemektedir. PAS x200, Bar:50 µm

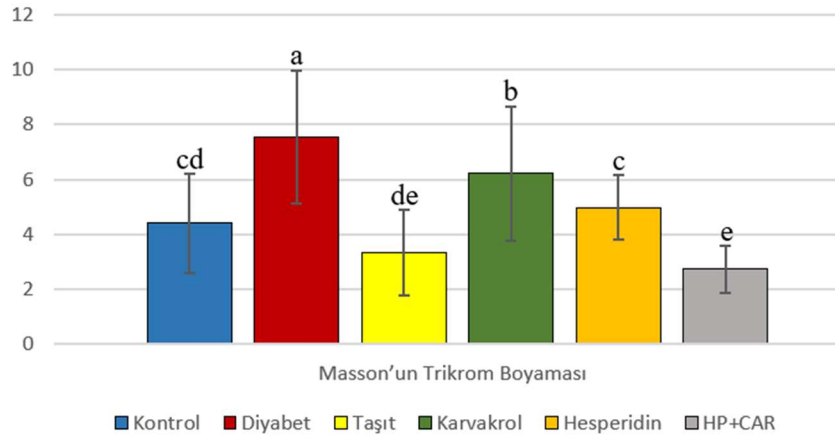
4.6.3. Masson'un Trikrom Boyamaları

Yapılan tek yönlü varyans analizi sonucunda Masson'un trikrom boyamasında fibrozis yüzdesi açısından gruplar arasında önemli farklılıklar belirlendi ($p<0,05$). D grubunda ($7,54\pm2,42$) diğer tüm gruplardan daha fazla fibrozis oranı dikkati çekerken, en az fibrozis oranının D+HP+CAR ($2,73\pm0,86$) grubunda olduğu görüldü (Tablo 4.14 ve Şekil 4.7).

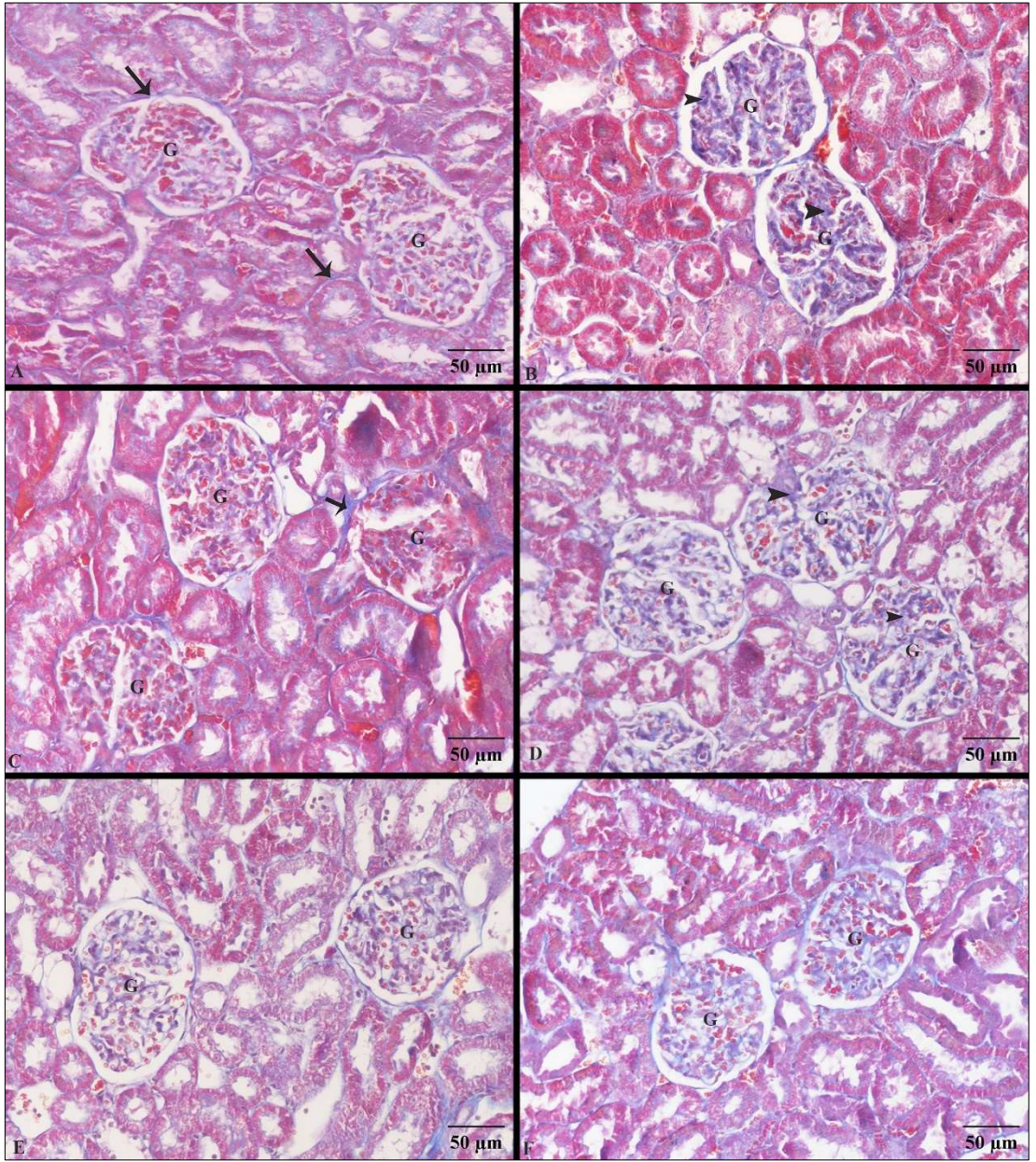
Tablo 4.14. Deney gruplarının Masson'un trikrom boyaması ile boyanma yüzdeleri

Grup	Masson'un Trikrom Boyaması (%)
K	$4,4\pm1,79^{cd}$
D	$7,54\pm2,42^a$
T	$3,34\pm1,55^{de}$
D+CAR	$6,21\pm2,44^b$
D+HP	$4,98\pm1,16^c$
D+HP+CAR	$2,73\pm0,86^e$
p	$<0,001$

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). **K:** Kontrol, **D:** Diyabet, **T:** Taşıt, **D+CAR:** Diyabet+karvakrol, **D+HP:** Diyabet+hesperidin, **D+HP+CAR:** Diyabet+hesperidin+karvakrol



Şekil 4.7. Deney gruplarının Masson'un trikrom boyaması ile boyanma yüzdeleri



Şekil 4.8. Farklı deney gruplarının Masson trikrom boyalı kesitlerinin kolajen dağılımını gösteren görüntüleri. A) Kontrol grubu normal histolojik yapıyı, glomeruluslar (G), normal glomerulusların etrafındaki ve interstisyumdaki kolajenin maviye boyanması (oklar) B) Diyabet grubunda glomeruluslarda daha yoğun boyanan kolajen (ok başı) C) Taşıt grubu D) Diyabet+Karvakrol grubu, glomeruluslarda artmış kolajen (ok başı) E) Diyabet+Hesperidin grubu F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu. Masson trikrom x200, Bar:50 µm

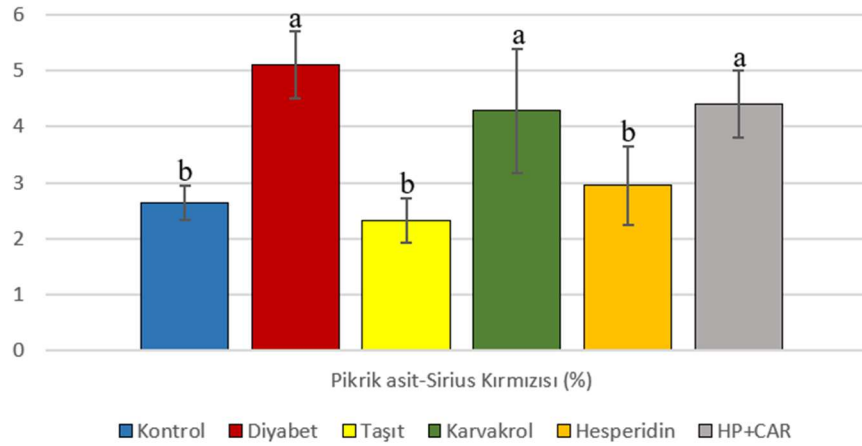
4.6.4. Pikrik Asit-Sirius Kırmızısı Boyamaları

Yapılan tek yönlü varyans analizi sonucunda Pikrik asit-Sirius kırmızısı pozitif alan yüzdesi açısından gruplar arasında önemli farklılıklar bulundu ($p<0.05$). Pikrik asit-Sirius kırmızı ile boyanan kesitlerde pozitif boyanmış alanların yüzde oranları incelendiğinde D, D+CAR ve D+HP+CAR gruplarının K, T ve D+HP gruplarından daha fazla pozitif boyanma yüzdesine sahipti ($p<0,001$) (Tablo 4.15 ve Şekil 4.9).

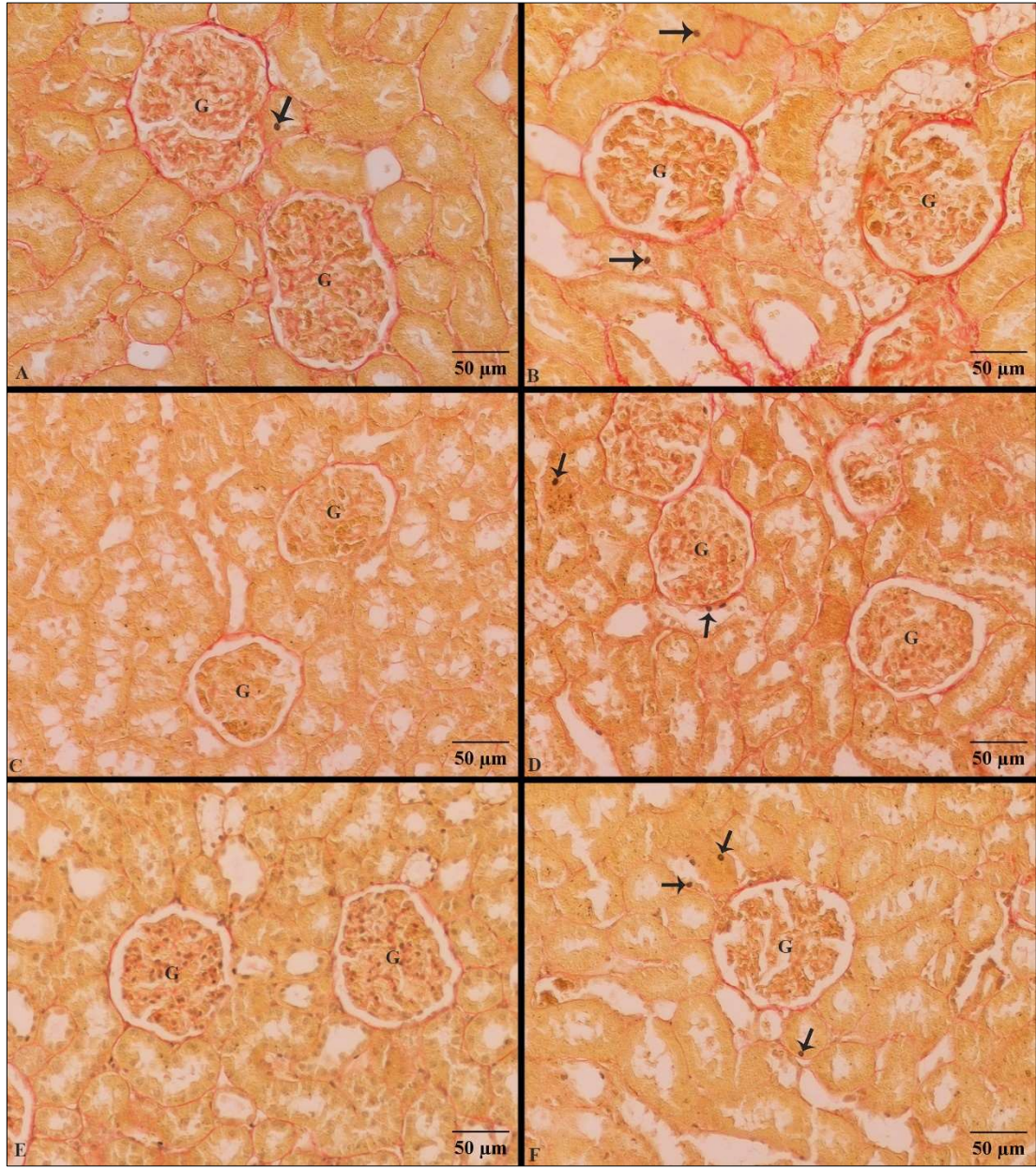
Tablo 4.15. Deney gruplarının Pikrik Asit-Sirius Kırmızı ile pozitif boyanma yüzdeleri

Grup	Pikrik asit-Sirius Kırmızısı (%)
K	2,64±0,3 ^b
D	5,1±0,6 ^a
T	2,32±0,4 ^b
D+CAR	4,28±1,1 ^a
D+HP	2,95±0,7 ^b
D+HP+CAR	4,41±0,6 ^a
p	<0,001

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). **K**: Kontrol, **D**: Diyabet, **T**: Taşıt, **D+CAR**: Diyabet+karvakrol, **D+HP**: Diyabet+hesperidin, **D+HP+CAR**: Diyabet+hesperidin+karvakrol



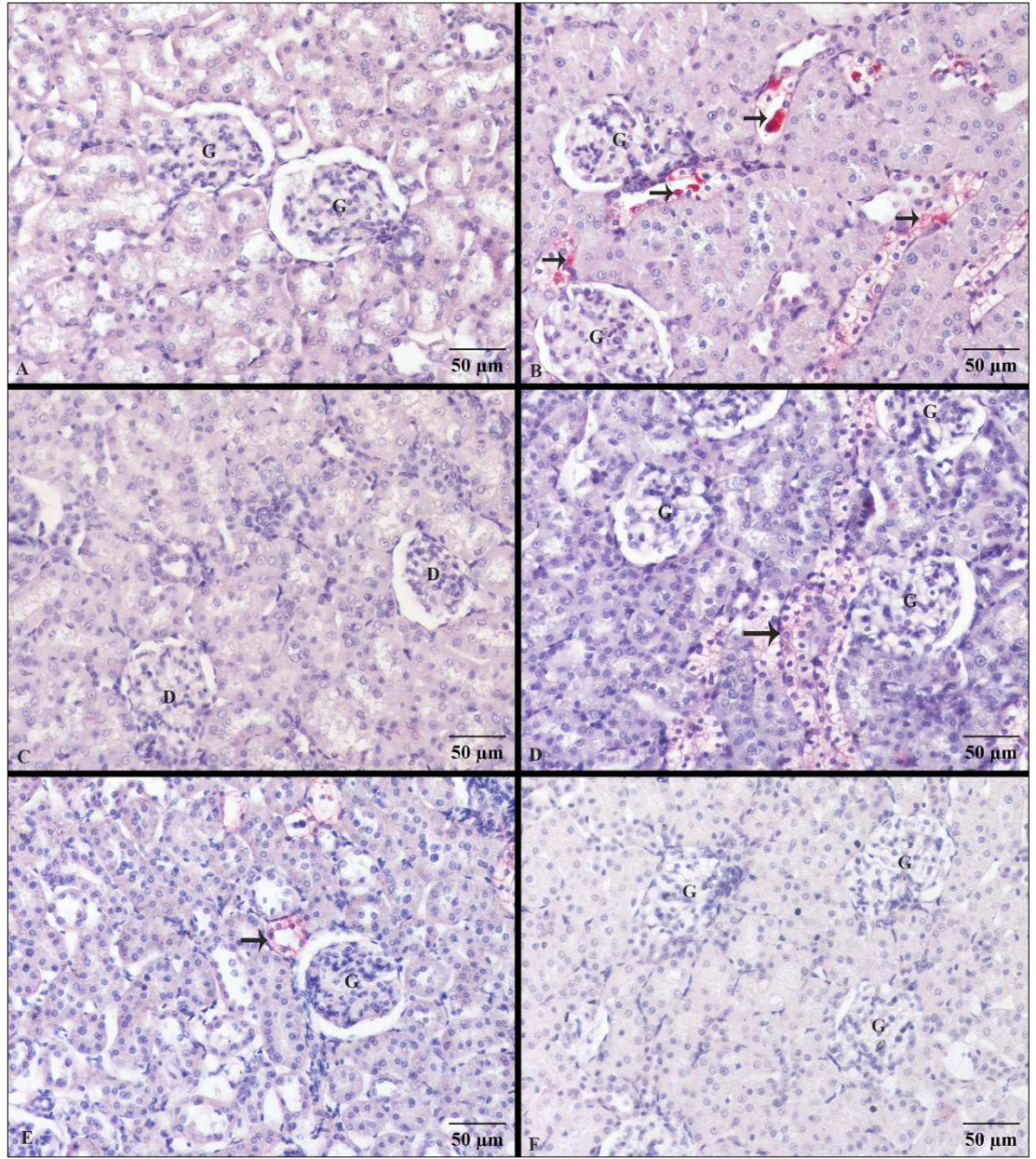
Şekil 4.9. Deney gruplarının Pikrik Asit-Sirius Kırmızı ile pozitif boyanma yüzdeleri



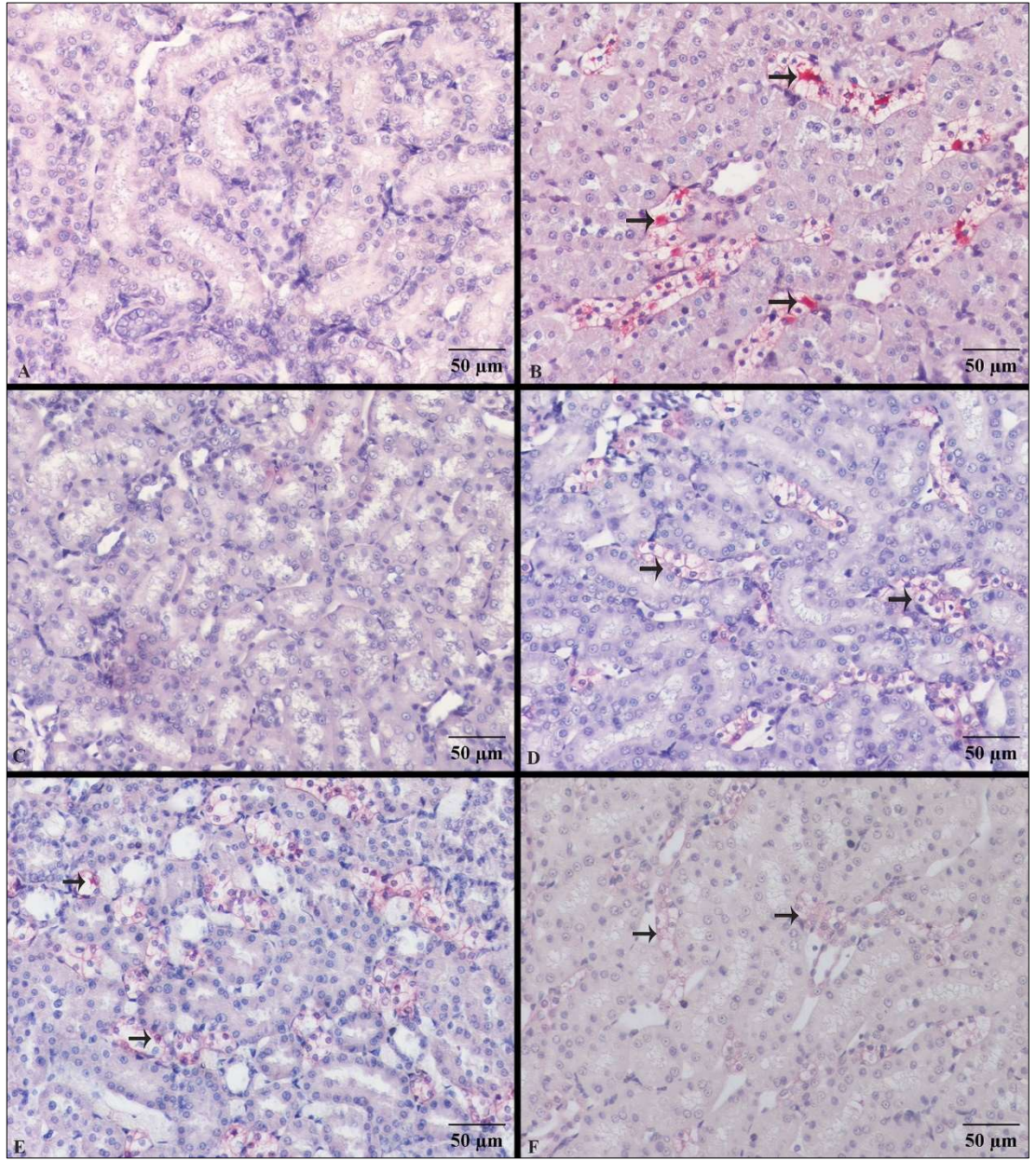
Şekil 4.10. Farklı deney gruplarının Pikrik Asit-Sirius Kırmızı ile boyalı kesitlerinin kolajen dağılımını gösteren görüntüleri. A) Kontrol grubu normal histolojik yapı, glomeruluslar (G), piknotik çekirdek (ok) B) Diyabet grubunda glomeruluslarda daha yoğun boyanan kolajen, piknotik çekirdek (oklar) C) Taşıt grubu D) Diyabet+Karvakrol grubu, piknotik çekirdekler (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu, piknotik çekirdekler (oklar). Pikrik asit-Sirius kırmızı x200, Bar:50 µm

4.6.5. Best Carmine Boyamaları

Yapılan histopatolojik incelemelerde grupların hiçbirinde glomeruluslarda glikojen birikimi gözlenmedi. D grubunda özellikle hasarlı tubuluslarda glikojen birikimi dikkati çekerken K, T ve D+HP+CAR grubundakilerde ise bu birikimlere rastlanmadı. D+CAR ve D+HP gruplarının hasarlı tubuluslarında minimal düzeyde glikojen birikimleri dikkati çekti.



Şekil 4.11. Farklı deney gruplarının korteks bölümüne ait Best Carmine boyalı kesitlerinin glikojen birikimini gösteren görüntüleri. A) Kontrol grubu normal histolojik yapıyı, glomeruluslar (G) B) Diyabet grubunda tubuluslarda glikojen birikimi (oklar) C) Taşıt grubu D) Diyabet+Karvakrol grubu, hasarlı tubuluslarda az miktarda glikojen birikimi (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu, hasarlı tubuluslarda az miktarda glikojen birikimi (oklar) F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu. Best Carmine x200, Bar:50 µm



Şekil 4.12. Farklı deney gruplarının medulla bölümüne ait Best Carmine boyalı kesitlerinin glikojen birikimini gösteren görüntüleri. A) Kontrol grubu normal histolojik yapı B) Diyabet grubunda tubuluslarda glikojen birikimi (oklar) C) Taşıt grubu D) Diyabet+Karvakrol grubu, hasarlı tubuluslarda az miktarda glikojen birikimi (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu, hasarlı tubuluslarda az miktarda glikojen birikimi (oklar) F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu, hasarlı tubuluslarda az miktarda glikojen birikimi (oklar). Best Carmine x200, Bar:50 µm

4.7. İmmunohistokimyasal Bulgular

4.7.1. Bcl-2 İmmunohistokimyasal Bulguları

Tablo 4.16 sunulduğu şekilde, Bcl-2 immunopozitifliğin yüzdeleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,05$).

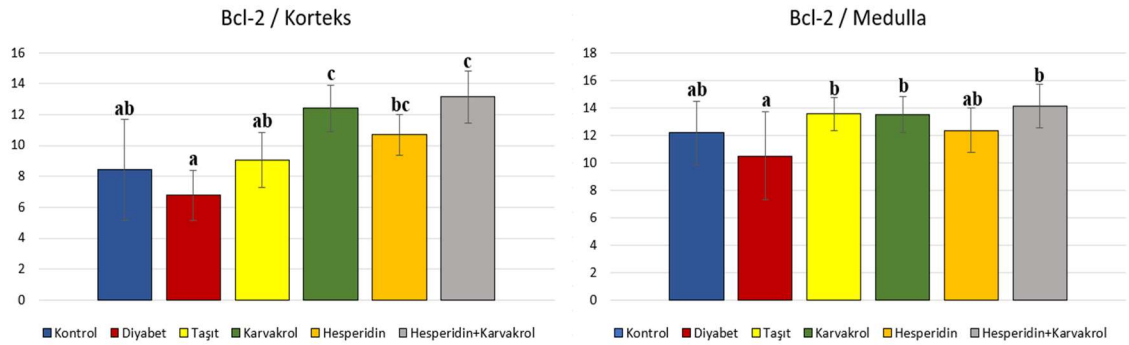
Diyabet grubu olgularında hem korteks hem de medulla bölgesindeki Bcl-2 immunopozitiflik yüzdesi, diğer bütün gruplardan daha az olduğu idi. D grubu, K grubuyla kıyaslandığında hem korteks hem medulla bölgesindeki Bcl-2 immunopozitiflik yüzdesi istatistiksel olarak önemli farklılık teşkil etmedi. Korteks ve medulladaki Bcl-2 immunopozitiflik yüzdesinin en fazla D+HP+CAR grubunda olduğu dikkati çekti. D+HP ve D+CAR gruplarının her ikisinde immunopozitiflik yüzdesi, D grubundan daha yüksek olduğu kaydedildi ($p<0,001$) (Şekil 4.13).

Tablo 4.16. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait Bcl-2 boyanmalarının pozitif yüzdelерinin oranları

	Korteks	Medulla
Grup	Pozitif (%)	Pozitif (%)
K	8,45±3,28 ^{ab}	12,18±2,30 ^{ab}
D	6,76±1,63 ^a	10,50±3,20 ^a
T	9,05±1,77 ^{ab}	13,56±1,22 ^b
D+CAR	12,40±1,51 ^c	13,53±1,31 ^b
D+HP	10,69±1,30 ^{bc}	12,36±1,61 ^{ab}
D+HP+CAR	13,14±1,70 ^c	14,14±1,58 ^b
p	<0,001	<0,001

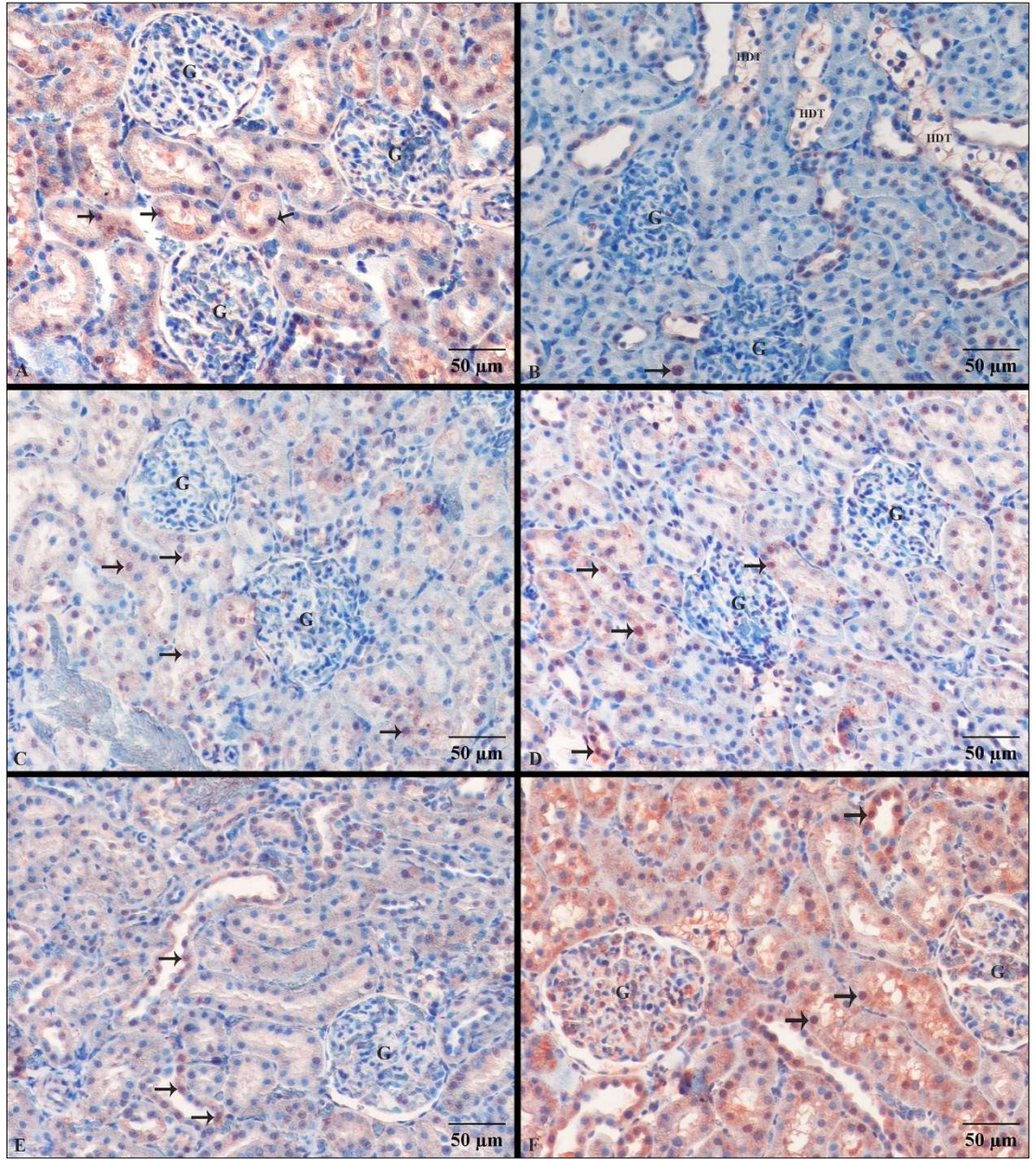
a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$).

K: Kontrol, **D:** Diyabet, **T:** Taşit, **D+CAR:** Diyabet+karvakrol, **D+HP:** Diyabet+hesperidin, **D+HP+CAR:** Diyabet+hesperidin+karvakrol

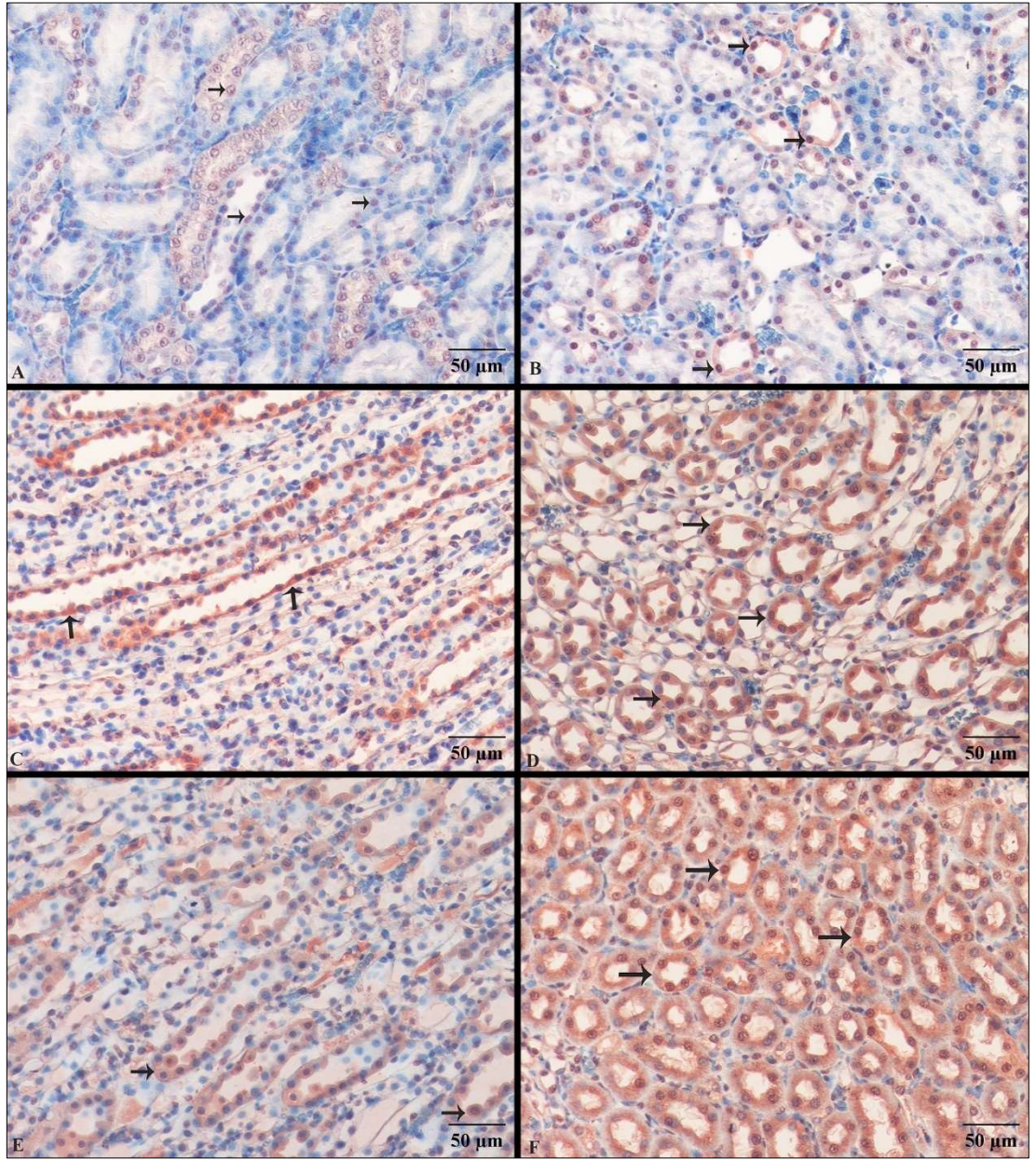


Şekil 4.13. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait Bcl-2 boyanmalarının pozitif yüzdelерinin oranları

Tüm gruplardaki sıçanların böbrek dokularında spesifik Bcl-2 immunoreaktivitesi gözlemlendi. D+HP+CAR, D+CAR ve D+HP gruplarının proksimal ve distal tubul epitellerinde güçlü sitoplazmik ve nükleer immunoreaktivite gözlemlendi. Ayrıca D grubu olgularında ise zayıf sitoplazmik immunoreaktivite not edildi.



Şekil 4.14. Farklı deney gruplarının korteks bölgesine ait Bcl-2 immunohistokimyasal boyanmaları. A) Kontrol grubu, glomeruluslar (G), sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) B) Diyabet grubu, glomeruluslar (G), hasarlı distal tubuller (HDT), nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücresi (ok), C) Taşıt grubu, glomerüller (G), nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) D) Diyabet+Karvakerol grubu, glomerüller (G), sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar), E) Diyabet+Hesperidin grubu, glomerulus (G), sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar), F) Diyabet+Hesperidin+Karvakerol grubu, yoğun Bcl-2 immupozitiflik sergilemektedir. Glomeruluslar (G), sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar). Bcl-2 x200, Bar:50 µm



Şekil 4.15. Farklı deney gruplarının medulla bölgesine ait Bcl-2 immunohistokimyasal boyanmaları. A) Kontrol grubu, nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) B) Diyabet grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) C) Taşıt grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) D) Diyabet+Karvakrol grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar), E) Diyabet+Hesperidin grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar), F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu, sitoplazmik ve nükleer yoğun immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar). Bcl-2 x200, Bar:50 µm

4.7.2. Bax İmmunohistokimyasal Bulguları

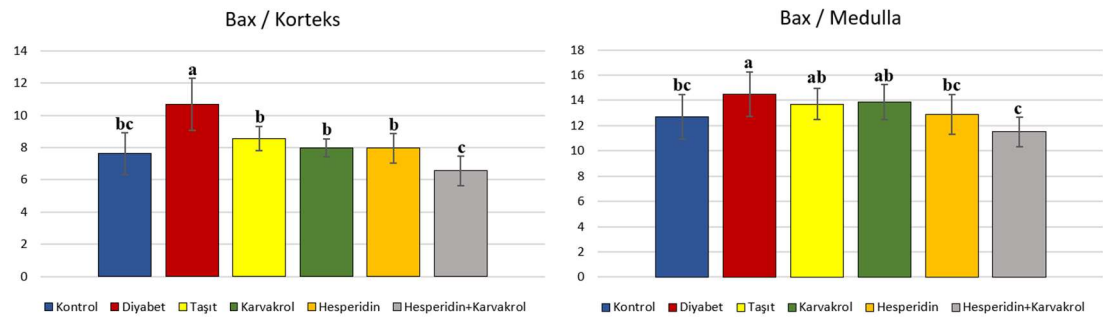
Tablo 4.17 incelendiğinde, gruplardaki Bax immunopozitiflik yüzdelerinde gruplar arasında önemli farklılıklar görüldü ($p<0,05$).

Diyabet grubu sıçanların böbreklerinde hem korteks hem de medulla bölgesindeki Bax immunopozitiflik yüzdesinin diğer gruplardan istatistiksel olarak daha fazla olduğu dikkati çekti. D+HP+CAR grubundaki hayvanlarda hem korteks hem de medulla bölgesindeki Bax immunopozitiflik diğer gruplara göre daha düşüktü ve istatistiksel olarak da anlamlı idi. D+CAR ve D+HP gruplarındaki sıçanlarda, korteks bölgesindeki Bax immupoziflik K ve T grubundakilerle istatistiksel olarak benzerlik sergilediği kaydedildi. Medulla bölgesi incelendiğinde D+CAR grubunun Bax immunopozitiflikliği D grubundaki sıçanlardan daha düşük olmasna karşın, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. D+HP grubunun medulladaki immunopozitiflik yüzdesi D grubundan az, K grubuyla istatistiksel olarak benzerdi (Şekil 4.16).

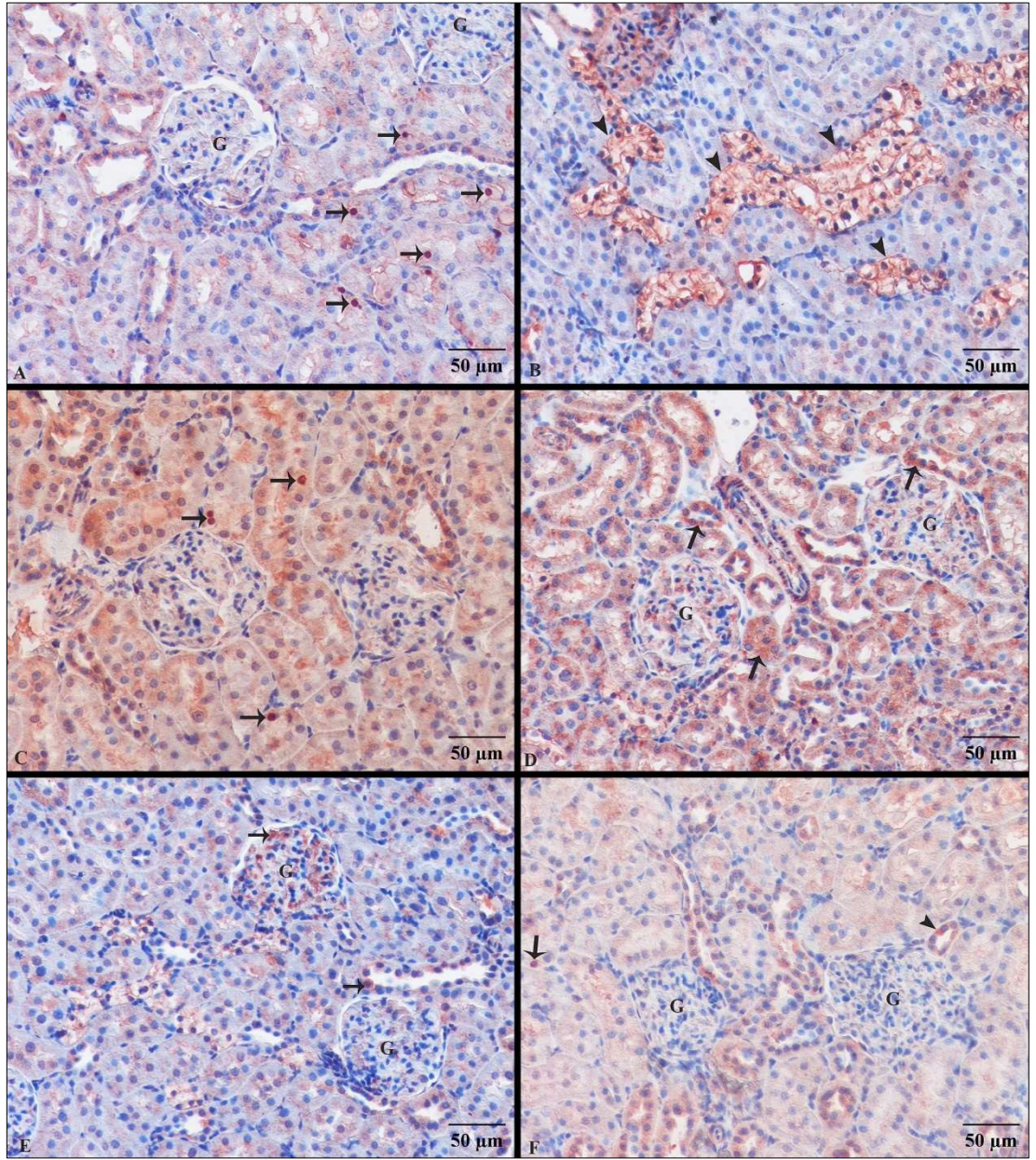
Tablo 4.17. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait Bax boyanmalarının pozitif yüzdelerinin oranları

	Korteks	Medulla
Grup	Pozitif (%)	Pozitif (%)
K	7,62±1,31 ^{bc}	12,72±1,75 ^{bc}
D	10,68±1,61 ^a	14,52±1,76 ^a
T	8,55 ±0,73 ^b	13,70±1,23 ^{ab}
D+CAR	7,97±0,55 ^b	13,86±1,39 ^{ab}
D+HP	7,96±0,92 ^b	12,88±1,56 ^{bc}
D+HP+CAR	6,56±0,92 ^c	11,51±1,19 ^c
p	<0,001	<0,001

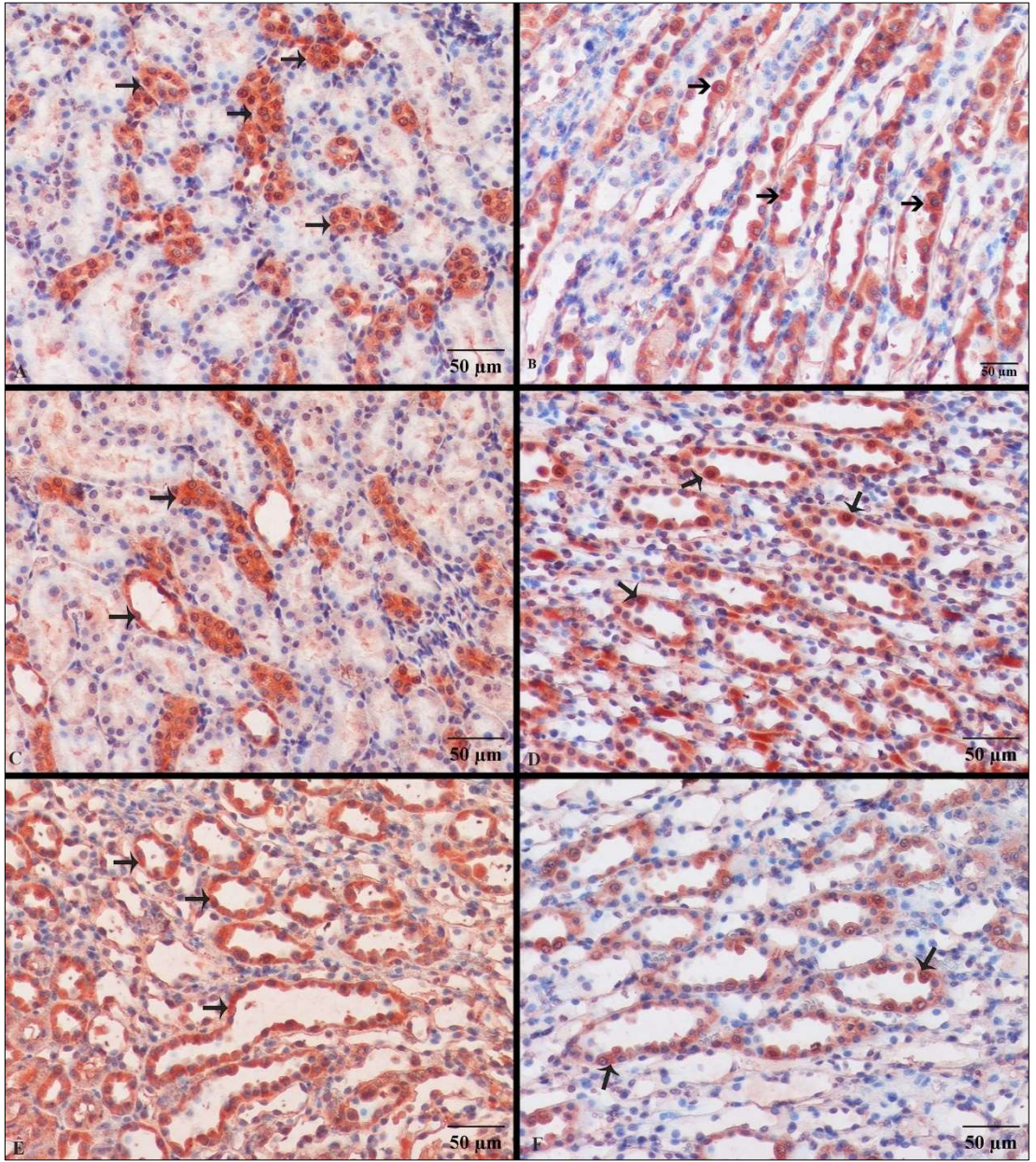
a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$).
K: Kontrol, **D:** Diyabet, **T:** Taşıt, **D+CAR:** Diyabet+karvakrol, **D+HP:** Diyabet+hesperidin, **D+HP+CAR:** Diyabet+hesperidin+karvakrol



Şekil 4.16. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait Bax boyanmalarının pozitif yüzdelerinin oranları



Şekil 4.17. Farklı deney gruplarının korteks bölgesine ait Bax immunohistokimyasal boyanmaları. A) Kontrol grubu, glomeruluslar (G), nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) B) Diyabet grubu, sitoplazmik immumopozitiflik sergileyen hasara uğramış tubuller (ok başları) C) Taşıt grubu, nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) D) Diyabet+Karvakrol grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu, sitoplazmik (ok başı) ve nükleer (ok) immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri. Bax x200, Bar:50 µm



Şekil 4.18. Farklı deney gruplarının medulla bölgesine ait Bax immunohistokimyasal boyanmaları. A) Kontrol grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) B) Diyabet grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) C) Taşıt grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) D) Diyabet+Karvakrol grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar). Bax x200, Bar:50 µm

4.7.3. Kaspaz-3 İmmunohistokimyasal Bulguları

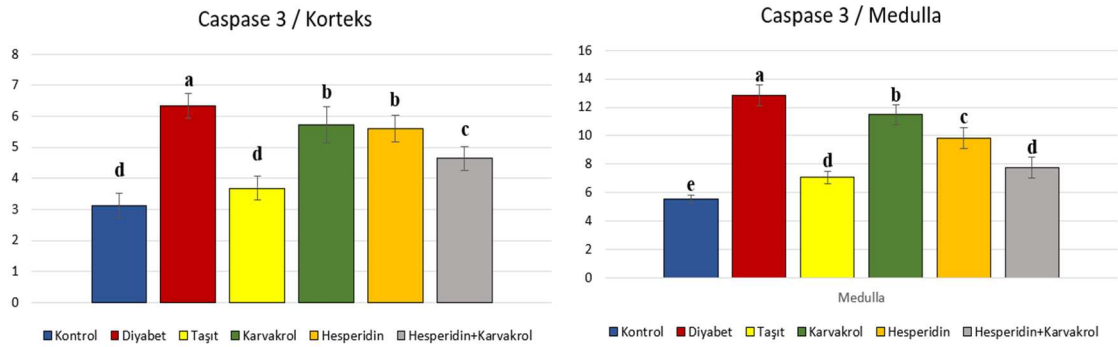
Tablo 4.18 incelendiğinde, grupların aktif Kaspaz-3 immunopozitifliklerinin yüzde sonuçları gruplar arasında anlamlı farklılıklar içermekteydi ($p<0,01$).

Diyabet grubundaki sıçanlarda hem korteks hem de medulla bölgesindeki Kaspaz-3 immunopozitiflik yüzdesinin diğer gruplardan daha fazla olduğu ($p<0,001$) belirlendi. D+CAR, D+HP ve D+HP+CAR gruplarının korteks ve medulla bölgesindeki immupozitiflik yüzdesinin D grubundan az, K ve T grubundan fazla olduğu dikkati çekti (Şekil 4.19).

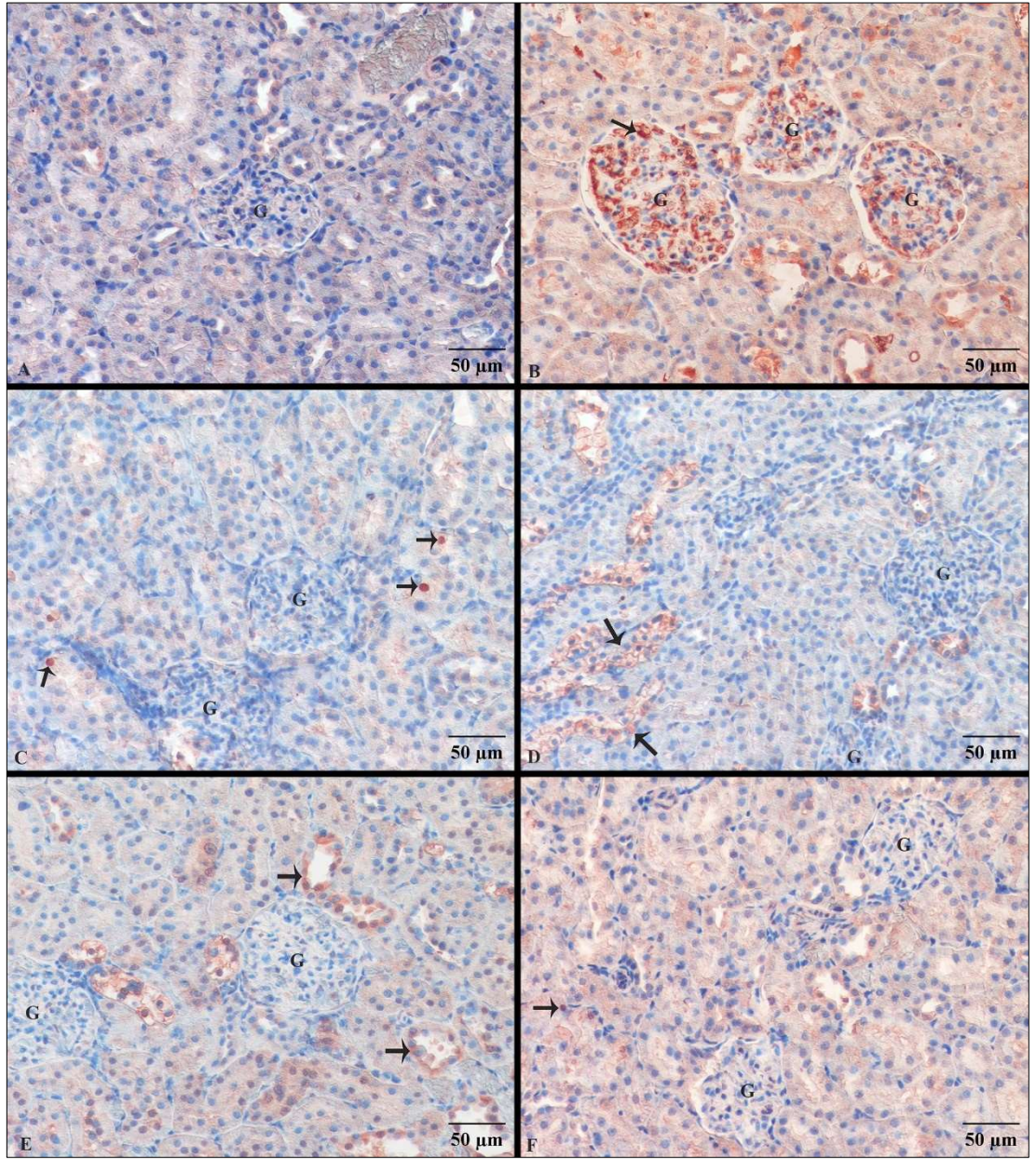
Tablo 4.18. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait aktif kaspaz-3 boyanmalarının pozitif yüzdelерinin oranları

	Korteks	Medulla
Grup	Pozitif (%)	Pozitif (%)
K	3,13±0,40 ^d	5,54±0,27 ^e
D	6,34±0,39 ^a	12,86±0,73 ^a
T	3,68 ±0,38 ^d	7,05±0,45 ^d
D+CAR	5,72±0,58 ^b	11,49±0,69 ^b
D+HP	5,61±0,42 ^b	9,83±0,75 ^c
D+HP+CAR	4,65±0,38 ^c	7,76±0,75 ^d
p	<0,001	<0,001

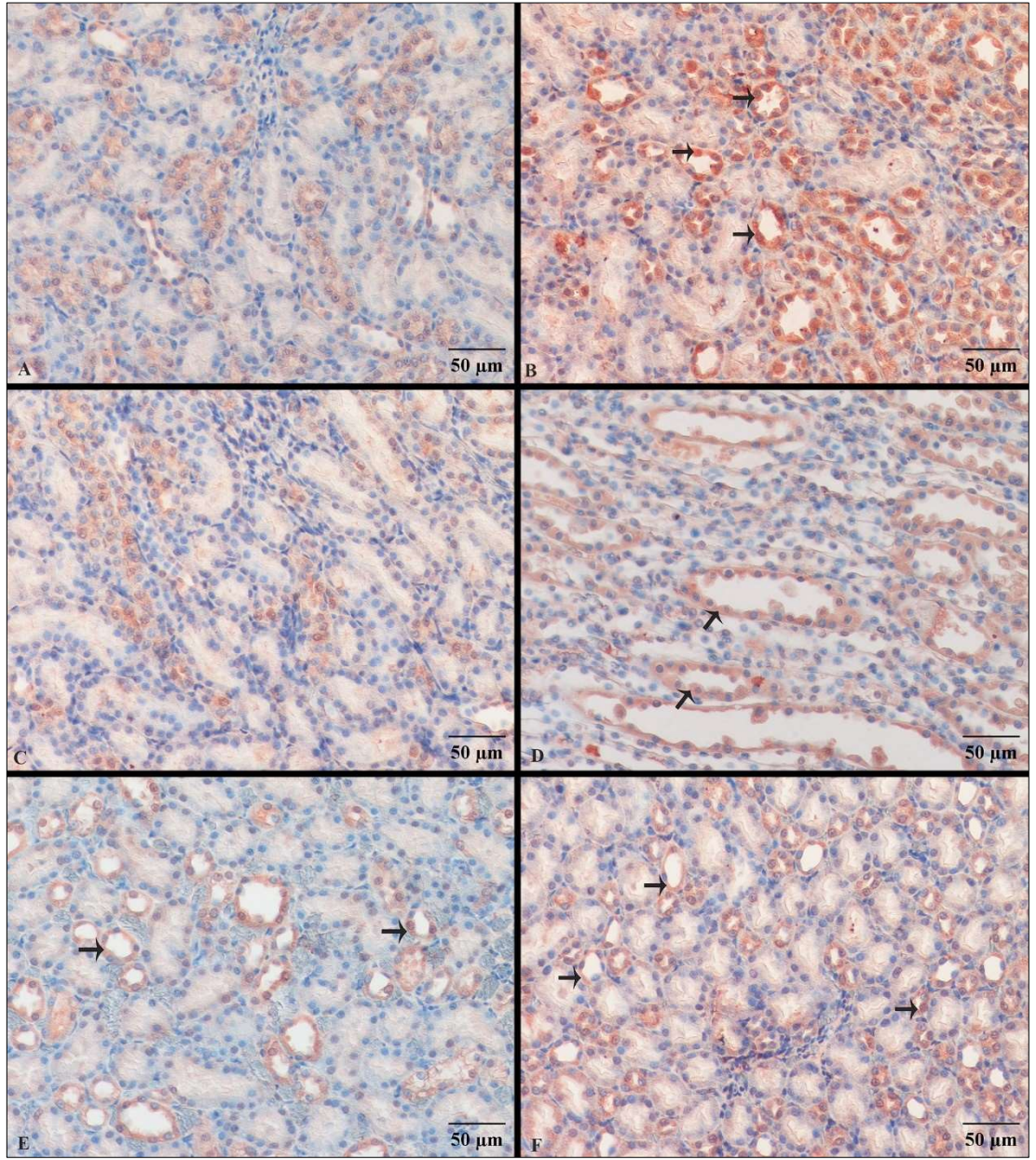
a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). K: Kontrol, D: Diyabet, T: Taşıt, D+CAR: Diyabet+karvakrol, D+HP: Diyabet+hesperidin, D+HP+CAR: Diyabet+hesperidin+karvakrol



Şekil 4.19. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait kaspaz-3 boyanmalarının pozitif yüzdelерinin oranları



Şekil 4.20. Farklı deney gruplarının korteks bölgesine ait aktif kaspaz-3 immunohistokimyasal boyanmaları. A) Kontrol grubu, glomerulus (G) B) Diyabet grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen glomerulus hücreleri (oklar) C) Taşıt grubu, nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) D) Diyabet+Karvakrol grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu, nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar). Aktif kaspaz-3 x200, Bar:50 µm



Şekil 4.21. Farklı deney gruplarının medulla bölgesine ait aktif kaspaz-3 immunohistokimyasal boyanmaları. A) Kontrol grubu B) Diyabet grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) C) Taşıt grubu D) Diyabet+Karvakrol grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar). Aktif kaspaz-3 x200, Bar:50 µm

4.7.4. Kaspaz-9 İmmunohistokimyasal Bulguları

Tablo 4.19 incelendiğinde grupların kaspaz-9 immunopozitifliğin yüzde sonuçları gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar içermekteydi ($p<0,01$).

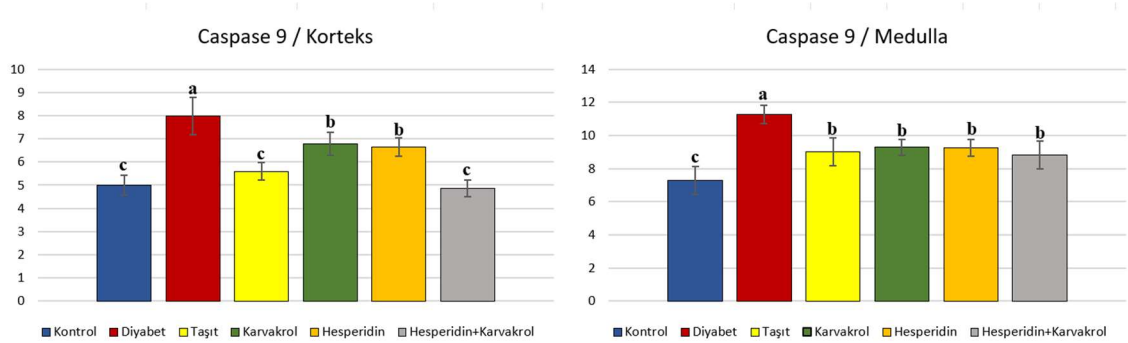
Diyabet grubundaki sıçanlarda, böbreklerin hem korteks hem de medulla bölgesindeki kaspaz-9 immunopozitiflik yüzdesinin diğer gruplardan daha fazla olduğu ($p<0,001$) belirlendi. D+CAR, D+HP gruplarının korteks immupozitiflik yüzdesinin D grubundan az K, T ve D+HP+CAR grubundan fazla olduğu dikkati çekti. D+CAR+HP grubunun korteks bölgesindeki immupozitiflik yüzdesinin D grubundan az, K ve T grubu ile istatistiksel olarak benzerlik sergilediği görüldü. D+CAR, D+HP, D+HP+CAR ve T gruplarının medulla bölgesindeki immunopozitiflik yüzdesinin D grubundan az, K grubundan daha fazla olduğu dikkati çekti (Şekil 4.22).

Tablo 4.19. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait kaspaz-9 boyanmalarının pozitif yüzdelерinin oranları

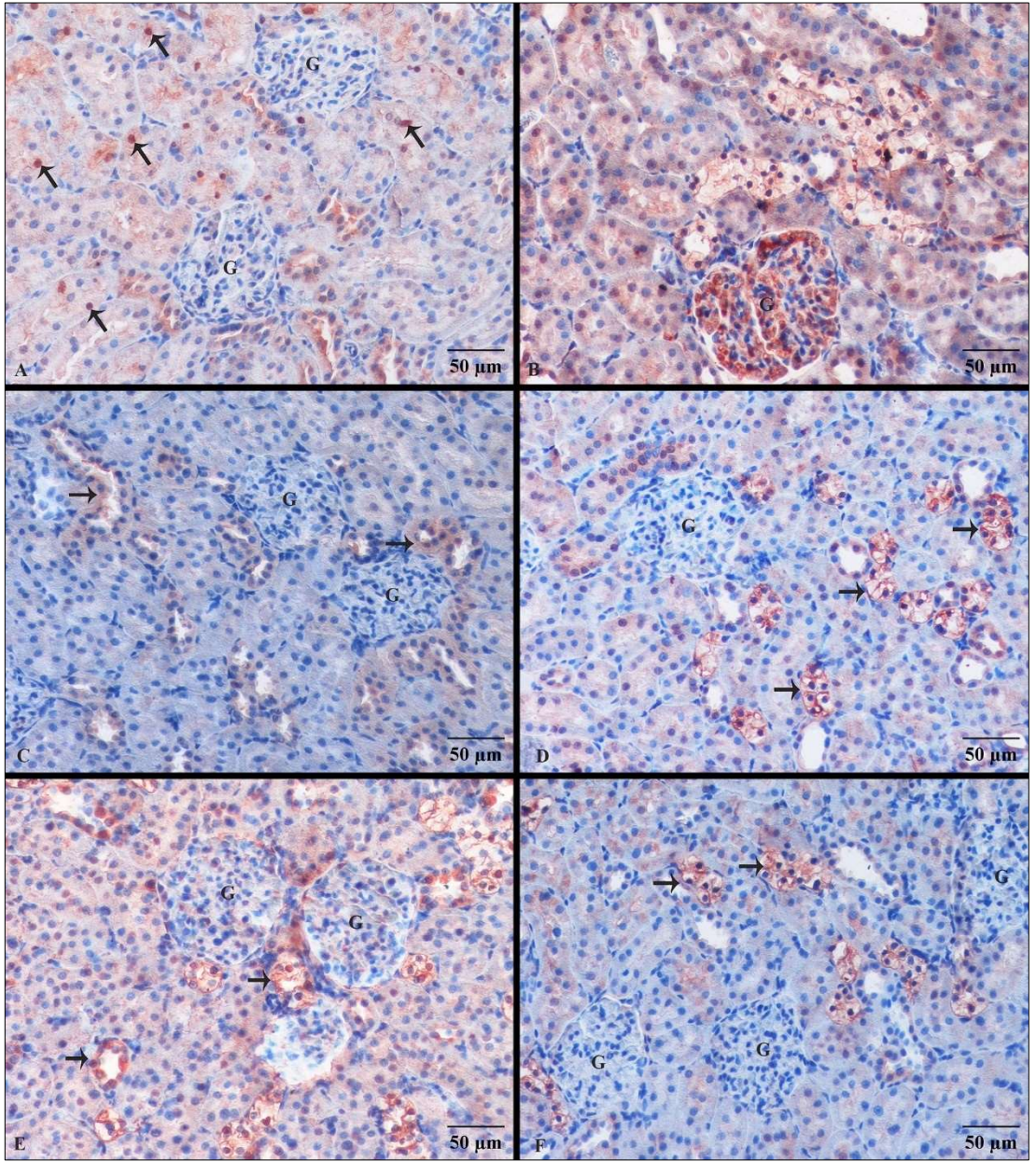
	Korteks	Medulla
Grup	Pozitif (%)	Pozitif (%)
K	5,00±0,44 ^c	7,28±0,85 ^c
D	7,99±0,80 ^a	11,27±0,57 ^a
T	5,59±0,37 ^c	9,03±0,84 ^b
D+CAR	6,78±0,49 ^b	9,30±0,48 ^b
D+HP	6,64±0,39 ^b	9,24±0,50 ^b
D+HP+CAR	4,86±0,35 ^c	8,80±0,84 ^b
p	<0,001	<0,001

a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$).

K: Kontrol, **D:** Diyabet, **T:** Taşıt, **D+CAR:** Diyabet+karvakrol, **D+HP:** Diyabet+hesperidin, **D+HP+CAR:** Diyabet+hesperidin+karvakrol

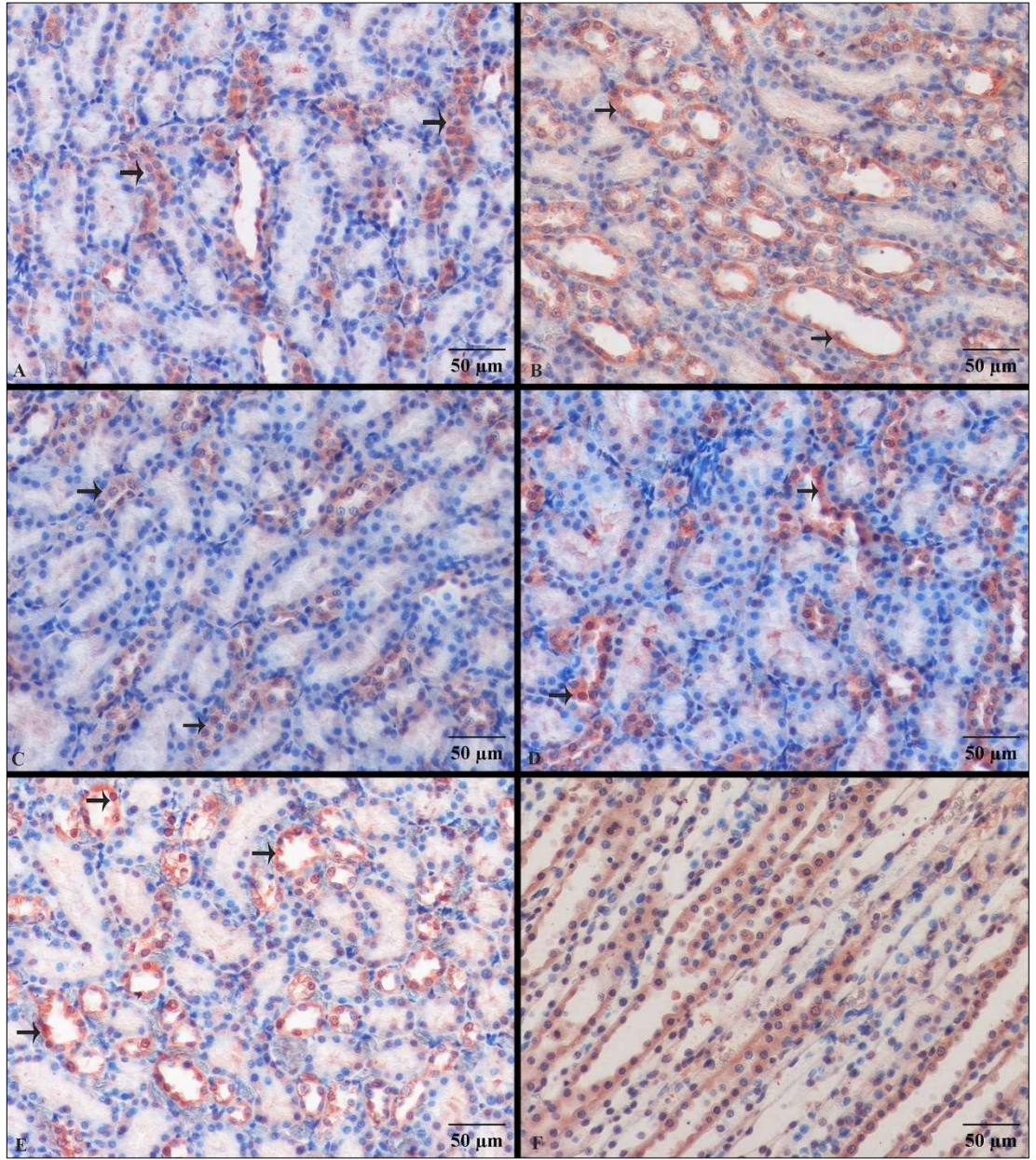


Şekil 4.22. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait kaspaz-9 boyanmalarının pozitif yüzdelерinin oranları



Şekil 4.23. Farklı deney gruplarının korteks bölgesine ait kaspaz-9 immunohistokimyasal boyanmaları.

A) Kontrol grubu, glomerulus (G), nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) B) Diyabet grubu, yoğun sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen glomerulus (G) C) Taşıt grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) D) Diyabet+Karvakrol grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar). Kaspaz-9 x200, Bar:50 µm



Şekil 4.24. Farklı deney gruplarının medulla bölgesine ait kaspaz-9 immunohistokimyasal boyanmaları. A) Kontrol grubu, sitoplazmik immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) B) Diyabet grubu, sitoplazmik immumopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) C) Taşıt grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) D) Diyabet+Karvakrol grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu, sitoplazmik ve nükleer immunopozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu. Kaspaz-9 x200, Bar:50 µm

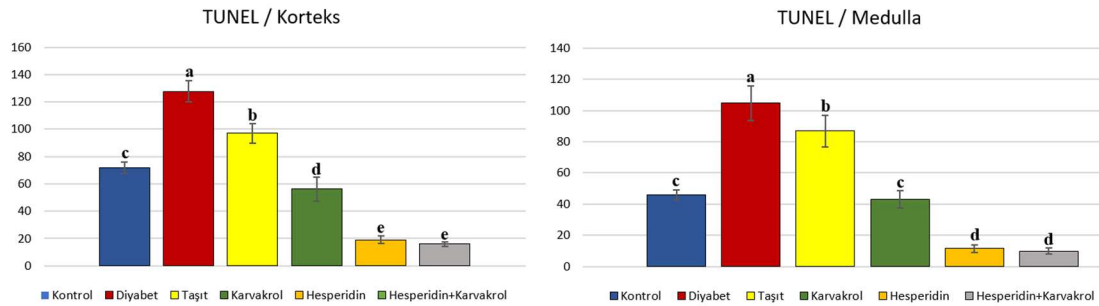
4.8. TUNEL Bulgular

TUNEL pozitif hücre sayımı sonuçları incelendiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu belirlendi ($p<0,001$). Böbrek korteksindeki pozitif hücre sayısı, D grubunun diğer tüm gruplardan daha fazla olduğu dikkati çekerken, D+HP ve D+HP+CAR grubunda en az sayıda olduğu dikkati çekti. Böbrek medullasında bulunan pozitif hücre sayısı bakımından, D grubu diğer tüm gruplara göre daha fazla iken, D+HP ve D+HP+CAR grubunda ise en az sayıda idi (Tablo 4.20 ve Şekil 4.25).

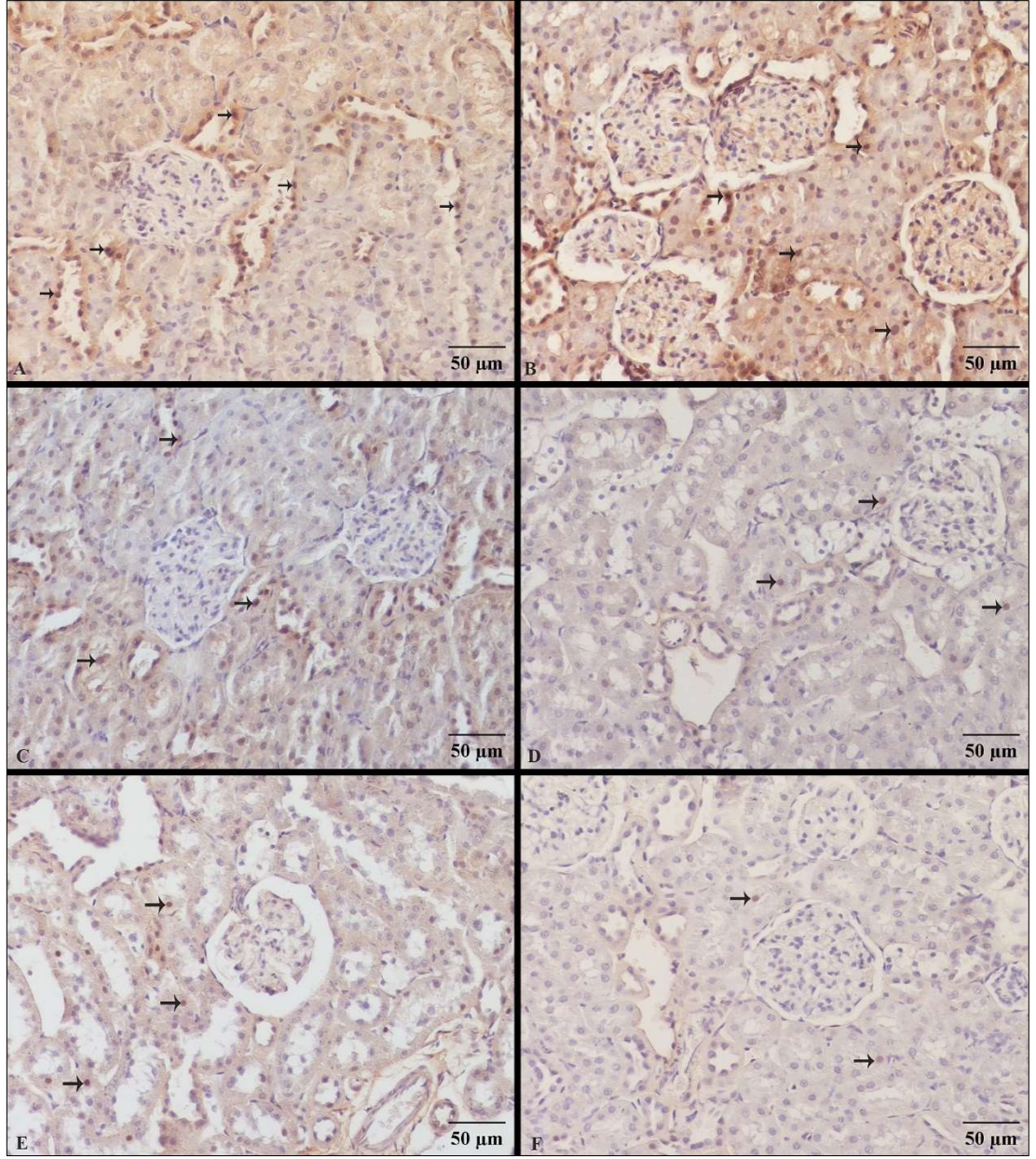
Tablo 4.20. Grupların korteks ve medulla bölgesine ait TUNEL boyaması

Grup	Korteks Pozitif	Medulla Pozitif
K	71,78±4,08 ^c	46,15±3,17 ^c
D	127,75±7,82 ^a	104,76±11,07 ^a
T	97,15±7,2 ^b	86,91±10,14 ^b
D+CAR	56,22±8,74 ^d	43,04±5,56 ^c
D+HP	19,11±2,94 ^e	11,65±2,39 ^d
D+HP+CAR	15,90±1,80 ^e	9,96±1,78 ^d
p	<0,001	<0,001

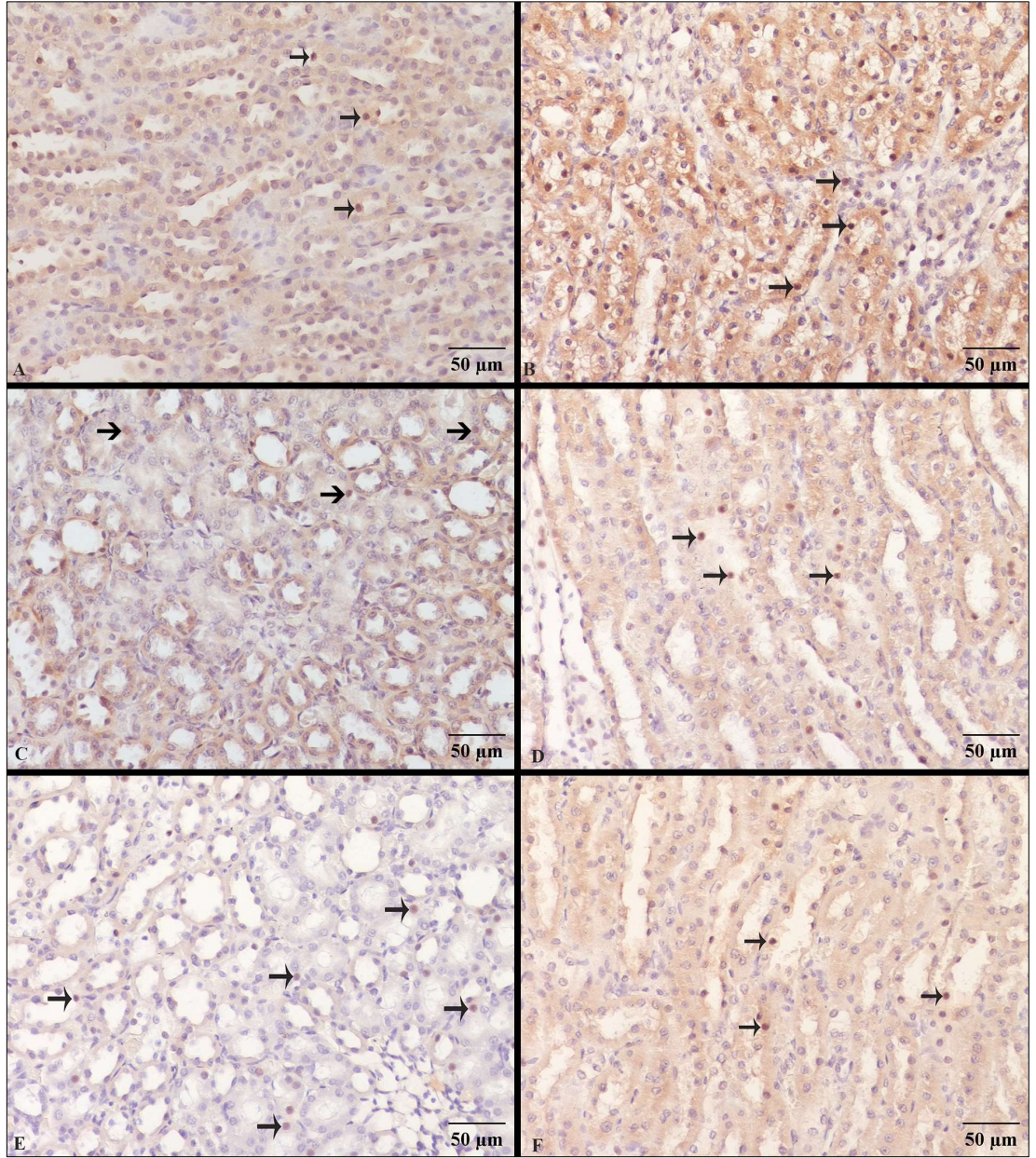
a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). a,b: Farklı harflerle gösterilen aynı sütunda bulunan harfler istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). K: Kontrol, D: Diyabet, T: Taşit, D+CAR: Diyabet+karvakrol, D+HP: Diyabet+hesperidin, D+HP+CAR: Diyabet+hesperidin+karvakrol



Şekil 4.25. Grupların korteks ve medulla bölgesine TUNEL pozitif hücre sayıları



Şekil 4.26. Farklı deney gruplarının korteks bölgesine ait TUNEL boyanmaları. A) Kontrol grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) B) Diyabet grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) C) Taşıt grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) D) Diyabet+Karvakrol grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar). TUNEL x200, Bar:50 µm



Şekil 4.27. Farklı deney gruplarının medulla bölgesine ait TUNEL boyanmaları. A) Kontrol grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) B) Diyabet grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) C) Taşıt grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) D) Diyabet+Karvakrol grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) E) Diyabet+Hesperidin grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar) F) Diyabet+Hesperidin+Karvakrol grubu, pozitiflik sergileyen tubul hücreleri (oklar). TUNEL x200, Bar:50 µm

5. TARTIŞMA

Yetersiz insülin salınımı veya hedef dokulardaki insülin direncine bağlı olarak organlara zarar veren DM, hiperglisemi ve glikozüri ile seyreden metabolik bir hastalıktır (Niwas Jangir and Chand Jain, 2014; Atta et al., 2017). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli sağlık sorunlarından biri olan ve multifaktöriyel etkenlerle meydana gelen DM'nin insidans oranı her geçen gün artmaktadır (Sampannang et al., 2018). DM son yıllarda kanser, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklarla birlikte ölümcüllüğü en yüksek hastalıklar arasında sayılmaktadır (Chauhan et al., 2010). Kandaki glukoz seviyesinin yüksek seyretmesi (hiperglisemi), başta gözler, böbrekler, kalp, kan damarları ve sinirler olmak üzere çeşitli dokularda kronik hasara ve işlev bozukluğuna neden olduğu bildirilmiştir (Skyler et al., 2017; McElwain et al., 2021). Diyabetin yaygın komplikasyonlarından biri olan DN, diyabetik hastaların en az %30'unu etkileyerek halk sağlığı üzerinde büyük bir yük oluşturmaktadır (Kanter and Bornfeldt, 2016). Karmaşık patolojik mekanizmaları içeren birçok faktör etkilendiğinden, DN'nin tedavisi için etkili ve spesifik ilaçların kullanımı sınırlıdır. Bu nedenle, DN'yi etkili bir şekilde tedavi etmek için kullanılabilecek ajanlar bulmak kritik önem taşımaktadır. Bugüne kadar doğal ürünlerin DN gelişimini engellemede önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Hu et al., 2021).

Streptozotosin (STZ) [2-deoksi-2-(3-metil-3-nitrosoüreido-D-glukopiranoz)], gram pozitif bir bakteri olan *Streptomyces achromogenes* tarafından sentezlenir. STZ ile indüklenen T1DM, DN dahil olmak üzere diyabet komplikasyonlarına karşı çeşitli ajanların antidiyabetik ve koruyucu etkinliğini araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Wu and Yan, 2015; Al-Rasheed et al., 2018; Al Hroob et al., 2018; Althunibat et al., 2019; Antar et al., 2022). STZ, pankreasta bulunan langerhans adacıklarının β -hücreleri için toksiktir ve aşırı ROS üretimine, NAD^+ 'nin tükenmesine, PARP aktivasyonuna ve DNA hasarına neden olarak ölümü tetikler, bu da insülin salınımının azalmasına ve hiperglisemiye neden olur (Zhang and Tan, 2000; Szkudelski, 2001). Tek doz intraperitoneal STZ enjeksiyonun (40-60 mg/kg BW) diyabet oluşturmada yeterli olduğu birçok çalışmada ortaya konulmuştur (El-Akabawy and El-Kholy, 2014; Kazeem et al., 2015; Tunçdemir et al., 2018). Mevcut çalışmada 50 mg/kg dozda intraperitoneal STZ uygulandı ve deneyin üçüncü gününde kuyruktan alınan kan ile sıçanların kan glukoz düzeyleri ölçülerek 250 mg/dl ve üzerinde olan

hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi. Ayrıca diyabet olduğu kabul edilmeyen hayvanların tek doz STZ (50 mg/kg BW) uygulanması tekrarlandı.

Diyabetes mellitus oluşturulan çalışmalarda polifaji ve polidipsi gösteren diyabetik sıçanlar, kontrol sıçanlarına kıyasla vücut ağırlığında önemli bir düşüş gösterdiği kaydedilmiştir. Diyabetik sıçanlarda vücut ağırlığının azalmasının nedeni olarak, enerji kaynağı olarak karbonhidratların kullanılamaması, yağların katabolizması nedeniyle protein kaybı ve doku proteinlerinin aşırı bozulmasına bağlı olabileceği öne sürülmektedir (Beckman et al., 2002; Montilla et al., 2004; Oršolić et al., 2011). Mevcut çalışma süresi boyunca sıçanların canlı ağırlıkları altı hafta boyunca ölçülmüştür. D+HP grubu hariç tüm grupların, deney başlangıcından deney sonuna kadar canlı ağırlıklarının arttığı kaydedilmiştir. Diyabet grubunun canlı ağırlık artışı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu değer daha az olduğu dikkati çekmiştir. D+HP ve D+CAR gruplarının canlı ağırlık artışının diyabet grubunun canlı ağırlık artışından daha az olduğu, D+HP+CAR grubunun canlı ağırlık artışı diyabet grubunun canlı ağırlık artışı ile benzer özellik sergilediği fark edilmiştir. Diyabetik hayvanlara hesperidin (50 mg/kg) ve karvakrolün (75 mg/kg) tek başına uygulandığı gruplarda yeteri kadar canlı ağırlık elde edilememesi bu maddelerin tek başına uygulanmasının canlı ağırlık artışı üzerine etkili olmadığı sonucuna varılırken, maddelerin bir arada uygulanmasının canlı ağırlık üzerinde daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda T1DM, STZ enjeksiyonu ile indüklenir ve bu hayvanlar genellikle poliüri, polidipsi, polifaji, dehidrasyon ve kilo kaybı gibi diyabetin tipik özelliklerini gösterir (Hoybergs et al., 2008; Wang et al., 2010). Sunulan çalışmada diyabet grubunun su tüketimin kontrol grubundan yaklaşık 3,5 kat daha fazla olduğu görülmüştür. D+HP, D+CAR ve D+HP+CAR gruplarının su tüketiminin diyabet grubundan az olduğu, fakat idrar miktarlarının diyabet grubundan daha fazla olduğu dikkati çekmiştir.

Diyabetin en belirgin semptomlarından birisi hiperglisemidir. Sunulan tez çalışmasında diyabetik grubun kan glukoz düzeyinin, kontrol grubundan daha fazla olduğu görülmüştür. D+HP ve D+CAR gruplarının kan glukoz düzeyi diyabet grubuyla istatistiksel olarak benzerlik sergilediği fakat iki maddenin bir arada uygulandığı D+HP+CAR grubunda kan glukoz düzeyinin diyabet grubundan daha az olduğu fark edilmiştir. Bu yönüyle bu maddelerin tek tek verilmesinin diyabetik hayvanlarda kan glukoz düzeyini düşürmede etkili olmadığı, fakat iki maddenin bir

arada uygulanmasının kan glukoz düzeyini düşürmede etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Diyabette meydana gelen hiperglisemi, renal hipertrofi ile karakterize diyabetik nefropatiye neden olmaktadır (Fogo, 2000; Sanai et al., 2000). Diyabetin böbrek ağırlığı üzerindeki etkisi konusunda çelişkili araştırma sonuçları bulunmaktadır. Diyabetik sıçanların kontrol grubuna kıyasla hipertrofiye bağlı olarak böbrek ağırlıklarında anlamlı bir artış bildirirken (Tunçdemir and Ozturk, 2008; Tunçdemir, Mirzataş et al., 2018), başka bir çalışmada diyabetli grubun böbrek ağırlıklarında diğer gruplara kıyasla fark olmadığı görülmüştür (Elbe et al., 2015). Sunulan çalışmada diyabetli grubun sağ ve sol böbreğinin rölatif ağırlığının kontrol grubundan fazla olduğu, D+HP, D+CAR ve D+HP+CAR gruplarının hem sağ hem de sol böbrek ağırlıklarının diyabet grubuyla istatistiksel olarak benzer oldukları dikkati çekmiştir. Bu yönüyle uygulanan maddelerin böbreğin rölatif ağırlığı üzerine herhangi bir etkisi olmadığı görülmüştür.

Fibrozis, ilerleyici kronik böbrek hastalıklarının bir işaretidir ve potansiyel olarak böbrek yetmezliğine yol açar. Hiperglisemi, fibrotik faktörlerin ekspresyonunu artırarak glomerüler filtrasyon bariyerinin hasar görmesine ve DN'ye neden olur (Audzeyenka et al., 2022). Diyabetin, böbreklerde fibrozis artışına neden olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (Chang et al., 2022). Sunulan çalışmada diyabetik hayvanların böbrek dokusundaki fibrozis oranının kontrol grubundan yüksek olduğu dikkati çekmiştir. Hesperidin ve karvakrol uygulanan grupların böbrek dokusu incelendiğinde fibrozis oranının diyabetik gruptan daha az olduğu görülmüştür. Bu maddelerin ayrı ayrı uygulandığında kan şekerinin düşmemiş olmasına rağmen böbrekte meydana gelen fibrozis oranını azaltması, bu maddelerin sahip olduğu antioksidan özelliklerin olasılıkla fibroze yol açan faktörlerin ekspresyonunu azaltmış olmasına bağlıdır.

Kan üre azotu (BUN) ve kreatinin (CRE) böbreklerden atılan metabolik atık ürünlerdir. Böbrek rahatsızlıklarında, BUN ve kreatinin düzeyleri artar. Diyabetin, BUN ve kreatinin düzeylerini farklı şekilde etkilediği çalışmalara rastlanılmıştır. Yapılan çalışmalarda diyabetik hayvanların BUN ve kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı (Lu et al., 2007), bir başka çalışmada bu değerlerin kontrol grubundan farklı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Choi et al., 2010). Yapılan diğer çalışmalarda diyabetik gruptaki BUN düzeyinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı, serum kreatinin düzeylerinde ise anlamlı bir artışın olmadığı kaydedilmiştir

(Almeida et al., 2012; Iskender, Dokumacioglu et al., 2017). STZ ile T2DM oluşturulmuş Sprague Dawley sıçanlarda, HP farklı dozlarda uygulanmış (50-100-200 mg/kg, oral gavaj, 4 hafta) ve diyabetle birlikte artan, BUN ve kreatinin seviyelerinde doza bağlı olarak anlamlı bir düşüş tespit edildiği bildirilmiştir (Jain & Somani, 2014). Dokumacioğlu ve ark. yapmış olduğu çalışmada, diyabet grubunda BUN ve kreatinin düzeylerinde artış, HP (100 mg/kg, oral gavaj, 2 hafta) uygulanan grupta BUN ve kreatininin düzeyinin anlamlı bir şekilde düştüğüne dikkati çekmişlerdir (Dokumacioglu et al., 2019). Sunulan çalışmada diyabetik grupta BUN düzeyinin, kontrol grubuna göre daha fazla olduğu; diğer araştırmacıların verileriyle örtüşmektedir (Lu, Yin et al., 2007; Almeida, Braga et al., 2012; Jain and Somani, 2014; Iskender, Dokumacioglu et al., 2017; Dokumacioglu, Iskender et al., 2019). Sunulan çalışmada D+HP grubunda BUN düzeyi diyabet grubu ile istatistiksel olarak benzerlik göstermesi, diğer çalışmalardan (Jain and Somani, 2014; Dokumacioglu, Iskender et al., 2019) ayrılmaktadır. Gruplar arasında serum kreatinin düzeyleri arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır. Hesperidin ve karvakrolün, böbrek fonksiyon belirteçlerinden olan BUN ve kreatinin düzeyleri üzerine etkili olamamasının nedeni olarak, kan glukoz düzeyininin yüksek seyretmesinden kaynaklanabileceğine yorumlanmıştır.

Sunulan çalışmanın histopatolojik sonuçları incelendiğinde diyabetik nefropatinin ikinci aşamasında olduğu görülmüştür. Bunun sebebinin deney süresinin 6 hafta (42 gün) gibi kısa bir süre olmasına bağlı olabileceğidir. DM ile ilgili yapılan çalışmalarda, tubulus ve glomeruluslarda dejenerasyon, tubuluslarda dilatasyon, tubuluslarda glikojen birikimi, tubulus bazal membranlarında kalınlaşma, glomerüllerde hipertrofi, mezangiyal matrikste artış, glomerüllerde hiyalinizasyon, glomeruloskleroz, glomerular bazal membranda kalınlaşma, bowman boşluğunun genişliğinin azalması ve Bowman kapsülünün parietal yaprağının kalınlaşması sık görülen histopatolojik değişikliklerdendir (Ozturk et al., 2005; Vardi et al., 2005). Sunulan çalışmada diyabet grubunun glomerulus boyutunun kontrol grubu ile benzer, diğer bütün gruplardan daha fazla olduğu dikkati çekmiştir. Diyabet grubunun glomeruluslarda mesangiyal matriks artışı ve tubuluslarda intraselüler vakuolizasyon yönünden değerlendirildiğinde diğer bütün gruplardan daha fazla olduğu görülmüştür. Uygulanan maddelerin özellikle tubuluslarda meydana gelen dejenerasyonu azalttığı ve glomeruluslarda mesangiyal matriks artışı engelleyici dikkati çekmiştir. Best Carmine, dokularda glikojen gibi makromolekül karbonhidratları gösteren özel bir

boyadır. Glikojen, glikozun birincil depolama formudur, müsin ve glikokonjugat oluşumu nedeniyle diyabetiklerde intraselüler olarak arttığı bilinmektedir (Latti et al., 2015). Glikojen birikimi şiddetli hiperglisemiye göstermektedir (Torbenson et al., 2006).

Apoptoz, çok hücreli organizmalarda meydana gelen programlanmış hücre ölümüdür. Apoptotik sürecin düzgün ilerlememesi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Susztak et al., 2006; Elsherbiny et al., 2015). Apoptotik süreç, sisteme bağımlı spesifik aspartat proteazlar veya kaspazlar olarak adlandırılan belirli proteinler tarafından düzenlenir. Kaspazlar apoptozun indüksiyonunda olduğu kadar apoptozun uygulama aşamasında ve diyabetik nefropatide merkezi bir rol oynar. Kaspaz bağımlı apoptoz, ekstrinsik ya da intrinsik yolla indüklenebilir. Ekstrinsik yol, Fas ligandı (FasL) veya TNF α gibi ölüme neden olan bir liganın plazma membranında karşılık gelen ölüm reseptörüyle (Fas reseptörü veya TNF reseptörü) etkileşime girmesini içerir. Bu ligandların ölüm reseptörlerine bağlanmasından sonra Fas ilişkili ölüm alanı (FADD) veya TNF reseptör ilişkili ölüm alanı (TRADD), prokaspaz 8'in ölüm efektör alanına dimerizasyon yoluyla bağlanır. Bu noktada prokaspaz 8'in otokatalitik aktivasyonu sonucunda ölüm indükleyici sinyal kompleksi (DISC) oluşur. DISC, efektör kaspazlar-3, -6 ve -7'yi aktive ederek doğrudan (Ashkenazi and Dixit, 1998; Walczak and Krammer, 2000) veya mitokondriye translokasyon üzerine mitokondriyal dış membran permeabilizasyonuna (MOMP) ve ardından sitokrom c gibi pro-apoptotik proteinlerin salınmasına yol açan Bid'in bölünmesi yoluyla dolaylı olarak ölüm sinyalini yayabilir (Li et al., 1998). Sitokrom c, kaspaz bağımlı intrinsik yolun bir parçasıdır ve apoptozom oluşturmak için apoptotik proteaz aktive edici faktör-1 (Apaf-1) ve prokaspaz 9 ile etkileşime girebilir. Bu kompleks kaspaz 9'u aktive edebilir ve bu da efektör kaspazlar 3, 6 ve 7'yi aktive ederek apoptoza yol açar (Zou et al., 1997). İkinci apoptotik yol, mitokondrinin merkezi düzenleyici olduğu intrinsik yoldur (Jin and El-Deiry, 2005). İntrinsik yol için geri dönüşü olmayan nokta, Bcl-2 protein ailesi tarafından kontrol edilen mitokondriyal dış membran permeabilizasyonu (MOMP) dur (Green and Kroemer, 2004). Bcl-2 proteinleri ya anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-X_L, Bcl-w) ya da pro-apoptotiktir (Bax, Bak, Bad, Bim) ve bu iki grup arasındaki denge hücre sağkalımını veya hücre ölümünü belirler. Özellikle pro-apoptotik aile üyesi Bax, mitokondriyal dış membranda sitokrom c gibi pro-apoptotik moleküllerin salınımını kolaylaştırabilen geçirgenlik geçiş gözenek kompleksi (PTPC) ve mitokondriyal apoptoz ile indüklenen

kanal (MAC) gibi kanallar oluşturmak için diğer proteinlerle oligomerleşebildiği veya kompleksler oluşturabildiği için önemlidir (Liu et al., 1996; Crompton, 2000; Kinnally and Antonsson, 2007).

Akut veya kronik hiperglisemi oksidatif strese yol açar ve bu durum hem hayvan deneylerinde hem de in vitro hücre kültürü sistemlerinde ortaya konduğu gibi tubuler ve glomerüler hücreleri apoptoza götürür (Nishikawa et al., 2000; Brownlee, 2001; Ha et al., 2008). Hipergliseminin, Bax aracılı mitokondriyal geçirgenlik ve ardından sitokrom c salınımı yoluyla mezangiyal hücrelerin ROS'a bağlı apoptozuna neden olduğu bildirilmiştir (Kang et al., 2003). Murin ve insan renal mezangiyal hücrelerinde yüksek glukoz düzeyinin, mitokondriden sitokrom c salınımı ve ardından pro-apoptotik kaspaz-3 aktivasyonu ile ilişkili olarak Bax/Bcl-2 oranının artmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (Kang et al., 2003). Renal tubuler epitel hücrelerinde hipergliseminin yol açtığı oksidatif stres, Bcl-2 ekspresyonunun azalmasına, Bax protein ekspresyonunun artmasına neden olmuştur (Verzola et al., 2002). Bu veriler, diyabette pro-apoptotik Bax gen ekspresyonunun arttığı, anti-apoptotik Bcl-2 ve Bcl-X_L ekspresyonunun ise azaldığı yönündeki daha önceki bulgularla uyumludur (Ortiz et al., 1997). Farklı kaspazlar, özellikle de kaspaz-3 ve -9, proksimal tubul epitel hücrelerinin yüksek glukozla indüklenen apoptozunda önemli bir rol oynamaktadır (Allen, Harwood et al., 2003). Mevcut çalışmada STZ'nin sıçanlarda renal dokuda apoptozu indüklediği dikkati çekti. Bu yönüyle literatürde yapılan çoğu çalışma ile benzerlik sergilediği görülmüştür (Mohany et al., 2022). İmmunohistokimyasal bulgulara göre, diyabet grubunun korteks ve medulla bölgesindeki Bcl-2 immunopozitifliğin kontrol grubu ile istatistiksel olarak benzerlik sergilediği, diğer tüm gruplarda bu oranın hem diyabet hem de kontrol grubundan daha fazla olduğu dikkati çekmiştir. Pro-apoptotik proteinlerden biri olan Bax'ın diyabet grubunda en fazla immunopozitiflik sergilediği, en az immunopozitifliğin hesperidin ve karvakrolün bir arada uygulandığı grupta olduğu görülmüştür.

DNA kırıklarının in situ olarak tanınmasını sağlayan TUNEL tekniği hücrelerde apoptozisin varlığını belirlemek için sıklıkla kullanılmaktadır. Hücreler apoptoza uğradığında, endonükleaz enzimleri nükleozomlar arasındaki genomik DNA'yı kesmek için aktive olur. Genomik DNA bölündüğünde, açığa çıkan 3'-OH, Terminal Deoksinükleotidil Transferaz (TdT) katalizörlüğüne bağlı olarak biyotinlenmiş dUTP (Biyotin-dUTP) eklenebilir ve ardından horseradish peroksidase (HRP) etiketli Streptavidin (Streptavidin-HRP) bağlanabilir. Daha sonra HRP katalizi sayesinde

apoptotik hücreler DAB ile işaretlenir. TUNEL tekniği, doku kesitlerinde apoptozu belirlemek için sıklıkla kullanılmasına rağmen, aktif gen transkripsiyonu veya nekroz gibi belirli koşullar altında apoptotik olmayan hücreleri işaretleyebilmektedir. Bu yüzden, TUNEL tekniğinin spesifikliğı ve değeriendirilmesi tartışmalıdır (Levin et al., 1999; Duan et al., 2003; Gulbahar et al., 2011; Guvenç et al., 2013). Sıçanlarda yüksek doz glukoz uygulamasının, proksimal-distal tubullerde, glomerüller ve intersitisyel hücrelerde apoptozu indüklediğı dikkati çekmiştir (Ortiz, 2000). STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda Henle kulpu ve tubullerin epitel hücrelerinde TUNEL pozitif hücreler bildirilmiştir. Tubullerde apoptotik hücreler görölmesine rağmen glomerüllerde apoptotik hücreye rastlanılmamıştır (Kumar et al., 2004; Tunçdemir and Ozturk, 2008). Tunçdemir ve Ozturk (2008), diyabetik grupta böbrek tubullerindeki apoptotik hücre oranındaki artışın kan glukoz seviyelerindeki artışa paralel olduğunu tespit etmişlerdir. Sunulan çalışmada hem korteks hem de medullada en fazla TUNEL pozitif hücre sayısı diyabetik grupta görölmüştür. TUNEL pozitif hücreler özellikle proksimal, distal, toplayıcı tubuller ve Henle kulpunda saptanmıştır. Hem korteks hem de medulla da TUNEL pozitif hücrelerin en az olduğı grup D+HP+CAR grubuydu. Bulgular ışığında HP ve CAR uygulanan gruplarda hücre ölümü belirteçlerinden biri olan TUNEL pozitif hücrelerin azaldığı böylelikle böbrek üzerinde koruyucu rol oynadığı sonucuna varılmıştır.

Yapılan literatür taramasına göre bu çalışma, STZ ile T1DM oluşturulan deneysel diyabetik nefropati modelinde hesperidin ve karvakrol uygulamalarının apoptozla ilişkili proteinler (Bcl-2, Bax, kaspaz-3 ve kaspaz-9) arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmadır. Diyabetik nefropatide hipergliseminin apoptotik proteinlerin ekspresyonunu etkilediğini ve böbrek dokusu hasarına neden olduğunu daha önceki yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Hesperidin ve karvakrol uygulanan gruplarda kan glukoz seviyelerinde herhangi bir değışim olmasa da renal hemodinamiğın düzenlenmesiyle ilgili yollar üzerinde renoprotektif etkiler göröldü. Bu antioksidan maddelerin birlikte kullanılması, böbrek dokusunda hücre apoptozunu etkili bir şekilde inhibe ederek böbrek dokusu hasarı üzerinde faydalı bir etkiye sahip olduğuna yorumlanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İnsan ve hayvanlarda yaygın olarak gözlenen diyabet en önemli endokrin hastalıklardandır. Diyabetin insidansı özellikle değişen yaşam tarzı ve obeziteye bağlı olarak artmaktadır. Hipoglisemik ilaçlar ve insülin kullanımı diyabetin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda diyabetin tedavisinde ve komplikasyonlarının önlenmesinde bitkisel ürünlerin kullanımı artmaktadır. Bitkisel tedavilerin bu gibi kronik rahatsızlıklarda daha az yan etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmada sıçanlarda STZ ile oluşturulmuş deneysel diyabet modelinde hesperidin ve karvakrolün diyabetik nefropati üzerine etkileri incelenmiş olup, karvakrol ve hesperidin özellikle birlikte kullanımının diyabetik nefropatide meydana gelen apoptozisin engellenmesinde etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Yapılan çalışmada bütçe yetersizliği nedeniyle sınırlamaların olduğunu belirtmek isteriz. Yaygın olarak kullanılan deneysel hayvan hastalık modelleri her ne kadar insandakine benzer etkiler gösterse de çoğu zaman ideal model olmayabilmektedir. Diyabet oluşturmada kullandığımız STZ, böbrek hasarı dışında sistemik etkileri bulunan zararlı maddedir ve bu sistemik etkiler, elde ettiğimiz sonuçları etkileyebilmektedir. Ayrıca, çalışmamızda RT-PCR ve Western Blot gibi ileri teknikler değerlendirilememiştir. Daha ileri tekniklerin yapıldığı ilave çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılacak ileri düzeydeki çalışmalar, böbrekte diyabete bağlı olarak ortaya çıkan sorunların mekanizmalarını çözmede, hesperidin ve karvakrolün diyabetik nefropati üzerindeki koruyucu etki mekanizmalarının anlaşılmasında rol oynayacaktır.

KAYNAKLAR

- Adams, J.M. & Cory, S. (1998). The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science*, 281(5381), 1322-1326.
- Adegate, E. (2004). Molecular and cellular basis of the aetiology and management of diabetic cardiomyopathy: a short review. *Molecular and cellular biochemistry*, 261(1-2), 187-191.
- Agrawal, Y.O., Sharma, P.K., Shrivastava, B., Ojha, S., Upadhyay, H.M., Arya, D.S. & Goyal, S.N. (2014). Hesperidin produces cardioprotective activity via PPAR- γ pathway in ischemic heart disease model in diabetic rats. *PloS one*, 9(11), e111212.
- Agte, V. & Gite, S. (2019). Diabetic cataract and role of antiglycating phytochemicals. 271-290.
- Ahmed, O.M., Mahmoud, A.M., Abdel-Moneim, A. & Ashour, M.B. (2012). Antidiabetic effects of hesperidin and naringin in type 2 diabetic rats. *Diabetologia croatica*, 41(2), 53-67.
- Akiyama, S., Katsumata, S.-i., Suzuki, K., Ishimi, Y., Wu, J. & Uehara, M. (2009). Dietary hesperidin exerts hypoglycemic and hypolipidemic effects in streptozotocin-induced marginal type 1 diabetic rats. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 46(1), 87-92.
- Akiyama, S., Katsumata, S.-i., Suzuki, K., Nakaya, Y., Ishimi, Y. & Uehara, M. (2009). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of hesperidin and cyclodextrin-clathrated hesperetin in Goto-Kakizaki rats with type 2 diabetes. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 73(12), 2779-2782.
- Al-Malki, A.L. (2014). Assessment of urinary osteopontin in association with podocyte for early predication of nephropathy in diabetic patients. *Disease markers*, 2014.
- Al-Rasheed, N.M., Al-Rasheed, N.M., Bassiouni, Y.A., Hasan, I.H., Al-Amin, M.A., Al-Ajmi, H.N. & Mahmoud, A.M. (2018). Simvastatin ameliorates diabetic nephropathy by attenuating oxidative stress and apoptosis in a rat model of streptozotocin-induced type 1 diabetes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105(290-298).
- Al Hroob, A.M., Abukhalil, M.H., Alghonmeen, R.D. & Mahmoud, A.M. (2018). Ginger alleviates hyperglycemia-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis and protects rats against diabetic nephropathy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106(381-389).
- Alberti, K.G. & Zimmet, P.Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*, 15(7), 539-553.
- Ali Asgar, M. (2013). Anti-diabetic potential of phenolic compounds: A review. *International Journal of Food Properties*, 16(1), 91-103.
- Allen, D.A., Harwood, S.M., Varagunam, M., Raftery, M.J. & Yaqoob, M.M. (2003). High glucose-induced oxidative stress causes apoptosis in proximal tubular epithelial cells and is mediated by multiple caspases. *The FASEB journal*, 17(8), 1-21.
- Almeida, D.A.T.d., Braga, C.P., Novelli, E.L.B. & Fernandes, A.A.H. (2012). Evaluation of lipid profile and oxidative stress in STZ-induced rats treated with antioxidant vitamin. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(527-536).
- Althunibat, O.Y., Al Hroob, A.M., Abukhalil, M.H., Germoush, M.O., Bin-Jumah, M. & Mahmoud, A.M. (2019). Fisetin ameliorates oxidative stress, inflammation and apoptosis in diabetic cardiomyopathy. *Life sciences*, 221(83-92).

- Alu'Datt, M.H., Rababah, T., Alhamad, M.N., Al-Mahasneh, M.A., Ereifej, K., Al-Karaki, G., Al-Duais, M., Andrade, J.E., Tranchant, C.C. & Kubow, S. (2017). Profiles of free and bound phenolics extracted from Citrus fruits and their roles in biological systems: Content, and antioxidant, anti-diabetic and anti-hypertensive properties. *Food & Function*, 8(9), 3187-3197.
- Amin, R., Turner, C., van Aken, S., Bahu, T.K., Watts, A., Lindsell, D.R., Dalton, R.N. & Dunger, D.B. (2005). The relationship between microalbuminuria and glomerular filtration rate in young type 1 diabetic subjects: The Oxford Regional Prospective Study. *Kidney international*, 68(4), 1740-1749.
- Antar, S.A., Abdo, W., Taha, R.S., Farage, A.E., El-Moselhy, L.E., Amer, M.E., Monsef, A.S.A., Hamid, A.M.A., Kamel, E.M. & Ahmeda, A.F. (2022). Telmisartan attenuates diabetic nephropathy by mitigating oxidative stress and inflammation, and upregulating Nrf2/HO-1 signaling in diabetic rats. *Life sciences*, 291(120260).
- Arigesavan, K. & Sudhandiran, G. (2015). Carvacrol exhibits anti-oxidant and anti-inflammatory effects against 1, 2-dimethyl hydrazine plus dextran sodium sulfate induced inflammation associated carcinogenicity in the colon of Fischer 344 rats. *Biochemical and biophysical research communications*, 461(2), 314-320.
- Aristatile, B., Al-Numair, K.S., Al-Assaf, A.H., Veeramani, C. & Pugalandi, K.V. (2015). Protective effect of carvacrol on oxidative stress and cellular DNA damage induced by UVB irradiation in human peripheral lymphocytes. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 29(11), 497-507.
- Arora, M.K. & Singh, U.K. (2013). Molecular mechanisms in the pathogenesis of diabetic nephropathy: an update. *Vascular pharmacology*, 58(4), 259-271.
- Arslan, D., Merdin, A., Tural, D., Temizel, M., Akın, O., Gündüz, Ş., Tatlı, A.M., Avcı, F. & Uysal, M. (2014). The effect of autoimmunity on the development time of microvascular complications in patients with type 1 diabetes mellitus. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 20(1176).
- Ashkenazi, A. & Dixit, V.M. (1998). Death receptors: signaling and modulation. *Science*, 281(5381), 1305-1308.
- Atta, M.S., Almadaly, E.A., El-Far, A.H., Saleh, R.M., Assar, D.H., Al Jaouni, S.K. & Mousa, S.A. (2017). Thymoquinone defeats diabetes-induced testicular damage in rats targeting antioxidant, inflammatory and aromatase expression. *International journal of molecular sciences*, 18(5), 919.
- Audzeyenka, I., Bierżyńska, A. & Lay, A.C. (2022). Podocyte bioenergetics in the development of diabetic nephropathy: The role of mitochondria. *Endocrinology*, 163(1), bqab234.
- Badri, S., Dashti-Khavidaki, S., Lessan-Pezeshki, M. & Abdollahi, M. (2011). A review of the potential benefits of pentoxifylline in diabetic and non-diabetic proteinuria. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 14(1), 128-137.
- Barnwal, P., Vafa, A., Afzal, S., Shahid, A., Hasan, S., Alpashree & Sultana, S. (2018). Benzo (a) pyrene induces lung toxicity and inflammation in mice: prevention by carvacrol. *Human & Experimental Toxicology*, 37(7), 752-761.
- Bayramoglu, G., Senturk, H., Bayramoglu, A., Uyanoglu, M., Colak, S., Ozmen, A. & Kolankaya, D. (2014). Carvacrol partially reverses symptoms of diabetes in STZ-induced diabetic rats. *Cytotechnology*, 66(251-257).
- Beckman, J.A., Creager, M.A. & Libby, P. (2002). Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *Jama*, 287(19), 2570-2581.

- Bjornstad, P., Cherney, D.Z., Snell-Bergeon, J.K., Pyle, L., Rewers, M., Johnson, R.J. & Maahs, D.M. (2015). Rapid GFR decline is associated with renal hyperfiltration and impaired GFR in adults with Type 1 diabetes. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 30(10), 1706-1711.
- Brosius, F.C. & Coward, R.J. (2014). Podocytes, signaling pathways, and vascular factors in diabetic kidney disease. *Advances in chronic kidney disease*, 21(3), 304-310.
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865), 813-820.
- Can Baser, K. (2008). Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current pharmaceutical design*, 14(29), 3106-3119.
- Card, J.W. & Magnuson, B.A. (2011). A review of the efficacy and safety of nanoparticle-based oral insulin delivery systems. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 301(6), G956-G967.
- Casellini, C.M. & Vinik, A.I. (2007). Clinical manifestations and current treatment options for diabetic neuropathies. *Endocrine Practice*, 13(5), 550-566.
- Ceriello, A. (2010). Hyperglycaemia and the vessel wall: the pathophysiological aspects on the atherosclerotic burden in patients with diabetes. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*, 17(1_suppl), s15-s19.
- Chaillous, L., Lefèvre, H., Thivolet, C., Boitard, C., Lahlou, N., Atlan-Gepner, C., Bouhanick, B., Mogenet, A., Nicolino, M. & Carel, J.-C. (2000). Oral insulin administration and residual (β -cell function in recent-onset type 1 diabetes: a multicentre randomised controlled trial. *The Lancet*, 356(9229), 545-549.
- Chang, J., Zheng, J., Gao, X., Dong, H., Yu, H., Huang, M., Sun, Z. & Feng, X. (2022). TangShenWeiNing Formula Prevents Diabetic Nephropathy by Protecting Podocytes Through the SIRT1/HIF-1 α Pathway. *Frontiers in Endocrinology*, 13(888611).
- Chauhan, A., Sharma, P., Srivastava, P., Kumar, N. & Dudhe, R. (2010). Plants having potential antidiabetic activity: a review. *Der Pharmacia Lettre*, 2(3), 369-387.
- Chen, J.-S., Lee, H.-S., Jin, J.-S., Chen, A., Lin, S.-H., Ka, S.-M. & Lin, Y.-F. (2004). Attenuation of mouse mesangial cell contractility by high glucose and mannitol: involvement of protein kinase C and focal adhesion kinase. *Journal of Biomedical Science*, 11(142-151).
- Chenet, A.L., Duarte, A.R., de Almeida, F.J.S., Andrade, C.M.B. & de Oliveira, M.R. (2019). Carvacrol depends on heme oxygenase-1 (HO-1) to exert antioxidant, anti-inflammatory, and mitochondria-related protection in the human neuroblastoma SH-SY5Y cells line exposed to hydrogen peroxide. *Neurochemical research*, 44(884-896).
- Chiba, H., Uehara, M., Wu, J., Wang, X., Masuyama, R., Suzuki, K., Kanazawa, K. & Ishimi, Y. (2003). Hesperidin, a citrus flavonoid, inhibits bone loss and decreases serum and hepatic lipids in ovariectomized mice. *The Journal of nutrition*, 133(6), 1892-1897.
- Choi, J.S., Yokozawa, T. & Oura, H. (1991). Improvement of hyperglycemia and hyperlipemia in streptozotocin-diabetic rats by a methanolic extract of *Prunus davidiana* stems and its main component, prunin. *Planta medica*, 57(03), 208-211.
- Choi, Y.E., Ahn, S.K., Lee, W.T., Lee, J.E., Park, S.H., Yoon, B.B. & Park, K.A. (2010). Soybeans Ameliorate Diabetic Nephropathy in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 7(4), 433-440.
- Choudhary, M. & Grover, K. (2012). Development of functional food products in relation to obesity. *Functional Foods in Health and Disease*, 2(6), 188-197.

- Chow, F., Ozols, E., Nikolic-Paterson, D.J., Atkins, R.C. & Tesch, G.H. (2004). Macrophages in mouse type 2 diabetic nephropathy: correlation with diabetic state and progressive renal injury. *Kidney international*, 65(1), 116-128.
- Chow, F.Y., Nikolic-Paterson, D.J., Atkins, R.C. & Tesch, G.H. (2004). Macrophages in streptozotocin-induced diabetic nephropathy: potential role in renal fibrosis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 19(12), 2987-2996.
- Cory, S. & Adams, J.M. (2002). The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Reviews Cancer*, 2(9), 647-656.
- Coward, R. & Fornoni, A. (2015). Insulin signaling: implications for podocyte biology in diabetic kidney disease. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 24(1), 104.
- Crompton, M. (2000). Bax, Bid and the permeabilization of the mitochondrial outer membrane in apoptosis. *Current opinion in cell biology*, 12(4), 414-419.
- de Souza Rugolo, L.M.S., Bentlin, M.R. & Trindade, C.E.P. (2011). Preeclampsia: effect on the fetus and newborn. *NeoReviews*, 12(4), e198-e206.
- Dkhil, M.A., Zrieq, R., Al-Quraishy, S. & Abdel Moneim, A.E. (2016). Selenium nanoparticles attenuate oxidative stress and testicular damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecules*, 21(11), 1517.
- Dokumacioglu, E., Iskender, H. & Musmul, A. (2019). Effect of hesperidin treatment on α -Klotho/FGF-23 pathway in rats with experimentally-induced diabetes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109(1206-1210).
- Dokumacioglu, E., Iskender, H., Sen, T.M., Ince, I., Dokumacioglu, A., Kanbay, Y., Erbas, E. & Saral, S. (2018). The effects of hesperidin and quercetin on serum tumor necrosis factor- α and interleukin-6 levels in streptozotocin-induced diabetes model. *Pharmacognosy Magazine*, 14(54), 167.
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.
- Duan, W.R., Garner, D.S., Williams, S.D., Funckes-Shippy, C.L., Spath, I.S. & Blomme, E.A. (2003). Comparison of immunohistochemistry for activated caspase-3 and cleaved cytokeratin 18 with the TUNEL method for quantification of apoptosis in histological sections of PC-3 subcutaneous xenografts. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 199(2), 221-228.
- Eckhard, M., Lengler, A., Liersch, J., Bretzel, R. & Mayser, P. (2007). Fungal foot infections in patients with diabetes mellitus—results of two independent investigations. *Mycoses*, 50(14-19).
- Edelstein, C.L. (2008). Mammalian target of rapamycin and caspase inhibitors in polycystic kidney disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 3(4), 1219-1226.
- Edwards, J.L., Vincent, A.M., Cheng, H.T. & Feldman, E.L. (2008). Diabetic neuropathy: mechanisms to management. *Pharmacology & therapeutics*, 120(1), 1-34.
- El-Akabawy, G. & El-Kholy, W. (2014). Neuroprotective effect of ginger in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Annals of anatomy-Anatomischer anzeiger*, 196(2-3), 119-128.
- El Nahas, A.M., ZooB, S.N., Evans, D.J. & Rees, A.J. (1987). Chronic renal failure after nephrotoxic nephritis in rats: contributions to progression. *Kidney international*, 32(2), 173-180.

- Elbe, H., Vardi, N., Esrefoglu, M., Ates, B., Yologlu, S. & Taskapan, C. (2015). Amelioration of streptozotocin-induced diabetic nephropathy by melatonin, quercetin, and resveratrol in rats. *34*(1),100-113.
- Elsherbiny, N.M., Al-Gayyar, M.M. & Abd El Galil, K.H. (2015). Nephroprotective role of dipyridamole in diabetic nephropathy: Effect on inflammation and apoptosis. *Life sciences*, 143(8-17).
- Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition research*, 24(10), 851-874.
- Ezhumalai, M., Radhiga, T. & Pugalendi, K.V. (2014). Antihyperglycemic effect of carvacrol in combination with rosiglitazone in high-fat diet-induced type 2 diabetic C57BL/6J mice. *Molecular and cellular biochemistry*, 385(23-31).
- Ezz-Eldin, Y.M., Aboseif, A.A. & Khalaf, M.M. (2020). Potential anti-inflammatory and immunomodulatory effects of carvacrol against ovalbumin-induced asthma in rats. *Life sciences*, 242(117222).
- Fajans, S.S., Bell, G.I. & Polonsky, K.S. (2001). Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *New England Journal of Medicine*, 345(13), 971-980.
- Fioretto, P., Caramori, M. & Mauer, M. (2008). The kidney in diabetes: dynamic pathways of injury and repair. The Camillo Golgi Lecture 2007. *Diabetologia*, 51(1347-1355).
- Fioretto, P. & Mauer, M. (2007). Histopathology of diabetic nephropathy. *Journal*. 27, 195-207.
- Fioretto, P., Stehouwer, C., Mauer, M., Chiesura-Corona, M., Brocco, E., Carraro, A., Bortoloso, E., Van Hinsbergh, V., Crepaldi, G. & Nosadini, R. (1998). Heterogeneous nature of microalbuminuria in NIDDM: studies of endothelial function and renal structure. *Diabetologia*, 41(233-236).
- Fogo, A.B. (2000). Glomerular hypertension, abnormal glomerular growth, and progression of renal diseases. *Kidney international*, 57(S15-S21).
- Furuta, T., Saito, T., Ootaka, T., Soma, J., Obara, K., Abe, K. & Yoshinaga, K. (1993). The role of macrophages in diabetic glomerulosclerosis. *American Journal of Kidney Diseases*, 21(5), 480-485.
- Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L. & Singla, A. (2001). Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapy Research*, 15(8), 655-669.
- Genco, R.J., Grossi, S.G., Ho, A., Nishimura, F. & Murayama, Y. (2005). A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *Journal of periodontology*, 76(2075-2084).
- Genuth, S. & KG, A. (2003). bennett P, buse J, Defronzo R, Kahn R, et al. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 26(3160-3167).
- Gorodezky, C., Alaez, C., Murguía, A., Rodríguez, A., Balladares, S., Vazquez, M., Flores, H. & Robles, C. (2006). HLA and autoimmune diseases: Type 1 diabetes (T1D) as an example. *Autoimmunity reviews*, 5(3), 187-194.
- Green, D.R. & Kroemer, G. (2004). The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science*, 305(5684), 626-629.
- Group, N.D.D. (1979). Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes*, 28(12), 1039-1057.

- Guimarães, A.G., Oliveira, G.F., Melo, M.S., Cavalcanti, S.C., Antonioli, A.R., Bonjardim, L.R., Silva, F.A., Santos, J.P.A., Rocha, R.F. & Moreira, J.C.F. (2010). Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 107(6), 949-957.
- Gulbahar, M.Y., Kabak, Y.B., Karayigit, M.O., Yarim, M., Guvenc, T. & Parlak, U. (2011). The expressions of HSP70 and α B-crystallin in myocarditis associated with foot-and-mouth disease virus in lambs. *Journal of Veterinary Science*, 12(1), 65-73.
- Guvenc, D., Kabak, Y., Atmaca, E., Aksoy, A. & Guvenc, T. (2013). Examination of caspase-dependent apoptotic and necrotic changes in rat kidney exposed to different doses of permethrin. *Biotechnic & Histochemistry*, 88(2), 76-85.
- Ha, H., Hwang, I.-A., Park, J.H. & Lee, H.B. (2008). Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Diabetes research and clinical practice*, 82(S42-S45).
- Ha, H., Yu, M.R., Choi, Y.J., Kitamura, M. & Lee, H.B. (2002). Role of high glucose-induced nuclear factor- κ B activation in monocyte chemoattractant protein-1 expression by mesangial cells. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13(4), 894-902.
- Hakimi, Z., Salmani, H., Marefati, N., Arab, Z., Gholamnezhad, Z., Beheshti, F., Shafei, M.N. & Hosseini, M. (2020). Protective effects of carvacrol on brain tissue inflammation and oxidative stress as well as learning and memory in lipopolysaccharide-challenged rats. *Neurotoxicity Research*, 37(965-976).
- Halimi, J.-M. (2012). The emerging concept of chronic kidney disease without clinical proteinuria in diabetic patients. *Diabetes & metabolism*, 38(4), 291-297.
- Han, J., Thompson, P. & Beutler, B. (1990). Dexamethasone and pentoxifylline inhibit endotoxin-induced cachectin/tumor necrosis factor synthesis at separate points in the signaling pathway. *The Journal of experimental medicine*, 172(1), 391-394.
- Hanchang, W., Khamchan, A., Wongmanee, N. & Seedadee, C. (2019). Hesperidin ameliorates pancreatic β -cell dysfunction and apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rat model. *Life sciences*, 235(116858).
- Haneda, M., Polonsky, K.S., Bergental, R.M., Jaspan, J.B., Shoelson, S.E., Blix, P.M., Chan, S.J., Kwok, S.C., Wishner, W.B. & Zeidler, A. (1984). Familial hyperinsulinemia due to a structurally abnormal insulin: definition of an emerging new clinical syndrome. *New England Journal of Medicine*, 310(20), 1288-1294.
- Haneda, M., Utsunomiya, K., Koya, D., Babazono, T., Moriya, T., Makino, H., Kimura, K., Suzuki, Y., Wada, T. & Ogawa, S. (2015). A new classification of diabetic nephropathy 2014: a report from joint committee on diabetic nephropathy. *Journal of diabetes investigation*, 6(2), 242-246.
- Hanedan, B., Ozkaraca, M., Kirbas, A., Kandemir, F.M., Aktas, M.S., Kilic, K., Comakli, S., Kucukler, S. & Bilgili, A. (2018). Investigation of the effects of hesperidin and chrysin on renal injury induced by colistin in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108(1607-1616).
- Harris, M.I., Flegal, K.M., Cowie, C.C., Eberhardt, M.S., Goldstein, D.E., Little, R.R., Wiedmeyer, H.-M. & Byrd-Holt, D.D. (1998). Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in US adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *Diabetes care*, 21(4), 518-524.
- Hewage, S.R.K.M., Piao, M.J., Kang, K.A., Ryu, Y.S., Han, X., Oh, M.C., Jung, U., Kim, I.G. & Hyun, J.W. (2016). Hesperidin attenuates ultraviolet B-induced apoptosis by mitigating oxidative stress in human keratinocytes. *Biomolecules & therapeutics*, 24(3), 312.

- Higgins, G.C. & Coughlan, M.T. (2014). Mitochondrial dysfunction and mitophagy: the beginning and end to diabetic nephropathy? *British journal of pharmacology*, 171(8), 1917-1942.
- Hirata, K., Shikata, K., Matsuda, M., Akiyama, K., Sugimoto, H., Kushiro, M. & Makino, H. (1998). Increased expression of selectins in kidneys of patients with diabetic nephropathy. *Diabetologia*, 41(185-192).
- Hsu, F.-L., Liu, I.-M., Kuo, D.-H., Chen, W.-C., Su, H.-C. & Cheng, J.-T. (2003). Antihyperglycemic effect of puerarin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Natural products*, 66(6), 788-792.
- Hu, Q., Qu, C., Xiao, X., Zhang, W., Jiang, Y., Wu, Z., Song, D., Peng, X., Ma, X. & Zhao, Y. (2021). Flavonoids on diabetic nephropathy: Advances and therapeutic opportunities. *Chinese medicine*, 16(1), 1-17.
- Ibrahim, S. (2008). Protective effect of hesperidin, a citrus bioflavonoid, on diabetes-induced brain damage in rats. *Journal of Applied Sciences Research*, 4(84-95).
- Iskender, H., Dokumacioglu, E., Sen, T.M., Ince, I., Kanbay, Y. & Saral, S. (2017). The effect of hesperidin and quercetin on oxidative stress, NF- κ B and SIRT1 levels in a STZ-induced experimental diabetes model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90(500-508).
- Jain, D.P. & Somani, R.S. (2014). Hesperidin ameliorates streptozotocin and high-fat diet induced diabetic nephropathy in rats. *Journal of Experimental & Integrative Medicine*, 4(4).
- Jayaraman, R., Subramani, S., Abdullah, S.H.S. & Udaiyar, M. (2018). Antihyperglycemic effect of hesperetin, a citrus flavonoid, extenuates hyperglycemia and exploring the potential role in antioxidant and antihyperlipidemic in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97(98-106).
- Jin, Z. & El-Deiry, W.S. (2005). Overview of cell death signaling pathways. *Cancer biology & therapy*, 4(2), 147-171.
- Jun, H.S. & Yoon, J.W. (2003). A new look at viruses in type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 19(1), 8-31.
- Jung, U.J., Lee, M.-K., Jeong, K.-S. & Choi, M.-S. (2004). The hypoglycemic effects of hesperidin and naringin are partly mediated by hepatic glucose-regulating enzymes in C57BL/KsJ-db/db mice. *The Journal of nutrition*, 134(10), 2499-2503.
- Kakadiya, J., Mulani, H. & Shah, N. (2010). Protective effect of hesperidin on cardiovascular complication in experimentally induced myocardial infarction in diabetes in rats. *Journal of basic and clinical pharmacology*, 1(2), 85.
- Kakadiya, J., Patel, D. & Shah, N. (2010). Effect of hesperidin on renal complication in experimentally induced renal damage in diabetic sprague dawley rats. *Journal of Ecobiotechnology*, 2(2).
- Kaneto, H., Katakami, N., Kawamori, D., Miyatsuka, T., Sakamoto, K.y., Matsuoka, T.-A., Matsuhisa, M. & Yamasaki, Y. (2007). Involvement of oxidative stress in the pathogenesis of diabetes. *Antioxidants & redox signaling*, 9(3), 355-366.
- Kang, B.P., Frencher, S., Reddy, V., Kessler, A., Malhotra, A. & Meggs, L.G. (2003). High glucose promotes mesangial cell apoptosis by oxidant-dependent mechanism. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 284(3), F455-F466.
- Kang, B.P., Urbonas, A., Baddoo, A., Baskin, S., Malhotra, A. & Meggs, L.G. (2003). IGF-1 inhibits the mitochondrial apoptosis program in mesangial cells exposed to high glucose. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 285(5), F1013-F1024.

- Kanter, J.E. & Bornfeldt, K.E. (2016). Impact of diabetes mellitus. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 36(6), 1049-1053.
- Karvonen, M., Tuomilehto, J., Libman, I. & LaPorte, R. (1993). A review of the recent epidemiological data on the worldwide incidence of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. World Health Organization Diamond project Group. *Diabetologia*, 36(10), 883-892.
- Kaul, K., Tarr, J.M., Ahmad, S.I., Kohner, E.M. & Chibber, R. (2013). Introduction to diabetes mellitus. *Diabetes: an old disease, a new insight*, 1-11.
- Kazeem, M.I., Akanji, M.A. & Yakubu, M.T. (2015). Amelioration of pancreatic and renal derangements in streptozotocin-induced diabetic rats by polyphenol extracts of Ginger (*Zingiber officinale*) rhizome. *Pathophysiology*, 22(4), 203-209.
- King, H., Aubert, R.E. & Herman, W.H. (1998). Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes care*, 21(9), 1414-1431.
- Kinnally, K.W. & Antonsson, B. (2007). A tale of two mitochondrial channels, MAC and PTP, in apoptosis. *Apoptosis*, 12(857-868).
- Kirimer, N., Tabanca, N., Özek, T., Tümen, G. & Baser, K. (2000). Essential oils of annual *Sideritis* species growing in Turkey. *Pharmaceutical biology*, 38(2), 106-111.
- Kishore, L., Kaur, N. & Singh, R. (2017). Nephroprotective effect of *Paeonia emodi* via inhibition of advanced glycation end products and oxidative stress in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic nephropathy. *Journal of food and drug analysis*, 25(3), 576-588.
- Kumar, D., Zimpelmann, J., Robertson, S. & Burns, K.D. (2004). Tubular and interstitial cell apoptosis in the streptozotocin-diabetic rat kidney. *Nephron experimental nephrology*, 96(3), e77-e88.
- Kurata, Y., Fukushima, S., Hagiwara, A., Ito, H., Ogawa, K. & Ito, N. (1990). Carcinogenicity study of methyl hesperidin in B6C3F1 mice. *Food and chemical toxicology*, 28(9), 613-618.
- Lagouri, V., Tsimidou, M., Kokkini-Gkouzkouni, S., Boskou, D.-C. & Blekas, G. (1993). Composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in Greece. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 197(20-23).
- Lampropoulou, I.-T., Stangou, M., Papagianni, A., Didangelos, T., Iliadis, F. & Efstratiadis, G. (2014). TNF- α and microalbuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of diabetes research*, 2014.
- Latti, B.R., Birajdar, S.B. & Latti, R.G. (2015). Periodic Acid Schiff-Diastase as a key in Exfoliative cytology in diabetics: A pilot study. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*, 19(2), 188.
- Lee, B., Yeom, M., Shim, I., Lee, H. & Hahm, D.-h. (2020). Inhibitory effect of carvacrol on lipopolysaccharide-induced memory impairment in rats. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 24(1), 27-37.
- Levin, S., Bucci, T.J., Cohen, S.M., Fix, A.S., Hardisty, J.F., Legrand, E.K., Maronpot, R.R. & Trump, B.F. (1999). The nomenclature of cell death: recommendations of an ad hoc Committee of the Society of Toxicologic Pathologists. *Toxicologic pathology*, 27(4), 484-490.
- Li, H., Zhu, H., Xu, C.-j. & Yuan, J. (1998). Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell*, 94(4), 491-501.

- Lindley, S., Dayan, C.M., Bishop, A., Roep, B.O., Peakman, M. & Tree, T.I. (2005). Defective suppressor function in CD4⁺ CD25⁺ T-cells from patients with type 1 diabetes. *Diabetes*, 54(1), 92-99.
- Liu, W.Y., Liou, S.-S., Hong, T.-Y. & Liu, I.-M. (2017). Protective effects of hesperidin (citrus flavonone) on high glucose induced oxidative stress and apoptosis in a cellular model for diabetic retinopathy. *Nutrients*, 9(12), 1312.
- Liu, X., Kim, C.N., Yang, J., Jemmerson, R. & Wang, X. (1996). Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. *Cell*, 86(1), 147-157.
- Lu, Q., Yin, X.-x., Wang, J.-y., Gao, Y.-y. & Pan, Y.-m. (2007). Effects of Ginkgo biloba on prevention of development of experimental diabetic nephropathy in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 28(6), 818-828.
- Luna, L.G. (1968). Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology.
- Magee, G.M., Bilous, R., Cardwell, C.R., Hunter, S.J., Kee, F. & Fogarty, D.G. (2009). Is hyperfiltration associated with the future risk of developing diabetic nephropathy? A meta-analysis. *Diabetologia*, 52(691-697).
- Mahmoud, A.M., Ashour, M.B., Abdel-Moneim, A. & Ahmed, O.M. (2012). Hesperidin and naringin attenuate hyperglycemia-mediated oxidative stress and proinflammatory cytokine production in high fat fed/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Journal of Diabetes and its Complications*, 26(6), 483-490.
- Malterud, K.E. & Rydland, K.M. (2000). Inhibitors of 15-lipoxygenase from orange peel. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11), 5576-5580.
- Mas-Capdevila, A., Teichenne, J., Domenech-Coca, C., Caimari, A., Del Bas, J.M., Escoté, X. & Crescenti, A. (2020). Effect of hesperidin on cardiovascular disease risk factors: The role of intestinal microbiota on hesperidin bioavailability. *Nutrients*, 12(5), 1488.
- Masharani, U. (2005). Diabetes mellitus and hypoglycemia. *Current medical diagnosis and treatment*, 1157-1201.
- Mbese, Z. & Aderibigbe, B.A. (2018). Biological efficacy of carvacrol analogues. *Recent patents on anti-infective drug discovery*, 13(3), 207-216.
- McElwain, C.J., McCarthy, F.P. & McCarthy, C.M. (2021). Gestational diabetes mellitus and maternal immune dysregulation: what we know so far. *International journal of molecular sciences*, 22(8), 4261.
- Mezzano, S., Droguett, A., Burgos, M.E., Ardiles, L.G., Flores, C.A., Aros, C.A., Caorsi, I., Vío, C.P., Ruiz-Ortega, M. & Egido, J. (2003). Renin-angiotensin system activation and interstitial inflammation in human diabetic nephropathy. *Kidney international*, 64(S64-S70).
- Mogensen, C., Christensen, C. & Vittinghus, E. (1983). The stages in diabetic renal disease: with emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes*, 32(64-78).
- Mohany, M., Ahmed, M.M. & Al-Rejaie, S.S. (2022). The Role of NF-κB and Bax/Bcl-2/Caspase-3 Signaling Pathways in the Protective Effects of Sacubitril/Valsartan (Entresto) against HFD/STZ-Induced Diabetic Kidney Disease. *Biomedicines*, 10(11), 2863.
- Montilla, P., Barcos, M., Muñoz, M.C., Muñoz-Castañeda, J.R., Bujalance, I. & Túnez, I. (2004). Protective effect of Montilla-Moriles appellation red wine on oxidative stress induced by streptozotocin in the rat. *The Journal of nutritional biochemistry*, 15(11), 688-693.

- Moriya, T., Tsuchiya, A., Okizaki, S.-i., Hayashi, A., Tanaka, K. & Shichiri, M. (2012). Glomerular hyperfiltration and increased glomerular filtration surface are associated with renal function decline in normo- and microalbuminuric type 2 diabetes. *Kidney international*, 81(5), 486-493.
- Muskiet, M.H., Smits, M.M., Morsink, L.M. & Diamant, M. (2014). The gut–renal axis: do incretin-based agents confer renoprotection in diabetes? *Nature Reviews Nephrology*, 10(2), 88-103.
- Nakagawa, T., Tanabe, K., Croker, B.P., Johnson, R.J., Grant, M.B., Kosugi, T. & Li, Q. (2011). Endothelial dysfunction as a potential contributor in diabetic nephropathy. *Nature Reviews Nephrology*, 7(1), 36-44.
- Natarajan, N., Thamaraiselvan, R., Lingaiah, H., Srinivasan, P. & Periyasamy, B.M. (2011). Effect of flavonone hesperidin on the apoptosis of human mammary carcinoma cell line MCF-7. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 1(3), 207-215.
- National Collaborating Centre for Chronic, C. (2004). National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance.
- National Collaborating Centre for Chronic, C. (2008). National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance.
- Navarro-González, J.F., Mora-Fernández, C., De Fuentes, M.M. & García-Pérez, J. (2011). Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nature Reviews Nephrology*, 7(6), 327-340.
- Nelson, R., Knowler, W., McCance, D., Sievers, M., Pettitt, D., Charles, M., Hanson, R., Liu, Q. & Bennett, P. (1993). Determinants of end-stage renal disease in Pima Indians with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and proteinuria. *Diabetologia*, 36(1087-1093).
- Nguyen, D., Ping, F., Mu, W., Hill, P., Atkins, R.C. & Chadban, S.J. (2006). Macrophage accumulation in human progressive diabetic nephropathy. *Nephrology*, 11(3), 226-231.
- Nishikawa, T., Edelstein, D., Du, X.L., Yamagishi, S.-i., Matsumura, T., Kaneda, Y., Yorek, M.A., Beebe, D., Oates, P.J. & Hammes, H.-P. (2000). Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*, 404(6779), 787-790.
- Niwas Jangir, R. & Chand Jain, G. (2014). Diabetes mellitus induced impairment of male reproductive functions: a review. *Current diabetes reviews*, 10(3), 147-157.
- Nyenwe, E.A., Jerkins, T.W., Umpierrez, G.E. & Kitabchi, A.E. (2011). Management of type 2 diabetes: evolving strategies for the treatment of patients with type 2 diabetes. *Metabolism*, 60(1), 1-23.
- Ong, K.C. & Khoo, H.-E. (1996). Insulinomimetic effects of myricetin on lipogenesis and glucose transport in rat adipocytes but not glucose transporter translocation. *Biochemical pharmacology*, 51(4), 423-429.
- Organization, W.H. (2006). Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia: report of a WHO/IDF consultation.
- Oršolić, N., Gajski, G., Garaj-Vrhovac, V., Đikić, D., Prskalo, Z.Š. & Sirovina, D. (2011). DNA-protective effects of quercetin or naringenin in alloxan-induced diabetic mice. *European journal of pharmacology*, 656(1-3), 110-118.
- Ortiz, A. (2000). Apoptotic regulatory proteins in renal injury. *Kidney international*, 58(1), 467-485.

- Ortiz, A., Ziyadeh, F.N. & Neilson, E.G. (1997). Expression of apoptosis-regulatory genes in renal proximal tubular epithelial cells exposed to high ambient glucose and in diabetic kidneys. *Journal of investigative medicine: the official publication of the American Federation for Clinical Research*, 45(2), 50-56.
- Ozturk, F., Iraz, M., Esrefoglu, M., Kurus, M., Gul, M. & Otlu, A. (2005). The histologic alterations of experimental diabetes on the rat kidneys. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 12(1), 1-4.
- Ozturk, H., Cetinkaya, A., Duzcu, S.E., Tekce, B.K. & Ozturk, H. (2018). Carvacrol attenuates histopathologic and functional impairments induced by bilateral renal ischemia/reperfusion in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 98(656-661).
- Pagtalunan, M.E., Miller, P.L., Jumping-Eagle, S., Nelson, R.G., Myers, B.D., Rennke, H.G., Coplon, N.S., Sun, L. & Meyer, T.W. (1997). Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 99(2), 342-348.
- Parhiz, H., Roohbakhsh, A., Soltani, F., Rezaee, R. & Iranshahi, M. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phytotherapy Research*, 29(3), 323-331.
- Park, C.W. (2014). Diabetic kidney disease: from epidemiology to clinical perspectives. *Diabetes & metabolism journal*, 38(4), 252-260.
- Peleg, A.Y., Weeraratna, T., McCarthy, J.S. & Davis, T.M. (2007). Common infections in diabetes: pathogenesis, management and relationship to glycaemic control. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 23(1), 3-13.
- Perkins, R.M., Aboudara, M.C., Uy, A.L., Olson, S.W., Cushner, H.M. & Yuan, C.M. (2009). Effect of pentoxifylline on GFR decline in CKD: a pilot, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *American Journal of Kidney Diseases*, 53(4), 606-616.
- Pessin, J.E. & Saltiel, A.R. (2000). Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*, 106(2), 165-169.
- Piecha, G., Kokeny, G., Nakagawa, K., Koleganova, N., Geldyyev, A., Berger, I., Ritz, E., Schmitt, C.P. & Gross, M.-L. (2008). Calcimimetic R-568 or calcitriol: equally beneficial on progression of renal damage in subtotaly nephrectomized rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 294(4), F748-F757.
- Pozzilli, P. & Leslie, R. (1994). Infections and diabetes: mechanisms and prospects for prevention. *Diabetic Medicine*, 11(10), 935-941.
- Premaratne, E., Macisaac, R.J., Tsalamandris, C., Panagiotopoulos, S., Smith, T. & Jerums, G. (2005). Renal hyperfiltration in type 2 diabetes: effect of age-related decline in glomerular filtration rate. *Diabetologia*, 48(2486-2493).
- Premaratne, E., Verma, S., Ekinci, E.I., Theverkalam, G., Jerums, G. & MacIsaac, R.J. (2015). The impact of hyperfiltration on the diabetic kidney. *Diabetes & metabolism*, 41(1), 5-17.
- Reidy, K., Kang, H.M., Hostetter, T. & Susztak, K. (2014). Molecular mechanisms of diabetic kidney disease. *The Journal of clinical investigation*, 124(6), 2333-2340.
- Reutens, A.T. (2013). Epidemiology of diabetic kidney disease. *Med Clin North Am*, 97(1), 1-18.
- Rivero, A., Mora, C., Muros, M., García, J., Herrera, H. & Navarro-González, J.F. (2009). Pathogenic perspectives for the role of inflammation in diabetic nephropathy. *Clinical science*, 116(6), 479-492.

- Rodríguez-Iturbe, B., Pons, H., Herrera-Acosta, J. & Johnson, R.J. (2001). Role of immunocompetent cells in nonimmune renal diseases. *Kidney international*, 59(5), 1626-1640.
- Romagnani, P. & Remuzzi, G. (2013). Renal progenitors in non-diabetic and diabetic nephropathies. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 24(1), 13-20.
- Rudberg, S. & Osterby, R. (1997). Decreasing glomerular filtration rate-an indicator of more advanced diabetic glomerulopathy in the early course of microalbuminuria in IDDM adolescents? *Nephrology Dialysis Transplantation*, 12(6), 1149-1154.
- Ruiz-Ortega, M., Lorenzo, O., Rupérez, M., Esteban, V., Mezzano, S. & Egido, J. (2001). Renin-angiotensin system and renal damage: emerging data on angiotensin II as a proinflammatory mediator. *Contributions to Nephrology*, 135(123-137).
- Rutledge, J.C., Ng, K.F., Aung, H.H. & Wilson, D.W. (2010). Role of triglyceride-rich lipoproteins in diabetic nephropathy. *Nature Reviews Nephrology*, 6(6), 361-370.
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., Colagiuri, S., Guariguata, L., Motala, A.A. & Ogurtsova, K. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice*, 157(107843).
- Saiprasad, G., Chitra, P., Manikandan, R. & Sudhandiran, G. (2014). Hesperidin induces apoptosis and triggers autophagic markers through inhibition of Aurora-A mediated phosphoinositide-3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin and glycogen synthase kinase-3 beta signalling cascades in experimental colon carcinogenesis. *European journal of cancer*, 50(14), 2489-2507.
- Salomon, B., Lenschow, D.J., Rhee, L., Ashourian, N., Singh, B., Sharpe, A. & Bluestone, J.A. (2000). B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4⁺ CD25⁺ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity*, 12(4), 431-440.
- Samarghandian, S., Farkhondeh, T., Samini, F. & Borji, A. (2016). Protective effects of carvacrol against oxidative stress induced by chronic stress in rat's brain, liver, and kidney. *Biochemistry research international*, 2016.
- Sampannang, A., Arun, S., Burawat, J., Sukhorum, W. & Iamsaard, S. (2018). Testicular histopathology and phosphorylated protein changes in mice with diabetes induced by multiple-low doses of streptozotocin: An experimental study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 16(4), 235.
- Sanai, T., Sobka, T., Johnson, T., El-Essawy, M., Muchaneta-Kubara, E., Ben Gharbia, O., Oldroyd, S.e. & El Nahas, A. (2000). Expression of cytoskeletal proteins during the course of experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia*, 43(91-100).
- Santhakumari, P., Prakasam, A. & Pugalendi, K. (2003). Modulation of oxidative stress parameters by treatment with Piper betle leaf in streptozotocin induced diabetic rats. *Indian Journal of pharmacology*, 35(6), 373.
- Schwartzman, R.A. & Cidlowski, J.A. (1993). Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine reviews*, 14(2), 133-151.
- Selby, J.V., Fitz-Simmons, S.C., Newman, J.M., Katz, P.P., Sepe, S. & Showstack, J. (1990). The natural history and epidemiology of diabetic nephropathy: implications for prevention and control. *Jama*, 263(14), 1954-1960.
- Sharifi-Rad, M., Varoni, E.M., Iriti, M., Martorell, M., Setzer, W.N., del Mar Contreras, M., Salehi, B., Soltani-Nejad, A., Rajabi, S. & Tajbakhsh, M. (2018). Carvacrol and human health: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*, 32(9), 1675-1687.

- Shi, X., Liao, S., Mi, H., Guo, C., Qi, D., Li, F., Zhang, C. & Yang, Z. (2012). Hesperidin prevents retinal and plasma abnormalities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecules*, 17(11), 12868-12881.
- Shi, Y. (2002). Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis. *Molecular cell*, 9(3), 459-470.
- Shisheva, A. & Shechter, Y. (1992). Quercetin selectively inhibits insulin receptor function in vitro and the bioresponses of insulin and insulinomimetic agents in rat adipocytes. *Biochemistry*, 31(34), 8059-8063.
- Shoorei, H., Khaki, A., Khaki, A.A., Hemmati, A.A., Moghimian, M. & Shokoohi, M. (2019). The ameliorative effect of carvacrol on oxidative stress and germ cell apoptosis in testicular tissue of adult diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111(568-578).
- Simone, S., Gorin, Y., Velagapudi, C., Abboud, H.E. & Habib, S.L. (2008). Mechanism of oxidative DNA damage in diabetes: tuberin inactivation and downregulation of DNA repair enzyme 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine-DNA glycosylase. *Diabetes*, 57(10), 2626-2636.
- Singh, A.K., Mo, W., Dunea, G. & Arruda, J.A. (1998). Effect of glycated proteins on the matrix of glomerular epithelial cells. *Journal of the American Society of Nephrology*, 9(5), 802-810.
- Siwy, J., Schanstra, J.P., Argiles, A., Bakker, S.J., Beige, J., Boucek, P., Brand, K., Delles, C., Duranton, F. & Fernandez-Fernandez, B. (2014). Multicentre prospective validation of a urinary peptidome-based classifier for the diagnosis of type 2 diabetic nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 29(8), 1563-1570.
- Skyler, J.S., Bakris, G.L., Bonifacio, E., Darsow, T., Eckel, R.H., Groop, L., Groop, P.-H., Handelsman, Y., Insel, R.A. & Mathieu, C. (2017). Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes*, 66(2), 241-255.
- Steffes, M.W., Schmidt, D., McCreary, R. & Basgen, J.M. (2001). Glomerular cell number in normal subjects and in type 1 diabetic patients. *Kidney international*, 59(6), 2104-2113.
- Stehouwer, C.A., Zeldenrust, G., den Ottolander, G.H., Hackeng, W., Donker, A. & Nauta, J. (1992). Urinary albumin excretion, cardiovascular disease, and endothelial dysfunction in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *The lancet*, 340(8815), 319-323.
- Stehouwer, C.D., Stroes, E.S., Hackeng, W.H., Mulder, P.G. & Den Ottolander, G.J. (1991). von Willebrand factor and development of diabetic nephropathy in IDDM. *Diabetes*, 40(8), 971-976.
- Sung, S.H., Ziyadeh, F.N., Wang, A., Pyagay, P.E., Kanwar, Y.S. & Chen, S. (2006). Blockade of vascular endothelial growth factor signaling ameliorates diabetic albuminuria in mice. *Journal of the American Society of Nephrology*, 17(11), 3093-3104.
- Susztak, K., Raff, A.C., Schiffer, M. & Bottinger, E.P. (2006). Glucose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. *Diabetes*, 55(1), 225-233.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 50(6), 537-546.
- Tamilselvam, K., Braidy, N., Manivasagam, T., Essa, M.M., Prasad, N.R., Karthikeyan, S., Thenmozhi, A.J., Selvaraju, S. & Guillemin, G.J. (2013). Neuroprotective effects of hesperidin, a plant flavanone, on rotenone-induced oxidative stress and apoptosis in a cellular model for Parkinson's disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013.
- Tavafi, M. (2013). Complexity of diabetic nephropathy pathogenesis and design of investigations. *Journal of renal injury prevention*, 2(2), 59.

- Tavafi, M. (2013). Diabetic nephropathy and antioxidants. *Journal of nephropathology*, 2(1), 20-27.
- Tervaert, T.W.C., Mooyaart, A.L., Amann, K., Cohen, A.H., Cook, H.T., Drachenberg, C.B., Ferrario, F., Fogo, A.B., Haas, M. & De Heer, E. (2010). Pathologic classification of diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 21(4), 556-563.
- Thallas-Bonke, V., Thorpe, S.R., Coughlan, M.T., Fukami, K., Yap, F.Y., Sourris, K.C., Penfold, S.A., Bach, L.A., Cooper, M.E. & Forbes, J.M. (2008). Inhibition of NADPH oxidase prevents advanced glycation end product-mediated damage in diabetic nephropathy through a protein kinase C- α -dependent pathway. *Diabetes*, 57(2), 460-469.
- Tirkey, N., Pilkhwai, S., Kuhad, A. & Chopra, K. (2005). Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC pharmacology*, 5(1-8).
- Torbenson, M., Chen, Y.-Y., Brunt, E., Cummings, O.W., Gottfried, M., Jakate, S., Liu, Y.-C., Yeh, M.M. & Ferrell, L. (2006). Glycogenic hepatopathy: an underrecognized hepatic complication of diabetes mellitus. *The American journal of surgical pathology*, 30(4), 508-513.
- Treuting, P.M., Dintzis, S. & Montine, K.S. (2017). Comparative anatomy and histology: a mouse, rat, and human atlas.
- Tritos, N.A. & Mantzoros, C.S. (1998). Clinical review 97: Syndromes of severe insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*, 83(9), 3025-3030.
- Tunçdemir, M., Mirzataş, E.B. & Hafize, U. (2018). Renoprotective potential of quercetin in experimental diabetic nephropathy: assessing antiapoptotic and antioxidant effects. *Archives of Clinical and Experimental Medicine*, 3(3), 179-185.
- Tunçdemir, M. & Ozturk, M. (2008). The effects of ACE inhibitor and angiotensin receptor blocker on clusterin and apoptosis in the kidney tissue of streptozotocin-diabetic rats. *Journal of molecular histology*, 39(605-616).
- Urizar, R.E., Schwartz, A., Top Jr, F., Vernier, R.L. & Sisson, S.P. (1969). The nephrotic syndrome in children with diabetes mellitus of recent onset: Report of five cases. *New England Journal of Medicine*, 281(4), 173-181.
- Vardi, N., Iraz, M., Ozturk, F., Ucar, M., Gul, M., Esrefoglu, M. & Otlı, A. (2005). Improving effects of melatonin on the histologic alterations of rat kidneys induced by experimental diabetes. *Annals of Medical Research*, 12(3), 145-152.
- Vasudeva, N., Yadav, N. & Sharma, S.K. (2012). Natural products: a safest approach for obesity. *Chinese journal of integrative medicine*, 18(6), 473-480.
- Vazquez, J.A. & Sobel, J.D. (1995). Fungal infections in diabetes. *Infectious Disease Clinics of North America*, 9(1), 97-116.
- Velho, G. & Froguel, P. (1997). Maturity-onset diabetes of the young (MODY), MODY genes and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes & metabolism*, 23(34-37).
- Verzola, D., Bertolotto, M.B., Villaggio, B., Ottonello, L., Dallegrı, F., Frumento, G., Berruti, V., Gandolfo, M.T., Garibotto, G. & Deferrari, G. (2002). Taurine prevents apoptosis induced by high ambient glucose in human tubule renal cells. *Journal of investigative medicine*, 50(6), 443-451.
- Visnagri, A., Kandhare, A.D., Chakravarty, S., Ghosh, P. & Bodhankar, S.L. (2014). Hesperidin, a flavanoglycone attenuates experimental diabetic neuropathy via modulation of cellular and biochemical marker to improve nerve functions. *Pharmaceutical biology*, 52(7), 814-828.

- Walczak, H. & Krammer, P.H. (2000). The CD95 (APO-1/Fas) and the TRAIL (APO-2L) apoptosis systems. *Experimental cell research*, 256(1), 58-66.
- Wang, A.Y., Jardine, M. & Perkovic, V. (2014). Kidney Disease in Diabetes. 58-86.
- Wen, Y., Gu, J., Li, S.-L., Reddy, M.A., Natarajan, R. & Nadler, J.L. (2006). Elevated glucose and diabetes promote interleukin-12 cytokine gene expression in mouse macrophages. *Endocrinology*, 147(5), 2518-2525.
- Wolf, G., Mueller, E., Stahl, R. & Ziyadeh, F.N. (1993). Angiotensin II-induced hypertrophy of cultured murine proximal tubular cells is mediated by endogenous transforming growth factor-beta. *The Journal of clinical investigation*, 92(3), 1366-1372.
- Wu, J. & Yan, L.-J. (2015). Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 181-188.
- Xu, X., Xiao, L., Xiao, P., Yang, S., Chen, G., Liu, F., Kanwar, Y. & Sun, L. (2014). A glimpse of matrix metalloproteinases in diabetic nephropathy. *Current medicinal chemistry*, 21(28), 3244-3260.
- Yonemoto, S., Machiguchi, T., Nomura, K., Minakata, T., Nanno, M. & Yoshida, H. (2006). Correlations of tissue macrophages and cytoskeletal protein expression with renal fibrosis in patients with diabetes mellitus. *Clinical and experimental nephrology*, 10(186-192).
- Zarogoulidis, P., Papanas, N., Kouliatsis, G., Spyrtos, D., Zarogoulidis, K. & Maltezos, E. (2011). Inhaled insulin: too soon to be forgotten? *Journal of aerosol medicine and pulmonary drug delivery*, 24(5), 213-223.
- Zeytun, H. & Özkorkmaz, E.G. (2021). Effects of carvacrol in an experimentally induced esophageal burn model: Expression of VEGF and Caspase-3 proteins. *Journal of Investigative Surgery*, 34(4), 408-416.
- Zhang, X.F. & Tan, B.K.H. (2000). Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of *andrographis paniculata* in normal and diabetic rats. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 27(5-6), 358-363.
- Zhang, Y., Wang, B., Guo, F., Li, Z. & Qin, G. (2018). Involvement of the TGF β 1-ILK-Akt signaling pathway in the effects of hesperidin in type 2 diabetic nephropathy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105(766-772).
- Zou, H., Henzel, W.J., Liu, X., Lutschg, A. & Wang, X. (1997). Apaf-1, a human protein homologous to *C. elegans* CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3. *Cell*, 90(3), 405-413.

EKLER



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



KURUL KARARI

KARAR NO: 2020/13	Proje KABUL NO: 2020-13	KARAR TARİHİ: 05.03.2020
“Streptozotosin ile diyabetik nefropati oluşturulan sıçanlarda karvakrol ve hesperidinin koruyucu etkilerinin araştırılması”		
YÜRÜTÜCÜ Prof. Dr. Tolga GÜVENÇ	TC:	
E-POSTA	MOBİL TEL:	
KURUM Veteriner Fakültesi	İÇ HAT TEL NO:	
- Yukarıda tanımlanan Laboratuvar Hayvanları ile yapılan çalışmayı; belirtilen araştırmacılar ile gerçekleştireceğini, ekip dışında başka kişileri HADYЕК ten izin almadan iştirak ettirmeyeceğini, çalışmanın başından sonuna kadar başkaları ile paylaşmayacağını ve yayın haline dönüştüğünde belirtilen katkı sırasına göre yayınlayacağını, - Üniversitemiz WEB sayfasında güncel hali yayınlanan, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun olarak çalışacağını, - Onay alınmış Projede belirtilen Deney Hayvanları Kullanımına müsaade edilen kişilerin haricinde başkalarına hayvanlarda herhangi bir Deneysel işlem yaptırmayacağını ve Proje sürecinde işlemlerde ve çalışma ekibinde yapılacak her türlü değişiklikler için HADYЕК’e izin başvurusunda bulunacağını ve onay gelinceye kadar çalışmalarını durduracağını, - Proje onay tarihinden itibaren her 6(altı) ay sonrasında HADYЕК’e gelişim raporu vereceğini ve Proje bitim tarihini müteakiben 3 ay içerisinde çalışma sonucunu HADYЕК’e bildireceğini, Bu Proje süresince, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesinde yer alan etik ilkelerle uyumlayan veya beklenmeyen ters bir etki veya olay olduğunda derhal Yerel Etik Kurul’a bildireceğini Kabul ve taahhüt eden kimlik ve iletişim bilgileri yukarıda yazılı yürütücünün Araştırma Projesi, Etik Kurul Üyeleri tarafından OMU HADYЕК yönergesi kapsamında Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine UYGUN bulunmuştur.		
KATILMADI Prof. Dr. Abdurrahman AKSOY Üye	KATILMADI Prof. Dr. Ahmet UZUN Üye	İMZA Dr. Öğr. Üyesi İsmail Alper TARIM Üye
İMZA Prof. Dr. Ahmet GÜLER Üye	İMZA Prof. Dr. H. Tahsin KEÇELİGİL Üye	İMZA Prof. Dr. N. Umur SAKALLIOĞLU Üye
İMZA Prof. Dr. Özcan YILMAZ Üye	KATILMADI Doç. Dr. Savaş YILMAZ Üye	İMZA Dr. Öğretim Üyesi Buğra GENÇ Üye
İMZA Prof. Dr. Yüksel TERZİ Üye	İMZA Vet. Hek. Mustafa ERMİŞ Üye	İMZA Doç. Dr. Berfin M GÖLCÜ Üye
İMZA Mak. müh. Reşat KURT Üye		İMZA Dr. Habib DEMİREL Üye
İMZA Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ Başkan		

5070 Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiş yazı ekidir.
Evrak teyidi <https://ebyssorgu.omu.edu.tr> adresinden ilgi yazıda belirtilen kod ile yapılabilir.

ÖZ GEÇMİŞ

Samsun Ondokuz Mayıs Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2015 yılında birincilik derecesiyle mezun oldu. 2020 yılından itibaren Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.

İletişim Bilgileri

ORCID ID: 0000-0001-5601-4952

Yayınlar:

1. **Kuruca N.**, Gülbahar M.Y., Sözmen M., Yarım M., Kabak Y.B., Karaca E., İnal S., Güvenç T. (2019). Samsun'da 2004-2019 Yılları Arasında İncelenen Köpek Meme Tümörleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*. 30 (2). 132–136.
2. Sözmen M., Devrim T., **Kuruca N.**, İnal S., Karaca E., Gülbahar M.Y. (2020). Primary Unilateral Small Cell Neuroendocrine Carcinoma of the Kidney in a Dog. *Journal of Comparative Pathology*. 176. 71-75.
3. Yigit S., Nursal A.F., Uzun S., Rustemoglu H., Dashatan P.A., Soylu H., Atmaca A., Rustemoglu A., **Kuruca N.**, Karakus N. (2020). Impact of Endothelial NOS VNTR Variant on Susceptibility to Diabetic Neuropathy and Type 2 Diabetes Mellitus. *Current Neurovascular Research*. 17 (5). 700–705.
4. Güvenç D., İnal S., **Kuruca N.**, Gökmen S., Güvenç T. Synthetic pyrethroids common metabolite 3-phenoxybenzoic acid induces caspase-3 and Bcl-2 mediated apoptosis in human hepatocyte cells. (2021). *Drug And Chemical Toxicology*. 45 (5). 1971-1975.
5. Ozan E., Müftüoğlu B., Şahindokuyucu İ, Kuruçay H.N., İnal S., **Kuruca N.**, Elhag A.E., Karaca E., Tamer C., Gümüşova S., Albayrak H, Barry G., Gülbahar M.Y., Yazıcı Z. (2021). Marek's disease virus in vaccinated poultry flocks in Turkey: its first isolation with molecular characterization. *Archives of Virology*. 166 (2). 559-569.
6. İnal S., Bağatır E., **Kuruca N.**, Sezener M.G., İnal K.S., Fındık A., Güvenç T. (2021). Septicemia and multiple abscesses associated with pantoea agglomerans in a dog. *Kafkas Veteriner Fakültesi Dergisi*. 27 (3). 403-407.
7. Avcı B., Günaydın C., Güvenç T., Yavuz C.K., **Kuruca N.**, Bilge, S.S. (2021). Idebenone Ameliorates Rotenone-Induced Parkinson's Disease in Rats Through Decreasing Lipid Peroxidation. *Neurochemical Research*. 46 (3). 513-522.
8. Tekcan A., Yigit S., Nursal A.F., Tumer M.K., Yerliyurt K., **Kuruca N.** (2021). Analysis of Interleukin-1 Receptor Antagonist Variable Number Tandem Repeat Variant in Recurrent Aphthous Stomatitis. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*. 21 (1). 139-144.

9. Kaya M.T., **Kuruca N.**, Kanat M., Akca F.B., Gulbahar M.Y. (2022). Uterine Serosal Inclusion Cysts with Greater Omentum Involvement in a Cat. *Journal of Comparative Pathology*. 199. 37–42.
10. Avcı B., Günaydın C., Külbay M., **Kuruca N.**, Güvenç T., Bilge S.S. (2022). Neuroprotective effects of sinapic acid involve the iron regulatory role on the rotenone-induced Parkinson's disease model. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 58 (4).
11. Nacar M.C., Nursal A.F., **Kuruca N.**, Yigit S. (2022). A circadian rhythm gene (PER3) VNTR variant as possible risk factor in cohort of Turkish females with primary dysmenorrhea. *Nucleosides, nucleotides & nucleic acids*. 41 (9). 900-909.
12. Gümüşay Ö., Yigit S., Nursal A.F., Tekcan A., Dagmura H., **Kuruca N.** (2022). Role of Interleukin-6 Gene Variants in the Development of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Turkish Journal of Oncology*. 37 (4). 371-318.
13. Çengel Kurnaz, S., **Kuruca, N.**, Güvenç, D., Kaya, M. T., Güvenç, T. (2022). Topical Administration of Carvacrol Improves Healing in Nasal Septal Perforation: An Experimental Animal Study. *American Journal of Rhinology & Allergy*. 36 (4). 503-509.
14. Duman E., Yıldız S., Yiğit S., **Kuruca N.**, Bahri L., Tumer M.K. (2023). eNOS Gene VNTR Polymorphisms are Associated with Oral Cyst. *Journal of Applied Biological Sciences*. 17 (2). 200-207.
15. Sezer Ö., Nursal A.F., **Kuruca N.**, Yiğit S. (2023). The effect of a 18 bp deletion/insertion variant of VEGF gene on the FMF development. *Nucleosides, nucleotides & nucleic acids*. 42 (4). 296-307.

Bildiriler:

1. Karaca E., **Kuruca N.**, İnal S., Özcan Ü., Binli F., Güvenç T., Gülbahar M.Y. (2018, Eylül) "Synchronous Metastatic Myxoid Liposarcoma and Malignant Mixed Mammary Tumor In A Dog". The 17th International Symposium "Prospects for the 3rd Millennium Agriculture", Cluj-Napoca, Romania.
2. İnal S., **Kuruca N.**, Karaca E., Pekmezci D., Sayılkan B.U., Kabak Y.B., Gülbahar M.Y. (2018, Ekim) "Bir Kedinin İdrar Kesesinde Papiller-İnfiltratif Tipte Ürotelyal Karsinom Olgusu". 9. Uluslararası Katılımlı Veteriner Patoloji Kongresi, Antalya.
3. **Kuruca N.**, İnal S., Karaca E., Güvenç T., Önyay T., Gülbahar M.Y., Sözmen M. (2018, Ekim) "A Case of Hemangiopericytoma in a Female Dog". 9. Uluslararası Katılımlı Veteriner Patoloji Kongresi, Antalya.
4. Gençay Topçu E.B., İnal S., Barılı Ö., **Kuruca N.**, Umur Ş. (2019, Mart) "Samsun'da Nekropsi Yapılan iki At ve Bir Katırda Saptanan Parazit Türleri" I. International Equine Medicine & Training Congress, Samsun.
5. **Kuruca N.**, Güvenç T. (2019, Kasım). "DNA Hasarı ve Onarım Mekanizmaları", 2. Uluslararası 19 Mayıs Yenilikçi Bilimsel Yaklaşımlar Kongresi, Samsun.

6. Dagmura H., Yiğit S., Gümüşay Ö., Nursal A.F., Daldal E., Karakuř N., **Kuruca N.** (2019, Kasım). “ENOS and VEGF Variant Might Increase risk of Pancreatic Cancer”, 2. Uluslararası 19 Mayıs Yenilikçi Bilimsel Yaklaşımlar Kongresi, Samsun.
7. Kaya M.T., Sözmen M., Karaca E., İnal S., **Kuruca N.**, Öztürk M., Kabak Y.B., Gülbahar M.Y. (2020, Kasım) “Bir Koyunda pulmoner Adenomatosis, Paratuberkülozis ve Sistemik Parazitozis ile Birlikte Seyreden Frontal Osteom Olgusu”, 10. Ulusal ve 1. Uluslararası Veteriner Patoloji Kongresi, Burdur.
8. Yılmaz E., Bulut E., **Kuruca N.**, Güvenç, T. (2021, Eylül). “Investigation Of The Effects Of Phosphorescence Coated Pure Titanium Materials On Rabbit Oral Tissues”, AÇBİD 14th International Online Congress.
9. Çengel Kurnaz S., **Kuruca N.**, Kaya M.T., Güvenç D., Güvenç, T. (2021, Kasım). “The healing effect of Carvacrol on Nasal Septal Perforation”, 51. International Symposium on Essential Oils (ISEO 2021), Online Congress.
10. **Kuruca N.**, Güvenç T. (2021, Kasım). “Carvacrol have anti-apoptotic effects in rats with diabetic nephropathy”, 51. International Symposium on Essential Oils (ISEO 2021), Online Congress.
11. Kanat M., Kaya M.T., **Kuruca N.**, Gülbahar M.Y. (2022, Mart) “Bir Köpekte Oral Akantolitik Yassı Hücreli Kanseri Olgusunun Sağaltımında Elektrokemoterapi Uygulanması”, 5th International Health Science and Life Congress, Burdur.
12. Kanat M., Kaya M.T., **Kuruca N.**, Gülbahar M.Y. (2022, Mart) “Dogo Argentino Irkı Bir Köpekte Mediastinal Brankial Kist Olgusu”, 5th International Health Science and Life Congress, Burdur.

Kazanılan Ödüller, Teřvikler ve Burslar

1. En iyi poster ödülü, Kaya M.T., Sözmen M., Karaca E., İnal S., **Kuruca N.**, Öztürk M., Kabak Y.B., Gülbahar M.Y. (2020, Kasım) “Bir Koyunda Pulmoner Adenomatosis, Paratuberkülozis ve Sistemik Parazitozis ile Birlikte Seyreden Frontal Osteom Olgusu”, 10. Ulusal ve 1. Uluslararası Veteriner Patoloji Kongresi, Burdur.
2. YÖK 100/2000 Bursiyeri: 2018-2020