



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**STREPTOZOTOSİN İLE DİABETES MELLİTUS
OLUŞTURULAN FARELERİN (ALBİNO BALB/C)
BÖBREKLERİNDE NİTRİK OKSİT SENTAZ' IN ROLÜ**

Ebru GÜREL

Biyoloji Anabilim Dalı

Zooloji Programı

Danışman

Doç. Dr. Cihan DEMİRCİ

Haziran, 2004

İSTANBUL

ÖNSÖZ

Bu çalışma, deneysel diyabetin oluşturulmasında kullanılan maddelerden biri olan Streptozotosin (STZ) uygulaması sonucunda, böbrek dokusunda meydana gelen değişiklikler ile Nitrik oksit (NO) arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Bu çalışmanın hazırlanmasında, değerli bilgilerinden ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bana yardımcı olan danışman hocam Doç. Dr. Cihan DEMİRCİ' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında benden desteklerini esirgemeyen hocalarım, Prof. Dr. Osman MURATHANOĞLU, Yard. Doç. Dr. Kadriye AKGÜN-DAR, Yard. Doç. Dr. Meliha ŞENGEZER-İNCELİ, Araş. Gör. Dr. Füsun ÖZTAY, Araş. Gör. Nadim YILMAZER ve Biyolog İlhan UYANER'e katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca, tez çalışmam süresince literatürlere kolaylıkla ulaşmamı sağlayan Amsterdam Vrije Üniversitesi' nden Hans de ZEEUW' e teşekkür ederim.

Tezimin tamamlanması sürecinde, her türlü yardım ve desteklerini gördüğüm arkadaşlarım, Araş. Gör. Engin KAPTAN, Uzman Biyolog Aslı KANDİL, Araş. Gör. Uğur AKSU, Biyolog Özlem BİNGÖL-ÖZAKPINAR, Araş. Gör. Hatice YORULMAZ ve Savaş ÜSTÜNOVA' ya teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, benden sevgilerini ve desteklerini esirgemeyen, verdiğim her kararı destekleyen aileme ve ayrıca, tezime katkılarından dolayı ablam Uzm. Dr. Ayfer UTKUSAVAŞ' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, T-112/11112002 sayılı tez projesi olarak, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği tarafından maddi olarak desteklenmiştir. Adı geçen kuruma teşekkür ederim.

İstanbul, Haziran-2004

Ebru GÜREL

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iii
TABLO LİSTESİ	
SEMBOL LİSTESİ	x
ÖZET	xii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	3
3. MALZEME VE YÖNTEM	18
4. BULGULAR	21
4. 1. IŞIK MİKROSKOBU BULGULARI	21
4. 2. ELEKTRON MİKROSKOBU BULGULARI	62
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	77
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	98

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 2. 1:** NOS enzimi tarafından katalizlenen NO sentezi [19].....7
- Şekil 2. 2:** Renal korpüskülün yapısal unsurları ile jukstaglomerular aygıt (<http://clem.msced.edu/~raoa/bio2320/urinary/sld036.htm>).....10
- Şekil 2. 3:** Streptozotosin (STZ)' in yapısı.....12
- Şekil 4. 1. 1:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübüller (PT) ve distal tübüller (DT). H+E, X600.....23
- Şekil 4. 1. 2:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde proksimal tübüller (PT) ve distal tübüller (DT). H+E, X1500.....23
- Şekil 4. 1. 3 a-b:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), kapsüler alan (\leftrightarrow Ka), parietal yaprak (\uparrow) ve viseral yaprak ($\uparrow\uparrow$). H+E, a-b) X1500.....24
- Şekil 4. 1. 4 a-c:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, hasara uğramış, devamlılığı kaybolmuş fırça kenara (\uparrow) sahip proksimal tübüller (PT) ve bazal kısımlarındaki bozukluklar (Δ), yüksekliği artmış proksimal tübül hücreleri ($\uparrow\uparrow$) ve daralmış tübül lümeni (L) ile peritübüler alanda (Pa) eritrositler (e). H+E, a) X600, b-c) X1500.....25
- Şekil 4. 1. 5 a-b:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumaktaki (GL) kapillerlerde düzensizlikler (Δ), parietal yapraktaki bozulmalar (\uparrow), fırça kenardaki düzensizlikler ($\uparrow\uparrow$) ve kapsüler alan (Ka). H+E, a-b) X600.....26
- Şekil 4. 1. 6:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumaktaki (GL) kapillerlerde düzensizlikler (Δ), kapsüler alan (Ka), parietal yaprak (\uparrow) ve viseral yapraktaki bozulmalar ($\uparrow\uparrow$) ile eritrositler (e). H+E, X1500.....27
- Şekil 4. 1. 7 a-b:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, Şekil 3. 1. 6' dakine benzer bozukluklar görülmektedir. Glomerular yumak (GL) kapillerleri (Δ), kapsüler alan (Ka), bozulmuş parietal yaprak (\uparrow), viseral yaprak ($\uparrow\uparrow$) ve eritrosit (e). H+E, a-b) X1500.....28
- Şekil 4. 1. 8:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, genişlemiş peritübüler alanlarda (Pa) eritrositlerin bulunduğu kanama bölgeleri. Proksimal tübüllerde (PT) bozulmuş, devamlılığını kaybetmiş fırça kenarlar (\uparrow). H+E, X600.....29
- Şekil 4. 1. 9 a-b:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, peritübüler alanda (Pa) eritrositlerin kümелendiği kanama bölgeleri. Proksimal tübüllerde (PT) bozulmuş, devamlılığını kaybetmiş fırça kenarlar (\uparrow). H+E, a) X600, b)X1500.....29
- Şekil 4. 1. 10 a-b:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, endotel tabakası zarar görmüş (\uparrow) kan damarı (Kd), kan damarı etrafındaki inflamasyon alanı

- (↑↑) ve lökositler (⇔), proksimal tübüllerin (PT) devamlılığı kaybolmuş fırça kenarı (Δ). H+E, a-b) X1500.....30
- Şekil 4. 1. 11:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, bir arteriyol, çok sayıda lökosit (⇔) ve eritrositler (e). H+E, X1500.....31
- Şekil 4. 1. 12:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksindeki proksimal tübüllerde (PT) kontrol grubuna benzer fırça kenarlar (↑) ile bazı bölgelerde, STZ uygulamasından sonra meydana gelen hasarın devam ettiği proksimal tübüllerin (PT) düzensiz fırça kenarları (↑↑). H+E, X600.....32
- Şekil 4. 1. 13:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksindeki proksimal tübüllerde (PT), düzenli (↑) ve düzensiz fırça kenarlar (↑↑). H+E, X1500.....32
- Şekil 4. 1. 14:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumaktaki (GL) kapillerlerde düzensizlikler (Δ), parietal yapraktaki bozukluklar (↑) ve kapsülar alan (Ka). H+E, X600.....33
- Şekil 4. 1. 15:** STZ+AG grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumaktaki (GL) kapillerlerde düzensizlikler (Δ), parietal yaprakta yer yer bozukluklar (↑) ve kontrol grubundakine benzer kapsülar alan (Ka). H+E, X1500.....33
- Şekil 4. 1. 16:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumaktaki (GL) kapillerlerde düzensizlikler (Δ), kapillerlerin bozulmasıyla kapsülar alana (Ka) geçmiş eritrositler (↑). H+E, X1500.....34
- Şekil 4. 1. 17 a-b:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, peritübülar alanda (Pa) eritrositler (e) ve lökosit (⇔) ile yer yer devamlılığı kaybolmuş (↑) kan damarı (Kd). H+E, a-b) X600.....35
- Şekil 4. 1. 18 a-c:** AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrole göre belirgin olan, düzenli fırça kenara sahip (↑↑) proksimal tübüller (PT) ve tübüllerin lümenleri (L). H+E, a-b) X600, c) X1500.....36
- Şekil 4. 1. 19:** AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrol grubuna benzer glomerular yumak (GL). H+E, X1500.....37
- Şekil 4. 1. 20:** AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrol grubuna benzer, az sayıda lökosit (⇔) içeren kan damarı (Kd). H+E, X600.....38
- Şekil 4. 1. 21 a-b:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde proksimal tübüllerin (PT) fırça kenarında (↑) PAS reaksiyonu ve bazal membranlar (↑↑). a) X600, b) X1500.....40
- Şekil 4. 1. 22 a-b:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, hasara uğramış, devamlılığı kaybolmuş ve kontrole göre PAS reaksiyonu azalmış fırça kenara

(↑) sahip proksimal tübüller (PT), glomerular yumak (GL) ve bazal membranlar (↑↑). a) X600, b) X1500.....	41
Şekil 4. 1. 23 a-b: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrol grubuna yakın PAS reaksiyonu veren proksimal tübül (PT) fırça kenarları (↑) ile STZ uygulanan gruba benzer düzensiz fırça kenarlar (Δ) ve bazal membranlar (↑↑). a) X600, b) X1500.....	42
Şekil 4. 1. 24 a-b: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrole göre yoğun PAS reaksiyonu veren proksimal tübüllerin (PT) fırça kenarları (↑) ve bazal membranlar (↑↑). a) X600, b-c) X1500.....	43
Şekil 4. 1. 25: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumakta (GL) kapillerlerin ve parietal yaprak epitelinin bazal membranında (↑) PAS reaksiyonu. X1500.....	44
Şekil 4. 1. 26: STZ uygulanan deney grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumakta (GL) kapillerlerin ve parietal yaprak epitelinin bazal membranında (↑) kontrole göre azalmış PAS reaksiyonu (↑↑). X1500.....	45
Şekil 4. 1. 27: STZ+AG uygulanan deney grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumakta (GL) kapillerlerin ve parietal yaprak epitelinin bazal membranında (↑) yer yer bozukluklar olmasına rağmen, kontrole benzer PAS reaksiyonu. X1500.....	46
Şekil 4. 1. 28: AG uygulanan deney grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrole göre PAS reaksiyonunun fazla olduğu, glomerular yumak (GL) kapillerlerinin ve parietal yaprak epitelinin bazal membranında (↑) PAS reaksiyonu. X1500.....	47
Şekil 4. 1. 29 a-b: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübüllerde (PT) NADPH-d reaksiyonu (↑) ve glomerular yumak (GL). a) X600, b) X1500.....	49
Şekil 4. 1. 30: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, böbrek tübüleri (Δ), makula densada (↑) NADPH-d reaksiyonu ve glomerular yumak (GL). X375.....	50
Şekil 4. 1. 31 a-b: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübüllerde (PT) kontrol grubuna göre yoğun olan NADPH-d reaksiyonu (↑) ve glomerular yumak (GL). a) X600, b) X1500.....	51
Şekil 4. 1. 32: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, böbrek tübüleri (Δ), makula densada (↑) kontrole göre yoğun NADPH-d reaksiyonu ve glomerular yumak (GL). X375.....	52

- Şekil 4. 1. 33 a-b:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübüllerin (PT) büyük bir kısmında kontrole benzer NADPH-d reaksiyonu (↑) ve glomerular yumak (GL). a) X600, b) X1500.....53
- Şekil 4. 1. 34:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, böbrek tübüllerinde (Δ), makula densada (↑) kontrol grubuna benzer olan NADPH-d reaksiyonu ve glomerular yumak (GL). X375.....54
- Şekil 4. 1. 35 a-b:** AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübüllerde (PT) kontrol grubuna ve STZ uygulanan gruba göre daha az yoğun olan NADPH-d reaksiyonu (↑). a) X600, b) X1500.....55
- Şekil 4. 1. 36:** AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, böbrek tübüllerinde (Δ), makula densada (↑) kontrole göre daha az yoğun olan NADPH-d reaksiyonu ve glomerular yumak (GL). X375.....56
- Şekil 4. 1. 37 a-b:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, jukstaglomerular hücrelerde (JG) belirgin bir şekilde görülen jukstaglomerular granüller (↑) ve glomerular yumak (GL). Bowie yöntemi; a-b) X1500.....58
- Şekil 4. 1. 38 a-b:** STZ uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde, jukstaglomerular hücrelerde (JG), kontrollere göre yoğun olan jukstaglomerular granüller (↑) ve glomerular yumak (GL). Bowie yöntemi; a-b) X1500.....59
- Şekil 4. 1. 39 a-b:** STZ+AG uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde, jukstaglomerular hücrelerde (JG), STZ uygulanan gruba göre yoğunluğu azalmış, kontrol grubuna benzer jukstaglomerular granüller (↑) ve glomerular yumak (GL). Bowie yöntemi; a-b) X1500.....60
- Şekil 4. 1. 40 a-b:** AG uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde, jukstaglomerular hücrelerde (JG) kontrol grubuna göre yoğun jukstaglomerular granüller (↑) ve glomerular yumak (GL). Bowie yöntemi; a-b) X1500.....61
- Şekil 4. 2. 1:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrositler (e), podositler (Po), mesangiyal hücre nükleusu (Δ), parietal yaprak epiteli (↑↑), parietal yaprak epitelinin nükleusu (N) ve kapsül alan (Ka). X6 800.....64
- Şekil 4. 2. 2:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrosit (e), podositler (Po) ve düzenli fenestralar (↑↑). X17 000.....64
- Şekil 4. 2. 3:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül hücrelerinin nükleusları (n), mitokondriler (m), bazal katlanmalar (bk→), mikrovilluslar (mv), otofajik vakuoller (↑), lizozomlar (L) ve peritübular alan (Pa). X6 800.....65

- Şekil 4. 2. 4:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül hücresinde nukleuslar (n), mitokondriler (m), lizozomlar (L), mikrovilluslar (mv), otofajik vakuoller (Δ), bazal lamina ($\uparrow\uparrow$) ve bazal katlanmalar (bk \rightarrow). X6 800.....66
- Şekil 4. 2. 5:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül hücresinde nukleus (n), mitokondri (m), lizozom (L), mikrovillus (mv), otofajik vakuol ($\Delta\Delta$), granüllü endoplazmik retikulum kesesi (g), peroksizom (Δ), bazal lamina ($\uparrow\uparrow$) ve bazal katlanmalar (bk \rightarrow). X17 000.....66
- Şekil 4. 2. 6:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, distal tübül hücrelerinin (DT) nukleusları (n), mitokondriler (m), lizozomlar (L), bazal katlanmalar (bk \rightarrow), mikrovilluslar (mv), peritübular alan (Pa) ve proksimal tübüller (PT). X6 800.....67
- Şekil 4. 2. 7:** Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, distal tübül hücrelerinin nukleusları (n), mitokondriler (m), lizozomlar (L), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), mikrovilluslar (mv), bazal lamina ($\uparrow\uparrow$) ve bazal katlanmalar (bk \rightarrow). X17 000.....67
- Şekil 4. 2. 8:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında, hasara uğramış glomerular kapiller endoteli (\uparrow), glomerular kapiller lümeni (GkL), podositler (Po), düzensiz fenestralar ($\uparrow\uparrow$), mesangiyal hücre nukleusu (Δ), düzensiz parietal yaprak epiteli, parietal yaprak epitelinin nukleusu (N), kapsüler alan (Ka), peritübular alan (Pa) ile peritübular alanda eritrositler (e) ve lökositler (l). X6 800.....68
- Şekil 4. 2. 9:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında, hasara uğramış glomerular kapiller endoteli (\uparrow), glomerular kapiller lümeni (GkL), düzensiz uzantılara sahip olan podositler (Po), podosit ayakları (PA), düzensiz fenestralar ($\uparrow\uparrow$) ve mesangiyal hücre nukleusu (Δ). X17 000.....68
- Şekil 4. 2. 10:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), hasara uğramış ve devamlılığını kaybetmiş düzensiz mikrovilluslar (mv), nukleuslar (n), mitokondriler (m), polizomlar ($\uparrow\uparrow$), lizozomlar (L), otofajik vakuoller (Δ), düzensiz ve genişlemiş bazal katlanmalar (bk \rightarrow) ve peritübular alan (Pa). X6 800.....69
- Şekil 4. 2. 11:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübülün bir kısmında, mikrovilluslar (mv), nukleuslar (n), mitokondriler (m), lizozomlar (L), otofajik vakuoller (Δ), düzensiz ve genişlemiş bazal katlanmalar (bk \rightarrow), düzensiz bazal lamina ($\uparrow\uparrow$) ve peritübular alan (Pa) ile peritübular alan kapillerlerinin hasara uğramış endotel tabakası (\blacktriangle). X6 800.....70
- Şekil 4. 2. 12:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübülün bir kısmında, mikrovilluslar (mv), nukleuslar (n), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), lizozomlar (L), otofajik vakuoller (Δ), düzensiz ve genişlemiş bazal katlanmalar (bk \rightarrow) ile mitokondriler (m). X17 000.....70

- Şekil 4. 2. 13:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, distal tübülün bir kısmında, nukleuslar (n), hasara uğramış mikrovilluslar (mv), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), lizozomlar (L), bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m) ve düzensiz bazal lamina (↑↑). X17 000.....71
- Şekil 4. 2. 14:** STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübülün bir kısmında, mikrovilluslar (mv), nukleuslar (n), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), lizozomlar (L), otofajik vakuoller (Δ), düzensiz ve genişlemiş bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m) ve bazal lamina (↑↑). X17 000.....71
- Şekil 4. 2. 15:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında, düzenli glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrosit (e), podosit ayakları (PA), mesangiyal hücre nukleusu (Δ) ve kollogen (Ko). X17 000.....72
- Şekil 4. 2. 16:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında, kontrole benzer glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrosit (e), podositler (Po) ve mesangiyal hücrelerin nukleusu (Δ). X17 000.....72
- Şekil 4. 2. 17:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübülün bir kısmında nukleuslar (n), mikrovilluslar (mv), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), lizozomlar (L), bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m), peritübular alanda (Pa) eritrositler (e) ile lökosit (l) ve bazal lamina (↑↑). X6 800.....73
- Şekil 4. 2. 18:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübülün bir kısmında nukleuslar (n), mikrovilluslar (mv), mikrotübüller (↑), genişlemiş granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), polizomlar (↑↑), otofajik vakuoller (Δ), düzensiz bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m), bazal lamina (↑↑). X17 000.....73
- Şekil 4. 2. 19:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, distal tübülün (DT) bir kısmında nukleuslar (n), mikrovilluslar (mv), otofajik vakuoller (Δ), bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m), peritübular alan (Pa) ve bazal lamina (↑). X6 800.....74
- Şekil 4. 2. 20:** STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrole benzer distal tübül hücresinin nukleusu (n), mikrovilluslar (mv), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g) ile polizomlar (↑↑), lizozomlar (L), otofajik vakuoller (Δ), düzenli bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m) ve bazal lamina (↑). X17 000.....74
- Şekil 4. 2. 21:** AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrositler (e), podositler (Po), düzenli fenestralar (▲), mesangiyal hücrelerin nukleusu (Δ), parietal yaprak epiteli (↑↑), parietal yaprak epitelinin nukleusu (N) ve kapsular alan (Ka). X6 800.....75
- Şekil 4. 2. 22:** AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni

(GkL), eritrositler (e), podositler (Po), mesangiyal hücre nukleusu (Δ) ve kalınlaşmış bazal lamina (\Downarrow). X6 800.....75

Şekil 4. 2. 23: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül hücresinin bir kısmında, nukleus (n), mitokondriler (m), mikrovilluslar (mv), lizozomlar (L), bazal katlanmalar (bk \rightarrow), bazal lamina ($\Uparrow\Uparrow$) ve peritübular alan (Pa). X17 000.....76

Şekil 4. 2. 24: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, distal tübülün (DT) bir kısmında nukleuslar (n), mikrovilluslar (mv), mitokondriler (m), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), polizomlar (\Uparrow), lizozomlar (L), bazal katlanmalar (bk \rightarrow), peritübular alan (Pa) ve bazal lamina ($\Uparrow\Uparrow$). X17 000.....76

TABLO LİSTESİ

Tablo 4. 1. 1: PAS reaksiyonu şiddetinin gruplara göre değerlendirilmesi.....	39
Tablo 4. 1. 2: NADPH-d reaksiyonunun gruplara göre değerlendirilmesi.....	48
Tablo 4. 1. 3: Renin granülleri dağılımının gruplara göre değerlendirilmesi.....	57

SEMBOL LİSTESİ

ACE: Angiotensin Değiştirici Enzim
ACE-I: Angiotensin Değiştirici Enzim İnhibitörleri
AG: Aminoguanidin
AGE: İlerlemiş Glukolizasyon Son Ürünleri
Ang I: Angiotensin I
Ang II: Angiotensin II
ATP: Adenozin Trifosfat
BH₄: Tetrahidrobiopterin
CaM: Kalmodulin
cAMP: Siklik Adenozin Monofosfat
cGMP: Siklik Guanozin Monofosfat
dl: Desilitre
DNA: Deoksiribonükleik Asit
EDRF: Endotel Kaynaklı Damar Gevşetici Faktör
eNOS: Endoteliyal Nitrik Oksit Sentaz
FAD: Flavin Adenin Dinükleotid
FMN: Flavin Mononükleotid
FTS: Serum Fizyolojik Su
g: Gram
GER: Granüllü Endoplazmik Retikulum
GFR: Glomerular Filtrasyon Hızı
H+E: Hematoksilin-Eozin
IF: Interferon
IL: Interlökin
iNO: Uyarılabilir Nitrik Oksit
iNOS: Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
ip: İntraperitoneal
JG: Jukstaglomerular
JGA: Jukstaglomerular Aygıt
kg: Kilogram
L-NAME: N-nitro-L-Arginin Metilester
LPS: Lipopolisakkarid
M: Molar
MAP: Ortalama Arteriyal Basınç
mg: Miligram
ml: Mililitre
µm: Mikrometre
mRNA: Haberci Ribonükleik Asit
NAD: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NADPH-d: NADPH-diaforez
NBT: Nitro Blue Tetrazolium
7-NI: 7-Nitroindazol
NK: Doğal Katil Hücre=Natural Killer Cells
NO: Nitrik Oksit
NOS: Nitrik Oksit Sentaz

nNOS: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
OsO₄: Osmiumtetraoksit
PARS: Poli-ADP Riboz Sentaz
PAS: Periyodik asit-Schiff
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RPF: Renal Plazma Akışı
RVD: Renal Vaskular Basınç
SMTC: S-metil-L-tiositrulin
SNP: Sodyum Nitroprussid
STZ: Streptozotosin
TGF: Tümör Büyüme Faktörü
TNF: Tümör Nekrosiz Faktör
VEGF: Vaskular Endoteliyal Büyüme Faktörü

ÖZET

STREPTOZOTOSİN İLE DİABETES MELLİTUS OLUŞTURULAN FARELERİN (ALBİNO BALB/C) BÖBREKLERİNDE NİTRİK OKSİT SENTAZ' IN ROLÜ

Nitrik oksit (NO), biyolojik sistemlerde son derece önemli, çok yönlü mesajcı bir moleküldür. Çeşitli hücrelerde Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından, L-arginin amino asidinin L-sitrulin'e çevrilmesiyle üretilir. NOS' un bilinen üç farklı izoformu vardır. Bunlar, endotelial Nitrik oksit sentaz (eNOS), nöronal Nitrik oksit sentaz (nNOS) ve uyarılabilir Nitrik oksit sentaz (iNOS)' dir. eNOS ve nNOS, normal koşullarda fonksiyonel iken, iNOS' un daha çok patofizyolojik koşullarda fonksiyonel olduğu gösterilmiştir. Böbrekte her üç tip NOS da sentezlenmektedir ve üretilen NO, glomerular filtrasyon hızını, Na⁺ iletimini, kan akımını, renin gibi maddelerin üretimini kontrol eder. Aşırı damar daralmasının önlenmesinde ve normal miktarda Na⁺ ve H₂O atılmasında önemlidir. Diyabette, böbrek dokusunda meydana gelen değişikliklerde NO' in fonksiyonel olduğu düşünülmektedir. Ancak bu olayda artan NO' in rolünün ne olduğu tam olarak bilinmemektedir. Bundan dolayı, iNOS aracılığı ile sentezlenen NO' in fonksiyonunu ve etkilerini belirlemek için iNOS inhibitörleri kullanılmaktadır. Bu çalışmada, Streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diyabet esnasında meydana gelen iNOS' un aktivasyonu ile artan iNO sentezinin, böbrek dokusunu nasıl etkilediği ve bu etkinin, özgül iNOS inhibitörü olan Aminoguanidin (AG) kullanılarak önlenip önlenemeyeceğini belirlemek amaçlanmıştır.

Çalışmada, 24 adet erkek Albino balb/c fare kullanıldı. Hayvanlar, herbiri 6 bireyden oluşan dört gruba ayrıldı ve her grubun bireyelerine verilen eriyikler, intraperitoneal (ip) olarak enjekte edildi.

- 1) Kontrol grubu (n:6): [Serum fizyolojik su (FTS)],
- 2) STZ grubu (n:6): [Tek doz 150 mg/kg STZ],
- 3) STZ+AG grubu (n:6): [Tek doz 150 mg/kg STZ uygulamasından hemen sonra başlanan ve 3 ay süresiyle her gün 100 mg/kg AG],
- 4) AG grubu (n:6): [3 ay süresiyle her gün 100 mg/kg AG].

Diyabet kontrolü, STZ enjeksiyonundan 1 hafta sonra glukometre ile ölçülerek yapıldı. Kan glukoz değerleri 180 mg/dl ve üzeri olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi.

Üçüncü ayın sonunda, deney hayvanları kloroform anestezisi altında kesilerek, böbrek dokuları, ışık ve elektron mikroskopunda incelenmek üzere hazırlandı. Aynı zamanda dondurma mikrotomunda hazırlanan kesitlere nikotinamid adenin dinükleotid fosfat-diaforez (NADPH-d) histokimyasal boyama uygulandı.

NADPH-d dağılımı, STZ uygulanan hayvanların böbrek kesitlerinde fazla idi. STZ uygulamasından sonra NO sentezi, AG ile inhibe edildiğinde, NADPH-d reaksiyonundaki artış, kontrol grubundaki bireylere benzemektedir. STZ uygulaması, proksimal tübüllerin fırça kenarlarının devamlılığının bozulmasına ve glomerular kapillerde düzensizliklere neden oldu. Kan damarlarındaki bozulmalar ile birlikte, peritübüler alanlarda kanama bölgelerine rastlandı. Bu sonuçlar, elektron mikroskobu

bulguları ile desteklendi. Ayrıca, jukstaglomerular hücrelerdeki renin granülleri, STZ uygulamasıyla arttı. STZ uygulanmasını takiben AG' nin verilmesi, böbrek korteksindeki histolojik ve sitolojik değişiklikleri kısmen önledi ve renin dağılımı da, kontrol grubu bireylerininkine benzer bulundu. STZ uygulanan grupta PAS reaksiyonu azalırken, STZ ile birlikte AG verilen grupta bu durum, kontrol grubuna ait bireylerdekine hemen hemen benzerdi. Sadece AG verilen grupta, NADPH-d dağılımı çok azaldı, genel histolojik yapı, kontrol grubu hayvanlarına benzemektedir, renin granülleri kontrol grubundakinden fazla idi. Ayrıca bu grupta, fırça kenarlarıdaki PAS reaksiyonu oldukça yoğundu.

Sonuç olarak, diyabet ile birlikte uyarılabilir Nitrik oksit (iNO) artışının, böbrek dokusunda belirgin bir bozulmaya yol açtığı ve bu etkinin, dışarıdan özgül iNOS inhibitörü olan AG uygulanmasıyla kısmen önlenebildiği ve diyabet sonucu artan iNOS ile jukstaglomerular hücrelerdeki renin granüllerinin dağılımı arasında da bir ilişkinin olduğu görülmüştür.

SUMMARY

THE ROLE OF NITRIC OXIDE SYNTHASE IN THE KIDNEY OF MICE (ALBINO BALB/C) OF DIABETES MELLITUS INDUCED BY STREPTOZOTOCIN

Nitric oxide (NO) is a very important, multifunctional messenger molecule in biological systems. It is synthesized by Nitric oxide synthase (NOS) with the conversion of L-arginine to L-sitruilin in various cells. There are three known isoforms of NOS; endothelial NOS (eNOS), neuronal NOS (nNOS) and inducible NOS (iNOS). iNOS is synthesized mostly in pathophysiological conditions, while eNOS and nNOS are functional in normal conditions. In the kidney all 3 types of NOS are synthesized and these products control glomerular filtration rate, Na⁺ transport, blood circulation and synthesis of some substances such as renin. NO also has important role in preventing excess vessel contraction, in excretion of Na⁺ and H₂O in normal amounts. NO is considered as functional in changes of the kidney tissue during diabetes, but the role of increased NO production is not completely defined. For this reason, iNOS inhibitors are used to determine the function of NO synthesized by iNOS. It was the aim of this study how iNOS activation and NO affect kidney tissue in diabetes induced by STZ, and whether influence can be prevented by Aminoguanidine (AG), a specific iNOS inhibitor.

The present study employed 24 male Albino balb/c mice which were divided into 4 groups, each containing 6 individuals and solutions were intraperitonally (ip) injected to each individual of the groups.

- 1) Control group (n:6): [Receiving saline water (FTS)],
- 2) STZ group (n:6): [Given single dose of 150 mg/kg STZ],
- 3) STZ+AG group (n:6): [Administered 100 mg/kg AG daily for a period of 3 months after receiving single dose of 150 mg/kg STZ],
- 4) AG group (n:6): [100 mg/kg AG daily for a period of 3 months].

Blood glucose values of the experimental animals were measured with glucometer one week after STZ injection. Animals with blood glucose value of 180 mg/dl and higher were accepted as diabetic.

At the end of 3rd month, animals were sacrificed under chloroform anesthesia, and the kidney tissue was prepared for light and electron microscopic research. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase (NADPH-d) histochemistry was applied to cryostat sections.

Dispersion of NADPH-d was stronger in the kidney sections of STZ-treated animals. Increment of NADPH-d dispersion was similar to that in control animals after STZ treatment when NO synthesis was inhibited by AG. STZ treatment caused distruption of the continuity of brush borders in proximal tubules and degeneration of glomerular capillars. Hemorogia was seen in peritubular areas, associated with degeneration of blood vessels. All these observations were confirmed with electrone microscopical results. Furthermore, renin granules in the juxtaglomerular cells became more abundant

with STZ treatment. AG administration following STZ treatment partly prevented histological and cytological changes in kidney cortex, and renin dispersion was similar to that in control animals. PAS reaction decreased in the STZ applied group, while it was almost the same in AG treated group. Beside this, the group given AG only exhibited weak NADPH-d dispersion, similar histological structure and more abundant renin granules when compared to control animals. In addition, PAS reaction was quite dense in the brush borders.

As a result, increased inducible NO (iNO) resulted in degeneration of the kidney tissue, and its effect can be partly prevented by AG treatment, and it has been seen that a possible relationship between increased iNOS and dispersion of renin granules in juxtaglomerular cells in diabetes is obvious.

1. GİRİŞ

Bu çalışma, deneysel diyabetin oluşturulmasında kullanılan maddelerden biri olan Streptozotosin (STZ) uygulaması sonucunda, böbrek dokusunda meydana gelen değişiklikler ile Nitrik oksit (NO) arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Tezin “Genel Kısımlar” bölümünde, NO hakkında genel bir bilgi verilmiştir. NO’ in genel özellikleri ve fizyolojik etkileri belirtilmiş, NO ve renin ilişkisi, STZ, diyabet, diyabette böbrek dokusunda meydana gelen değişiklikler ile NO arasındaki ilişki ve özgül uyarılabilir Nitrik oksit sentaz (iNOS) inhibitörü olan Aminoguanidin (AG)’ in rolü, çeşitli araştırmacıların yaptıkları çalışmaların ışığında ayrıntılı olarak ortaya konmuştur.

“Malzeme ve Yöntem” bölümünde, çalışmada kullanılan hayvan sayısı, özellikleri ve oluşturulan gruplar ile yukarıda değinilen açıklamalar doğrultusunda bilgi toplamak için, laboratuvar ortamında yapılan işlemler ayrıntılı bir biçimde anlatılmıştır. Yapılan bu işlemler sonucu elde edilen preparatlardan, histolojik, histokimyasal ve ince yapısal düzeyde veriler toplanmış ve bu veriler tezin “Bulgular” kısmında ayrıntılı olarak verilmiştir.

“Tartışma ve Sonuç” bölümünde ise, çalışmada elde edilen veriler değerlendirilmiş ve bu veriler, şimdiye kadar yapılan bununla ilgili çalışmalardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılıp yorumlanmış ve bir sonuca varılmıştır.

Bu bilgilerin ışığı altında, çalışmamızda, STZ ile diyabet oluşturulan farelerin böbreklerindeki NOS dağılımı histokimyasal olarak incelenmiştir. Diyabet ile artan NO’ in böbrek dokusunda meydana getirdiği patofizyolojik değişiklikler ve bu değişikliklerin iNO ile ilişkili olup olmadığı, eğer bunlar iNO ile ilişkili iseler, özgül iNOS inhibitörü olan AG uygulanmasıyla diyabet gelişiminin önlenip önlenemeyeceği

ve ayrıca diyabette artan NO' in, JG hücreler ve renin granüllerinin dağılımı üzerinde etkili olup olmadığı araştırılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

Nitrik oksit (NO), 17. yüzyıldan bu yana bilinen bir molekül olmasına rağmen, canlılardaki varlığı son 20-25 yıl içinde anlaşılmıştır. Bilim adamları, 1970' li yılların sonlarına doğru, memeli hayvanların hücrelerinde kimyasal haberci gibi davranan bir gaz molekülünün varlığına dikkat çekmişlerdir. 1977 yılında, Ferid Murad, Robert Furchgott ve Louis Ignarro üçlüsü, nitrogliserinden salınan bir sinyal molekülü olarak "NO" i tanımlamışlar ve NO' in, hemen hemen bütün vücut dokularında bulunan bir kimyasal haberci olduğunu gösteren bu çalışmaları ile, 1998 yılında "Nobel Fizyoloji ve Tıp Ödülü" nü almışlardır. Ferid Murad ve diğerleri, 1979 yılında, damar duvarından elde edilen düz kas hücrelerinin, nitroprussid ya da gliseriltrinitrit gibi nitrodilatörlerce gevşetilmesi sırasında, hücre içindeki siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyinin arttığını göstermiştir [1]. Furchgott ve diğerleri de [2], 1984 yılında, endotelden kaynaklanan aracı maddenin, kas hücrelerindeki etkisini, "guanilat siklaz" enzimi aracılığıyla, cGMP düzeyini yükselterek yapabileceği varsayımını ortaya atmışlardır. Daha sonra da, endotel kaynaklı damar gevşetici faktör (EDRF) olarak tanımlanan molekülün NO olduğu, 1987 yılında hem Furchgott hem de Ignarro ve ekibi tarafından gösterilmiştir [3-5].

NO' in, 1987' den günümüze kadar, hayvanlardaki birçok hücrede (endotel, epitel hücreleri, düz kas hücreleri, fibroblastlar, keratinositler, kondrositler, hepatositler, mesangiyal hücreler, Schwann hücreleri gibi) sentezlendiği [6] ve damar direncinin düzenlenmesinin yanında, bir aracı madde olarak, sinir sistemi ve bağışıklık sisteminde de fonksiyonel olduğu gösterilmiştir [7]. Ayrıca, kan basıncının ve sindirimin düzenlenmesinde, beyinde nöronal iletimde önemli bir sinyal molekülü olduğu da tanımlanmıştır [8]. Yapılan çalışmaların sonuçları da NO' in, gen anlatımının düzenlenmesinde [9], öğrenme ve hafızada, platelet kümelenmesinin inhibisyonunda, erkek eşeysel fonksiyonunun düzenlenmesinde, sitotoksitede ve apoptozisin uyarılmasında gerekli olabileceğini göstermektedir [10, 11]. Bu molekülün ayrıca, diyabet, septik şok, hipertansiyon ve ateroskleroz dahil pek çok patofizyolojik değişiklikte de oldukça önemli bir rolü vardır [12, 13]. NO, akciğer ve bağırsaklarda da nörotransmitter olarak görev yapar. Sindirim kanalının dalga şeklindeki kasılması ve gevşemesi esnasında, gevşemenin NO ile ilgili olduğu da gösterilmiştir. Bebeklerde

görülen, mide boşalmasını engelleyen ve kusmalara yol açan durumdaki kas kasılmasının, NO yokluğu sonucunda olabildiği belirlenmiştir [7, 14-16]. NO, deoksiribonükleik asit (DNA) sentezleyenler dahil, bazı enzimlerdeki demir gruplarını bağlayarak, büyümeyi sağlayan anahtar metabolik yolların bloklanmasını ve oksijen ile birleşip güçlü hücresel toksinler olan hidroksil radikali ve azotdioksit ortaya çıkararak, hücrelerin doğrudan öldürülmesini sağlaması nedeniyle, doğrudan birincil savunma sistemi olarak da kabul edilebilir [17].

NO, düşük molekül ağırlığı ve lipofilik yapısı nedeniyle kolay ve hızlı bir şekilde, prokaryotik hücre duvarlarından ve ökaryotik hücre zarlarından geçip, çok hızlı yayılabilen bir gaz molekülüdür [18]. Birçok dokuda, normal fizyolojik koşullarda salınan NO' in, yarılanma ömrü birkaç saniyedir [18]. Ayrıca, son yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron olduğu için, kimyasal olarak reaktiftir ve serbest radikal gibi davranır [19]. Serbest radikal olmasından dolayı, birçok farklı molekülle (DNA, protein, düşük molekül ağırlıklı tiyoller, reaktif O₂ araçları gibi) kolaylıkla reaksiyona girebilmektedir [20].

NO' in esas sinyal iletme mekanizması, demir içeren proteinlere bağlanmasıyla gerçekleşmektedir. NO, guanilat siklaz olarak adlandırılan enzimin hem grubuna bağlanarak, bu molekülü aktive eder. Bunun sonucu olarak, cGMP düzeyi artar ve cGMP' ye bağımlı protein kinazlar aktive olur. Demir içeren birçok enzim de, NO aracılığıyla aktive edilebilir. Ayrıca NO, proteinlerdeki tirozin ve sülfidril grupları ile reaksiyona girerek, farklı enzimlerin aktivasyonunda da rol oynar [21, 22].

NO, normal şartlarda, hücrelerde az miktarda sentezlenip, salınmaktadır. Aşırı miktarlarda üretildiğinde, artan NO, üretildiği hücrelerde toksik etki meydana getirebilecek birçok biyokimyasal olaya neden olmaktadır [20-24]. Hücrede artan NO, süperoksit anyonları ile reaksiyona girerek, peroksinitriti meydana getirmektedir. Peroksinitrit de, nükleik asit, lipid ve protein için toksik etkilere sahip olan güçlü bir oksidan maddedir. Bu madde özellikle, mitokondriyal solunumu bozar ve poli-ADP riboz sentaz (PARS) 1 aktive eder. Bu da, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)' in azalmasına, glikolizisin, elektron transportunun ve adenosin trifosfat (ATP) üretiminin yavaşlamasına neden olur [23, 24]. Patolojik durumlarda, örneğin; ağır enfeksiyonlarda,

bakterilerin kana karıştığı “sepsis” denilen hastalık tablosunda, kalp-damar sisteminde gözlenen küçük damarlardaki geçirgenliğin artması, sistemik damar direncinin azalması, damar duvarının kasılmasında fonksiyonel olan katekolaminlere yanıtızsızlık ve sonunda düzeltilemeyen, yaşamı tehdit eden kan basıncı düşüklüğü şeklindeki değişikliklerin önemli bir kısmı, aşırı NO sentezine bağlanmaktadır [24]. Tansiyon ve kolesterol yüksekliğinde ortaya çıkan ateroskleroz hastalığında, arter duvarından salınan NO düzeyi, sentez azlığından ya da yıkım fazlalığından dolayı azalmıştır. Bu durumda, kalbi besleyen damarlardaki daralma ya da egzersiz ve stres karşısında genişleyememe, koroner kalp hastalığı ve miyokard infarktüsüne yol açmaktadır [13]. NO üretiminde fonksiyonel enzim olan Nitrik oksit sentaz (NOS) 1 içeren hücreler, felç durumunda büyük olasılıkla, bir aşırı uyarılma sonucu zararlı etkiye yol açabilecek miktarda NO salgı, kendileri etkilenmeden komşu hücreleri öldürmektedirler [24]. NO’ in bu iki yönlü etkisinin yanında, reaktif moleküler haberci olarak, dolaşım sisteminde ve immün sistemde bulunması ve vücudun pek çok organ ve dokularında sentezlenmesi, bu molekül hakkında yapılan araştırmaların sayısının her geçen gün artışına neden olmaktadır [20].

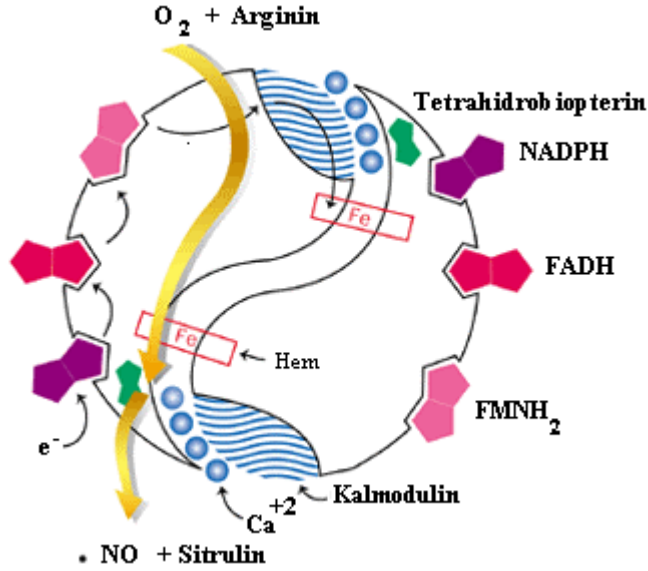
NO’ in ilk keşfedilen aktivitesi, damar tonusunun ve kan basıncının düzenlenmesindeki rolüdür [2-4]. Bu molekül, damar duvarlarında bulunan düz kaslarda, guanilat siklazı aktive eden güçlü bir damar gevşeticidir [2, 7]. Guanilat siklaz, GTP’ den ikincil haberci cGMP oluşumunun düzenlenmesini katalizler; membrana bağlı ve çözülebilir olmak üzere iki izoformu vardır. Düz kas hücrelerinde, NO sinyalizasyonuna çözülebilir guanilat siklaz tarafından aracılık edilir. Çözülebilir guanilat siklaz hemodimerdir; α ve β olmak üzere iki alt üniteden oluşmuştur. Katalitik aktivite için her iki alt üniteye de gereksinim vardır. Her bir alt ünite, N-terminal düzenleyici bölge ve C-terminal katalitik bölge içerir. Hem, N-terminal düzenleyici bölgede bulunur. NO, direkt olarak hem gruplarına bağlanır ve ferrus-nitrosil-hem kompleksi oluşur. Bu kompleks, NO tarafından aktive edilen enzimin çalışması için gereklidir. Guanilat siklaz aktivitesi ile artan cGMP ile, cGMP’ ye bağımlı protein kinazlar (cGMP kinaz, protein kinaz G) aktivite kazanır, bunun sonucunda, damarların düz kaslarında gevşeme meydana gelir [7, 16, 19, 22, 25]. Kan basıncının düzenlenmesinde ise, damar daralmasını dengeleyerek iş görür. Büyük çaplı damarlarda, NO’ in kontrol ettiği gevşeme, arteriyollerde kan akımının düzenlenmesine yardımcı olmaktadır [26]. NO, platelet

aktivasyonunun güçlü bir inhibitörüdür [27]. Ayrıca, damarların iç yüzeylerini döşeyen endotel ile lökositler arasındaki ilişkiler de, NO ile sağlanmaktadır [28]. Bu özelliklere ek olarak NO, sitotoksik etkili bir moleküldür. Vücudun, virüslere, bakterilere, mantarlara ve parazitlere karşı savunmasında önemli bir role sahiptir [29].

NO, birçok hücrede, NOS enzimi tarafından katalizlenir. NOS enzimi, L-arginin amino asitini ve moleküler oksijeni kullanarak, substrattan ürün olarak NO ve L-sitruilin oluşmasını sağlar. Bu tepkime kofaktör olarak, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) gerektirir. NO' in ortaya çıktıktan sonra birkaç saniyelik yarılanma ömrü vardır ve hızla hemoglobin ve süperoksit anyonu tarafından nötralize edilir. Ya da yaklaşık on saniye içerisinde nitrit ve nitratlara dönüştürülür [7, 16, 30, 31]. NOS, homodimerik hem proteindir ve kofaktör olarak, demir-protoporfirin IX, tetrahidrobiopterin (BH₄), flavin adenin dinükleotid (FAD) ve flavin mononükleotid (FMN) içermektedir [7, 16, 30]. NOS aynı zamanda, L-arginin, kalmodulin (CaM) ve NADPH için bağlayıcı bölgeler de içerir [30]. NO oluşumu sırasında elektronlar, NADPH' den flavinlere, en sonunda da hem grubundaki demire iletilir. Bu elektron transferi, NOS' a O₂ bağlanmasını sağlar ve böylece L-arginin' in L-sitruilin' e oksidasyonu katalizlenir [16, 19, 30] [Şekil 2. 1]. NOS, üç farklı fonksiyonel alan içerir. Bunlar, N-terminal bölge içinde hem grubunu bağlayan “oksijenaz alan”, C terminal bölge içinde “redüktaz alan” ve arada bulunan “kalmodulin bağlayıcı alan” dır. NADPH, FAD ve FMN için bağlanma alanları redüktaz uçta yer alır. BH₄ ve L-arginin için bağlanma bölgeleri de oksijenaz alanda bulunur [16].

NOS' un bilinen üç izoformu vardır. Bunlar keşfedildikleri hücrelerin tiplerine göre, endotelial NOS (eNOS), nöronal NOS (nNOS), ve uyarılabilir NOS (iNOS) olarak adlandırılırlar [7, 16, 25]. eNOS ve nNOS izoformları, aktiviteleri için Ca⁺²/CaM' e gereksinim duymaktadır. eNOS ve nNOS, iNOS' a benzemeksizin genellikle, hücrede anlatımı olan proteinlerdir. iNOS ise, Ca⁺²/CaM' den bağımsızdır ve aktivitesi için Ca⁺² konsantrasyonundaki değişikliklere gereksinim duymamaktadır [19, 25, 31]. iNOS, dinlenme halindeki hücre içi Ca⁺² konsantrasyonunda, CaM' e sıkı bir şekilde bağlıdır [31, 32]. Bu yüzden de aktivitesi, çoğunlukla Ca⁺² dan bağımsızdır. Buna zıt olarak, eNOS ve nNOS, dinlenme halindeki hücre içi Ca⁺² konsantrasyonunda aktif değildir. Ancak, Ca⁺² seviyesi arttığında aktif hale gelir ve CaM' e bağlanabilir. Ca⁺² düzeyi

normal seviyeye ulaştığında, CaM enzimden ayrılır ve enzim inaktif hale gelir [33]. NOS' un üç izoformu da aynı reaksiyonu katalizlemesine rağmen, bu enzimler, NO üretim miktarına, süresine, hücrelerdeki ve dokulardaki dağılımına, fonksiyonunun düzenlenmesine göre farklılıklar göstermektedir [20].



Şekil 2. 1: NOS enzimi tarafından katalizlenen NO sentezi [19].

eNOS; hücre içinde sürekli varolan, kofaktör olarak Ca^{+2} ve CaM' e bağımlı, 135 kDa ağırlığında bir enzimdir. Bu izoformun anlatımı, esas olarak endotel hücrelerinde ve kalp kası hücrelerinde olmaktadır [19]. Endotel hücrelerinde, sinir hücrelerinde, kalbin endokardiyum ve miyokardiyum tabakalarındaki kas fibrillerinde ve plateletlerde bulunur. Bu hücrelerin esas bulunduğu yer, plazma membranı [19, 33] ve Golgi aygıtı membranlarıdır [20]. eNOS' un hücre içi dağılımı, NO üretimini etkiler. Hücre membranı ile yakından ilişkili olan eNO' in en önemli uyarı kaynağı, büyük bir basınçla damarda ilerleyen kanın, endotele yapmış olduğu sürtünmedir [34, 35]. Ayrıca, Angiotensin II (Ang II) [36] ve östrojen de, eNOS transkripsiyonunu artırır. Aktive olmuş fagositlerin ürünleri, eNOS fonksiyonunu ve anlatımını engeller [20]. Endotel ve plateletler tarafından üretilen eNO aynı zamanda, platelet kümelenmesi ve adezyonunu, lökosit adezyonunu engeller ve düz kas hücrelerinin farklılaşmasında rol oynar [37].

Moleküler ağırlığı 155 kDa ve Ca^{+2} a bağımlı bir enzim olan nNOS, merkezi ve periferik sinir sistemindeki nöronların sitoplazmasında yer alır. Ayrıca, böbrek medullası, böbrek korteks tübüleri [38-40], makula densa [40, 41], nötrofiller, pankreas hücreleri, endometriyum ve solunum epiteli [25], iskelet kası fibrilleri gibi diğer pek çok yapıda da belirlenmiştir. Migren, felç, epilepsi, Huntington hastalığı ve sinir sistemi bozukluklarına dayalı birçok hastalıkta nNOS' un fonksiyonel olduğu gösterilmiştir [19, 42].

eNOS ve nNOS' tan farklı olarak iNOS, Ca^{+2} dan bağımsız çalışan, molekül ağırlığı 131 kDa olan bir enzimdir ve ilk olarak sıçan makrofajlarında tanımlanmıştır [19]. Endotel hücrelerinde, damar düz kas hücrelerinde, hepatositlerde, kondrositlerde, keratinositlerde [16], ayrıca, mast hücreleri ile monosit, makrofaj, mikroglia, Kupffer hücreleri, eozinofil ve nötrofilleri de içeren fagositik hücrelerde de üretilmektedir [20]. Vasodilatasyon ve inflamasyonun meydana gelmesi için gereklidir. Normal şartlarda dinlenme halindeki hücrelerde bulunmaz. iNOS' un transkripsiyonu, lipopolisakkarid (LPS) ve proinflamatuvar sitokinler [Tümör nekrosis faktör (TNF)- β , Interlökin (IL)- 1α] ile uyarılır [6, 16, 20, 24]. Burada, sitokin uyarısından birkaç saat sonra başlayan ve günler süren nanomol düzeylerde NO sentezi söz konusudur [43]. Sentez uyarısı esas olarak, endotoksin ve sitokinler [IL-1, TNF, Interferon (IF)- γ] tarafından yapılır, bazı hücrelerde sentez, IL-8, IL-10, Tümör büyüme faktörü (TGF)- β gibi maddelerce yavaşlatılabilir ve glukokortikoidlerle enzimin uyarılması önlenir [44]. iNO' in immün sistemdeki rolü oldukça karmaşıktır. Burada hem koruyucu ve hem de toksik etkilere sahiptir. Enfeksiyon hastalıkları ve otoimmün hastalıklar gibi pek çok patolojik durumda iNO' in rolü vardır [20].

NO üretiminde fonksiyonel bir enzim olan NOS' un üç izoformu da, normal sıçan böbreğinde tanımlanmıştır. Ayrıca, yapılan çalışmalar sonucunda, böbreğin korteks ve medulla bölgelerinin paransim dokularında sürekli olarak NO üretildiği de gösterilmiştir [38-40, 45-49]. İmmünohistokimyasal metodlar ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) metodlarının kullanılması ile yapılan çalışmalarda, eNOS anlatımının, böbrek arterlerinde, glomerulus kapilleri ile afferent ve efferent arteriyollerde, proksimal tübüllerde ve toplayıcı kanallarda olduğu belirlenmiştir [41, 46, 47]. nNOS immünoreaktivitesi, makula densada ve kortikal toplayıcı kanallarda gösterilmiştir [38,

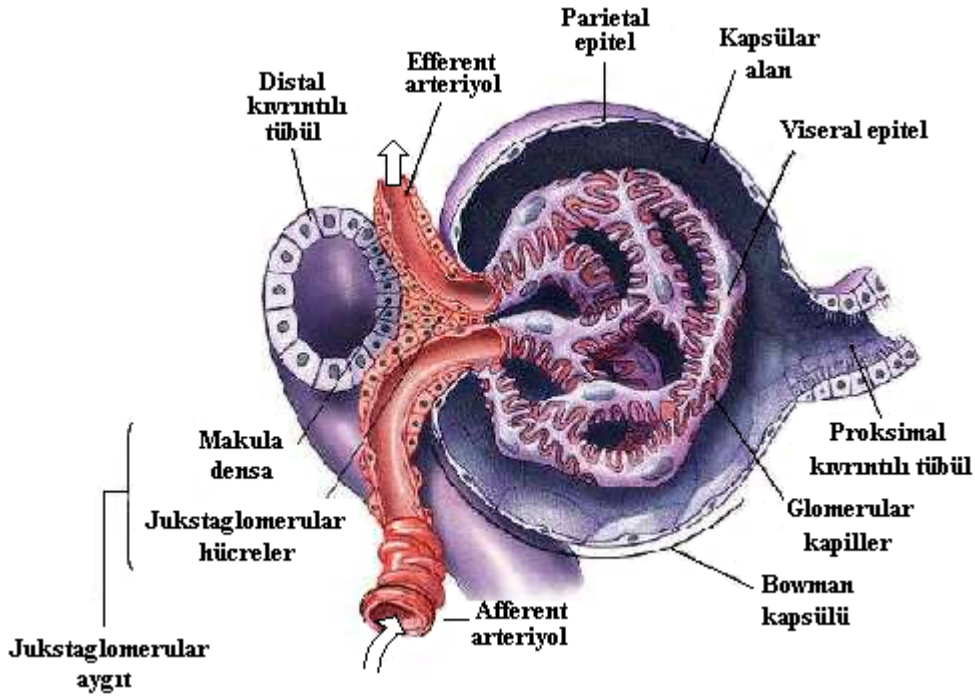
40, 48]. iNOS anlatımının ise, normal koşullarda böbrek tübüleri boyunca, en fazla Henle kıvrımının kalın çıkıcı kolunda olduğu belirlenmiştir [49].

Normal koşullarda, böbrekte üretilen NO, glomerular filtrasyon hızını (GFR), kan akımını, sodyum (Na^+) iletimini, renin gibi maddelerin üretimini kontrol eder. NO ayrıca, glomerular mesangiyal hücrelerin tonusunda, platelet kümelenmesinin ve adezyonunun inhibisyonunda [50, 51], aşırı damar daralmasının önlenmesinde, Na^+ ve H_2O atılmasında rol oynamaktadır [52, 53].

Renin; küçük, protein yapısında bir enzim olup, arter basıncı çok düştüğünde, böbreklerde jukstaglomerular (JG) hücreler olarak adlandırılan ve afferent arteriyollerin duvarında yer alan az sayıda hücrede üretilen bir maddedir. JG hücreler, glomerulusun vasküler kutbunda bulunan ve jukstaglomerular aygıt (JGA) olarak adlandırılan karmaşık bir yapının üyesidirler [Şekil 2. 2]. JGA; renal korpüskülün vasküler kutbundaki afferent ve efferent arteriyoller, ekstraglomerular mesangiyal hücreler ve JG hücrelerden oluşmaktadır. Makula densa, distal tübülün kıvrıntılı bölümünün, glomerulusun vasküler kutbunda bulunan afferent arteriyolle temas ettiği bölgede yer alan hücrelerin değişmesiyle meydana gelmiştir. Bu hücreler silindirik biçime dönüşmüş, nukleusları da oval bir şekil almıştır [54, 55]. Ekstraglomerular mesangiyal hücreler de, makula densa ile afferent ve efferent arteriyoller arasındaki alanda bulunan farklılaşmış interstisiyel hücrelerdir. JGA' nın diğer bir üyesi olan JG hücreler ise, afferent arteriyollerin makula densa ile temas ettiği bölgede, tunika media tabakasında yer alan düz kas hücrelerinin değişime uğramasıyla meydana gelmiş olup [54, 55], protein tabiatında salgılama yapan hücrelerin özelliklerini kazanmışlardır [56]. Bu hücreler, çok iyi gelişmiş salgı mekanizmasına sahiptirler ve büyük nukleus, iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum, Golgi aygıtı, çok sayıda olgun salgı granülü ve çok az protogranül ile, çok küçük vesiküller içermektedirler [55, 57].

JG hücrelerde üretilen renin kana geçtiğinde, bir plazma proteini olan globulin yapısındaki renin substratı (angiotensinojen) ile reaksiyona girer ve 10 amino asitlik bir polipeptid olan angiotensin I (Ang I)' i meydana getirir. Renin, yaklaşık 30 dakika kadar dolaşımda kalarak, Ang I' i oluşturmaya devam eder. Ang I, oluşmasından birkaç saniye sonra 2 amino asidini kaybederek, 8 amino asitlik bir polipeptid olan Ang II

oluşur [58]. Bu değişim angiotensin değıştirici enzim (ACE) olarak adlandırılan bir enzim tarafından katalizlenir [59]. Ang II, oldukça kuvvetli bir damar kasıcıdır ve dolaşım dışında etkileri de bulunmaktadır. Dolaşımında 1-2 dakika kaldıktan sonra, farklı dokularda ve kanda bulunan angiotensinazlar olarak adlandırılan enzimlerce inaktif hale getirilir. Ang II, dolaşımında kaldığı sürece arteriyollerin kasılmasını, dolayısıyla, periferik direnci arttırarak arter basıncını yükseltir. Böbreklerde tuz ve su atılımını azaltarak, yavaş yavaş arter basıncının yükselmesine neden olur [58]. Aynı zamanda Ang II, adrenal korteksten aldosteron salınmasını uyarır. Aldosteron, böbrek tübüllerinin, glomerular filtrattan daha fazla Na^+ iyonunu geri almasını sağlayarak, nefronun fonksiyonunu düzenler. Kan hacmini ve basıncını yükseltir. Bu mekanizma, GFR' nin kontrolünde önemlidir [60].



Şekil 2. 2: Renal korpüskülün yapısal unsurları ile jukstaglomerular aygıt (<http://clem.msced.edu/~raoa/bio2320/urinary/sld036.htm>).

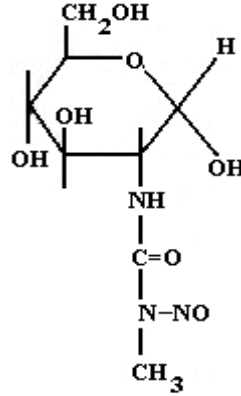
JG hücrelerdeki renin sentezi ve salınımı, Ang II başta olmak üzere, sinirsel uyarı, perfüzyon basıncı, distal tübüllerdeki Na^+ miktarı gibi faktörler tarafından kontrol edilir [61, 62]. Renin salınımını kontrol eden hücresel mekanizma tam olarak anlaşılacakla birlikte, olayda Ca^{2+} , cGMP ve siklik adenozin monofosfat (cAMP)' ın rol oynadığı

bilinmektedir [61]. Renin sentezi ve salınımı için cAMP önemli bir uyarıcı iken, sitoplazmadaki Ca^{+2} aktivitesi ve protein kinaz C, negatif kontrolde rol oynar [56, 62]. JG granüllü hücrelerin renin üretimi ve salgılaması, sistemik kan basıncı ile yakından ilgilidir. Kanama ve dehidratasyon gibi kan basıncını düşüren olaylar renin sentezini ve salınımını artırır [56].

JG hücrelerdeki renin sistemi, komşu hücrelerde üretilen lokal faktörlerden etkilenmektedir ki, bu faktörlerden birisi de NO' dir. JG hücreler, farklı 4 tip hücre ile çevrilmiştir. Bunlar, afferent arteriyollerin düz kas hücreleri, endotel hücreleri, intraglomerular mesangiyal hücreler ve makula densa hücreleridir [41]. Bu hücrelerin hepsi de, NO üretme özelliğine sahiptirler [41]. Bundan dolayı, NO' in, renin sentezi ve salınımı üzerine etkilerinin olabileceği düşünülerek birçok araştırma yapılmıştır. Ancak NO' in, renin salınımı üzerine etkileri henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Diyabet, vücutta insülin eksikliğine bağlı olarak gelişen, hiperglisemi ve glukozüri ile belirgin, tedavi edilmediği takdirde ketoasidoz ve komaya kadar uzanan bir hastalıktır. Deneysel diyabetin oluşturulmasında kullanılan maddelerden biri de Streptozotosin (STZ)' dir. STZ, onkolitik, onkojenik ve diyabetojenik özelliği olan dar spektrumlu bir antibiyotiktir. Molekül ağırlığı 457 dalton olan STZ, 1959 yılında "*Streptomyces achromogenes*" kültürlerinden elde edilmiştir [63]. Kimyasal yapısı, "2-deoksiglukoz' un N-metil-N-nitrozüre" türevidir [Şekil 2. 3]. STZ diyabetojenik etkisini, pankreasdaki β hücrelerini tahrip ederek gösterir. Hipergliseminin derecesi ve süresi, ilacın süresine, dozuna ve deney hayvanına bağlıdır [64-69].

Hinz ve Pfeiffer [70], C^{14} işaretli STZ kullanarak, izole fare Langerhans adacıklarında gerçekleştirdikleri metabolik bir çalışmada, ilk dakikalarda ilacın "kolaylaştırılmış difüzyon" ile β hücresine girdiğini, onuncu dakikada enerji metabolizmasını bloke ettiğini; böylece adacığın NAD ve ATP içeriğinin azaldığını ve otuzuncu dakikada DNA' nın H^3 -timidin tutulmasının ortadan kalktığını bildirmişlerdir. Özetlenecek olursa, tek ve uygun dozda uygulanan STZ, β hücrelerinde tam hasarla birlikte insüline bağımlı diyabeti oluşturur.



Şekil 2. 3: Streptozotosin (STZ)' in yapısı.

Schneider ve diğerleri [71], C57BL/K_sJ (kendiliğinden Tip 1 diyabet gelişen mutant fareler) farelerinde, STZ ile kalıcı diyabet oluşturduklarını, insulitis tespit edilen Langerhans adacıklarının elektron mikroskobu incelemelerinde, lenfositlerin, β hücresinin sitoplazma membranını tahrip ettiklerini bildirmişlerdir. Bu lenfositlere “doğal katil hücre=natural killer (NK) cells” adını vermişlerdir [72]. Yapılan deneyler sonucunda, düşük doz STZ ile oluşturulan hücresel otoimmünitinin temelinde timüs kökenli T-lenfositlerinin rol aldıkları kanıtlanmıştır [71, 73, 74]. Bu tip diyabette, β hücrelerine immünolojik tolerans azalmıştır. Aktive olan β hücre antijenlerine karşı şekillenen hücresel ve humoral bağışıklık uyarılarak, β hücreleri, T lenfositlerinin içinde yer aldığı bir mekanizma ile yıkılırlar. Bu nedenle Tip 1 diyabet, organa spesifik bir immün hastalık olarak tanımlanır. Dolaşımdaki otoantikorlar, hastalığın varlığını gösteren en önemli bulgulardır [75]. İnsülin bağımlı Tip 1 diyabet, genetik temeli olan bir hastalıktır ve her bir patojenik işlev genetik kontrol altındadır. Hastalıkta şekillenen otoantikorlar, doğrudan β hücrelerinin sitoplazmik komponentlerine, hücre yüzeyine ya da insülin' e karşı oluşur [76].

Diyabette, böbreklerde meydana gelen yapısal bozukluklar; böbrek hipertrofisi, glomerular kapillerlerin bazal membranlarının kalınlaşması, ekstrasellular matriks bileşenlerinin glomerulusta birikmesi (nodüler veya diffüz glomeruloskleroz), tübular bozulma ve interstisyel fibrosistir [77]. Fonksiyonel değişiklikler ise, glomerulus içi hipertansiyon ile birlikte GFR' de hızlı bir artıştan sonra, proteinüri, sistemik

hipertansiyon ve sonuç olarak böbrek fonksiyon kaybı şeklinde ortaya çıkar [78]. Diyabetik böbrek bozukluğu ile ilgili klinik ve patolojik çalışmalar, hem glomerulus hem de interstisyumda matriks birikiminin varlığını ortaya koymaktadır. Bu durum, proteinüri ve böbrek yetmezliğinin derecesi ile kuvvetli bir ilişki göstermektedir [79].

Diyabette poliüri (aşırı idrar çıkarma), polidipsi (aşırı su içme) ve polifaji (aşırı yeme), devamlı hipergliseminin sebep olduğu glukozüri (idrarda glukoz artması) ve bunun yarattığı osmotik diürezdir. Bu durumda, açlık hali de dahil, günün her anında kan şekeri normal değerlerinin üzerinde seyrederek. Hiperglisemik değerler, Hagedorn-Jensen tayin yönteminde %180 miligram (mg) in, Somogyi-Nelson yöntemi ile tayin edilmişse %160 mg' in üzeri olarak kabul edilir. Kan şekeri değerleri bu düzeylerin üzerinde buldukça, böbreklerin glukoz reabsorbsiyon kapasitesini aştığı orandaki glukoz, tübüler sıvıda yani primer idrarda kalacaktır. Su reabsorbsiyonu arttıkça, primer idrardaki glukoz konsantrasyonu yükselecek ve hiperozmolar hale gelecektir. Bu duruma gelen idrar, tübüller boyunca ilerlerken, peritübüler sıvıyı da çekerek miktarını arttıracaktır. Bu olaya “poliüri” denir. Polidipsi, poliürinin yarattığı dehidratasyondan kaynaklanır. Vücudun glukozu kullanamaması, kilo kaybına ve polifaji eğilimine yol açar. Diyabetik organizmada tıpkı açlıkta olduğu gibi, bütün anabolik olaylar durmakta, katabolik olaylar ise hızla artmaktadır. Glukoneogenez ile sağlanan yeni glukoz, süratlenmiş bulunan glukogenoliz sonucu, devamlı ve fazla miktarda kana verilir. Enzim kinetiği çalışmaları da bu biyokimyasal olayları doğrulamaktadır; çalışmaların sonuçları, glukogenolitik ve glukoneogenik enzim aktivitelerinin artmış olduğunu göstermiştir [80].

Hiperglisemi, glukozile proteinler, vazoaktif hormonlar, sistemik ve glomerular hipertansiyon, proteinüri, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi birçok faktör, diyabetik böbrek patogeneğinde etkili olmaktadır [81]. Bunlar içerisinde, sitokin dönüştürücü büyüme faktörü, diyabette şekillenen böbrek hipertrofisi ve ekstrasellular matriks birikiminin oluşumunda anahtar role sahiptir [81-83]. Sitokin dönüştürücü büyüme faktörü, hem matriks sentezini uyararak hem de matriks yıkımını engelleyen güçlü fibrojenik etkilere sahiptir [83] ve bu faktörün aşırı üretimi, diaçilgliserol, polioller ve glukozaminlerin sekonder olarak fazla miktarda sentezine neden olmaktadır [82]. Sitokin dönüştürücü büyüme faktörünü nötralize eden antikorların, diyabetli sıçanlara

kısa süreli uygulanması sonucunda, glomerular büyümenin ve genişlemenin engellendiği ve ekstrasellular matriks bileşenlerini kodlayan genlerin baskılandığı bildirilmektedir [84]. Diyabetik böbrekte, GFR' de %40' lara kadar varan azalma ve idrarla albümin atılımında büyük artışlar yer almaktadır [85]. Proteinüri, diyabetik böbrek patolojisinin en önemli bulgusu ve böbrek fonksiyon kaybının güçlü bir habercisidir [86]. Hiperglisemi, böbrek tübül hücrelerinde protein kinaz C' yi aktive ederek, TGF- α sentezini uyarmaktadır. Ayrıca, glukoz ile enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda şekillenen glukozile bileşiklerdeki artış da, böbrek hücrelerinde TGF- α üretimini uyarmaktadır [85]. Ang II' nin profibrotik etkiye sahip olduğu ve endotelin 1, lipid peroksidasyon ürünleri gibi diğer moleküllerin de bu fibrotik işlevde rol oynadıkları bildirilmiştir [82]. Angiotensin değiştirici enzim inhibitörleri (ACE-I), hem Tip 1 diyabet hem de Tip 2 diyabette, böbrek hastalığının ilerlemesini yavaşlatmaktadır [87].

Diyabette böbrek dokusunda meydana gelen değişikliklerde NO' in fonksiyonel olduğu düşünülmektedir, ancak bu olayda artan NO' in rolünün ne olduğu tam olarak açıklanamamıştır. Çeşitli çalışmalar, erken deneysel diyabette, hiperfiltrasyona aracılık eden NO' in artmış olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmalarda, renal kan akışı ve GFR' deki artışta NO' in rolü olduğu ve NO' in dolaylı belirteci olan nitrit/nitrat düzeyinin de, plazmada ve üriner sıvıda kontrol sıçanlara nazaran diyabetik sıçanlarda fazla olduğu bulunmuştur [88, 89]. Diyabetik sıçanlarda, preglomerular damarlar ve glomerular endotelial hücrelerde eNOS anlatımının arttığı belirlenmiştir. Endotelial hücre kültürlerinde, yüksek glukoz konsantrasyonunda eNOS' un anlatımının arttığı tespit edilmiştir [88]. Vaskular endotelial büyüme faktörü (VEGF)' nün, endotelial hücrelerde NO üretimini uyardığı bilinmektedir. Deneysel diyabette, viseral epitel hücrelerindeki VEGF' nin anlatımı ve glomerular kapillerler ve preglomerular ile postglomerular damarların endotelial hücrelerindeki VEGF reseptörleri yeniden düzenlenir. Diyabetik böbrekte, VEGF' nin eNOS anlatımını arttıran alternatif bir aracı olduğuna işaret edilmektedir. İmmünohistokimyasal çalışmalar, başlıca preglomerular ve postglomerular damarların endotelinde- ve glomerular kapillerlerde yer alan eNOS' un diyabetik hayvanlarda arttığını göstermiştir [88]. Diyabette, NO sisteminin nasıl düzenlendiği bilinmemekle birlikte, pek çok olası mekanizma ileri sürülmektedir.

Diyabetik sıçanlarda, makrofajların ürettiği NO ve iNOS mRNA (haberci ribonükleik asit)'sı artar [89]. STZ kaynaklı diyabetik sıçanlarda artan NO üretimi, renal mikrosirkülasyonda, eNOS ile birlikte intrarenal vasodilatasyona aracılık edebilir [88]. Sistemik NOS inhibisyonu, STZ kaynaklı diyabetik sıçanlarda, GFR ve renal plazma akışında (RPF) azalma ve renal vaskular basınçta (RVD) artma ile sonuçlanır. Çünkü, NO yıkılma ürünleri, diyabetik sıçanlarda artar ve NOS inhibitörleri sonrasında azalır; NO sentezinin artışı, diyabetik glomerular hiperfiltrasyona neden olur. Küçük dozlarda NOS inhibitörlerinin uygulanması, sistemik kan basıncının yükselmesi meydana gelmeksizin, diyabetik renal hiperfiltrasyonu iyileştirir [88, 90].

Daha önceki çalışmalar, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, sistemik ve izoform NOS' un özgül olmayan inhibisyonunun, GFR' de ve RPF' de azalışa; ortalama arteriyal basınçta (MAP) yükselişle birlikte, RVD' de artışa neden olduğunu göstermiştir. Düşük dozlarda NOS inhibitörlerinin sistemik uygulanışı, sistemik kan basıncı yükselişi olmaksızın, diyabetik renal hiperfiltrasyonu iyileştirebilir. Bu sonuç, renal NO ürünlerinin lokal inhibisyonunun, diyabetik renal hiperfiltrasyonda önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir [90].

STZ kaynaklı diyabetik sıçanlara, 5 µg/kg/dak dozunda, özgül olmayan NOS inhibitörü olan N-nitro-L-Arginin metilester (L-NAME)' in intravenöz infüzyonu, sistemik kan basıncını etkilemeksizin, renal hiperfiltrasyonu normal değerlere getirmiştir. Renal hiperfiltrasyonun bu iyileşmesi, RVD artışı ve RPF' nin azalması ile birlikte [90]. STZ' li hayvanlara L-NAME uygulanmasıyla, diürezin, %58 oranında azaldığı, L-arginin uygulanmasıyla ise, STZ düzeyine geri döndüğü gösterilmiştir. Bu da diyabet ile NO arasında bir ilişkisinin olduğunu ve renal fonksiyonun L-NAME verilmesi ile kontrol bireylerdeki değerlerine getirilebileceğini göstermiştir [91]. Diyabetik farelerde plazma glukoz konsantrasyonları, kontrole nazaran %50' den fazla yükselmiştir. Sekiz gün L-NAME uygulanması sonucunda, glukoz düzeyi %22, üriner protein salgısı ise, %66 oranında azalmıştır [91].

STZ kaynaklı diyabetik sıçanlarda her üç tip NOS' un inhibisyonu, GFR ve RPF' de düşme, RVD' de yükselme ile sonuçlanır [90]. Bu olayda hangi tip NOS' un rol oynadığı belirlenmemiştir. nNOS' un diyabetik sıçanların böbrek hiperfiltrasyonunda

yer alıp almadığı ile ilgili olarak yapılan çalışmalar, nNOS' un da STZ kaynaklı diyabette hiperfiltrasyonun bir kısmında rol oynadığını göstermiştir [90]. Özgül nNOS inhibitörü olan 7-Nitroindazol (7-NI) uygulanması ile, sistemik kan basıncı etkilenmeksizin, renal hiperfiltrasyon kısmen iyileşmiştir. Ancak, kontrol sıçanlardaki hemodinamik parametreler değişmemiştir. Yüksek dozlarda (50 mg/kg/vücut ağırlığı) 7-NI uygulanması, RPF ve RVD' yi etkilemeksizin, GFR' yi azaltmıştır. Bir başka özgül nNOS inhibitörü olan S-metil-L-tiositrulin (SMTC)' in intravenöz uygulaması, STZ kaynaklı diyabetik sıçanlarda, önemli renal vasokonstrüksiyon oluşturmakla birlikte, GFR' de bir değişikliğe neden olmamıştır. Abdominal aortaya SMTC enjeksiyonu sonucu, renal hiperfiltrasyonda bir iyileşme olmuştur. GFR' nin bu iyileşmesi, SMTC infüzyonundan sonra, RVD' nin artışı ve RPF' nin önemli azalışı ile bağlantılı olabilir. SMTC' nin aorta içine infüzyonu, renal vasokonstrüksiyona neden olmuş ancak MAP ve GFR' yi etkilememiştir [90].

NO substratı olan L-argininin uygulanması ile, kan glukoz düzeyinin önemli ölçüde arttığı, diüresisin STZ değerine ulaştığı, üriner protein salgısının diyabet grubundaki değere geri döndüğü gösterilmiştir [91].

Özgül iNOS inhibitörü olan Aminoguanidin (AG)' in, diyabetik sıçanlara uygulanması sonucunda, damar hipertrofisinde azalma gözlenmiş ve albüminürideki yükselme azalmıştır [92]. Sıçanlarda böbrek ve periferik sinirlerde, diyabet kaynaklı komplikasyonlarda, AG' nin etkileri bildirilmiştir [93-95]. Bununla birlikte, AG' nin diyabetik retinopatide ve eritrosit şeklinin belirlenmesinde yararlı etkileri olduğu bulunmuştur [94].

AG, ilerlemiş glukolizasyon son ürünleri (AGE)' nin bir inhibitörüdür. AG, proteinlerin çapraz bağlanmasını önler ve diyabette, ateroskleroziste, renal hastalıkların düzeltilmesinde ve yaşlanmada kullanılır. Çapraz bağlanmanın önemli sebebi, protein glukolizasyonudur. Bu glukolizasyon, vücut proteinleri ile kan glukozunun kimyasal reaksiyonudur. AG, glukolizasyon yoluyla oluşan çapraz bağlanmaları önler ve inhibe eder [96, 97].

Bu bilgilerin ışığı altında, çalışmamızda, STZ ile diyabet oluşturulan farelerin böbreklerdeki NOS dağılımının histokimyasal olarak belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmada, diyabet ile artan NO' in böbrek dokusunda ne tür bir etki meydana getirdiği ve bu etkinin iNO ile ilişkili olup olmadığı, eğer iNO ile ilişkili ise, özgül iNOS inhibitörü olan AG uygulanmasıyla diyabet gelişiminin önlenip önlenemeyeceğinin belirlenmesi ve ayrıca diyabette artan NO' in, JG hücreler ve renin granüllerinin dağılımı üzerinde etkili olup olamayacağının gösterilmesi amaçlanmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

Bu çalışmada, deney hayvanı olarak, yetişkin 2-3 aylık, ağırlıkları 25-30 gram (g) arasında değişen 24 adet erkek Albino balb/c fare kullanıldı. Hayvanların her biri deney öncesinde ve deney süresince plastik kafeslerde tutularak, standart pelet yem ve musluk suyu ile beslendiler.

Çalışmada kullanılan hayvanlar aşağıda belirtildiği şekilde gruplandırılarak, serum fizyolojik su (FTS), STZ ve AG intraperitoneal (ip) olarak uygulandı.

Kontrol grubu (n:6): [FTS],

STZ grubu (n:6): [Tek doz 150 mg/kg STZ],

STZ+AG grubu (n:6): [Tek doz 150 mg/kg STZ uygulamasından hemen sonra başlanan ve 3 ay süresiyle her gün 100 mg/kg AG],

AG grubu (n:6): [Üç ay süresiyle her gün 100 mg/kg AG].

Deneye başlamadan önce tüm grupların ağırlıkları ve kan glukoz değerleri ölçüldü. Ayrıca, dört farklı grup için bireylerin dağılımları, ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde eşit olarak yapıldı. STZ enjeksiyonundan 1 hafta sonra glukometre ile kan glukoz düzeyleri ölçülerek, hayvanların diyabet olup olmadıklarına bakıldı. Kan glukoz değerleri 180 mg/dl ve üzeri olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi.

Üçüncü ayın sonunda, deney hayvanları, kloroform anestezisi yapılarak kesildi ve böbrek dokuları uygun fiksatiflere alındı. Böbrek parçaları, ışık mikroskobu çalışmaları için %10' luk formalin, histokimyasal çalışmalar için %4' lük paraformaldehit ve elektron mikroskobu çalışmaları için ise %2' lik glutaraldehit eriyiklerinde fikse edildiler.

3. 1. IŞIK MİKROSKOBU ÇALIŞMALARI

Işık mikroskobu incelemeleri için, böbrek parçaları, %10' luk formalin fiksatifinde tespit edildikten 24 saat sonra, % 70 alkole alındı ve alkol birkaç defa değiştirilerek

fiksatifin dokulardan çıkması sağlandı. Daha sonra, yükselen alkol serilerinden geçirilerek ksilolde saydamlaştırılan parçalar, parafine (58 °C' lik) gömüldü. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitlere, hematoksin-eozin (H+E) boyama yöntemi ve glukozaminoglikanların gösterilmesi için de periyodik asit-Schiff (PAS) reaksiyonu uygulandı.

Bowie yöntemi: Parafin bloklardan alınan kesitlere, ayrıca PITCOCK ve HARFROFT [98] tarafından geliştirilmiş olan Bowie yöntemi uygulanarak, JG hücrelerdeki renin granülleri incelendi. Bu yöntem için, Bowie stok eriyiği kullanıldı.

Bowie stok eriyiğinin hazırlanışı: 1 g Biebach scarlet, 250 ml distile suda çözülerek, hemen filtre kağıdından süzüldü. 2 g etil violet, 500 ml saf suda eritilip, aynı kaba süzüldü. Elde edilen karışım tekrar süzülerek, filtre kağıdı üzerinde kalan çökelti kurutuldu. Stok eriyik, 0,2 g kuru çökeltinin 20 ml % 95 alkolde eritilmesiyle hazırlandı.

Bowie yönteminin uygulanması esnasında, parafin bloklardan alınan kesitler, ksilol ve inisi alkol serilerinden geçirildikten sonra, alkol iodiinde (% 50 alkolde % 1' lik) 3 dakika, sodyum tiyosülfatta (% 5' lik) 3 dakika bekletilerek akarsuya kadar getirildi. Yaklaşık 40 °C' de potasyum bikromatda (% 2,5' lik) bir gece mordanlanan ve daha sonra saf suyla çalkalanan kesitler, 100 ml % 20 alkole 10-15 damla stok Bowie solüsyonu damlatılarak elde edilen boya içinde, 40 °C' lik etüvde 3 saat bekletildikten sonra, 1 gece oda ısısında bırakıldı. Kesitler, filtre kağıdı ile dikkatli bir şekilde kurutulduktan sonra, boyanın fazlasının çıkması için 2-3 defa asetona batırıldı. Daha sonra kesitler, ksilol ve karanfil yağı (1:1) karışımında, kırmızı veya kırmızımsı mor oluncaya kadar, yaklaşık olarak 15-20 dakika bekletildi ve bunu takiben de, ksilol ve benzenden geçirildi ve lamel kapatıldı. Işık mikroskopunda incelenen kesitlerde, JG hücrelerdeki renin granüllerinin dağılımı gözlemlendi.

NADPH-diaforez yöntemi: Hayvanlardan alınan böbrek parçaları, pH: 7,4 olan 0,1 M 100 ml fosfat tamponunda hazırlanan % 4' lük paraformaldehitde 2 saat (+4 °C) tespit edildikten sonra, pH: 7,4 olan 0,1 M 100 ml fosfat tamponunda hazırlanan % 15' lik

sükrozda 1 gece (+4 °C) bekletildiler. Dondurma mikrotomunda 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler, lamlara yapıştırılarak boyama işlemine kadar –20 °C’ de tutuldular.

NOS’ un katalitik aktivitesi, NADPH-d varlığında, nitro blue tetrazolium (NBT)’ un enzimatik reaksiyonu ile gösterildi. Kesitler % 0,3’ lük Triton X-100, % 0,01 NBT, %0,1 β-NADPH-d ve 0,1 M Tris HCl (pH: 7,6) içeren 0,1 M fosfat tamponunda (pH: 7,4) 37 °C’ de 15-20 dakika inkübe edildi. Kesitler, fosfat tamponu (pH: 7,4) ve saf su ile yıkandıktan sonra, gliserol jelatin ile kapatıldı ve dokuda NOS enziminin dağılımındaki değişiklikler ışık mikroskopunda incelendi [99].

Işık mikroskobu fotoğrafları, Carl-Zeiss Ultrapod II fotomikroskobu aracılığı ile çekildi.

3. 2. ELEKTRON MİKROSKOBU ÇALIŞMALARI

Çalışmada kullanılan hayvanlardan alınan böbrek parçaları, Sörensen fosfat tamponunda (pH: 7,4) hazırlanan % 2’ lik glutaraldehitde (+4 °C) 1 gece, % 1’ lik Osmiumtetraoksit (OsO₄)’ de 1 saat tespit edilmesini takiben, yükselen alkol serilerinden ve propilen oksitden geçirilerek, Epon 812’ ye gömüldüler.

Epon bloklardan, Reichert OM U 3 ultramikrotomunda yaklaşık 600 Å kalınlığında alınan ince kesitler, bakır gridlere yerleştirildiler ve daha sonra % 5’ lik uranil asetat [100] ve kurşun sitrat [101] ile boyanarak, Zeiss EM 9S2 elektron mikroskopunda incelendiler.

4. BULGULAR

Deney öncesi yapılan ölçümlerde, grupları oluşturan bireylerin ağırlıkları, 25-30 g arasında değişmekteydi. Kan glukoz değerleri ise, 70 ile 140 mg/dl arasındaydı. STZ enjeksiyonundan bir hafta sonra, hayvanların kan glukoz seviyeleri yükselmeye başladı. Deney hayvanlarının dokuları alınmadan önce ise bu seviye, en yüksek düzeydeydi. Değerler, kontrol gruplarında, deney öncesi ile benzerlik gösterirken, STZ ve STZ+AG gruplarında 180-370 mg/dl arasında olacak şekilde yükselme gösterdi. Ayrıca, ölçümler sonucu, STZ ve STZ+AG gruplarında, 2 g' a yakın bir ağırlık azalması belirlendi.

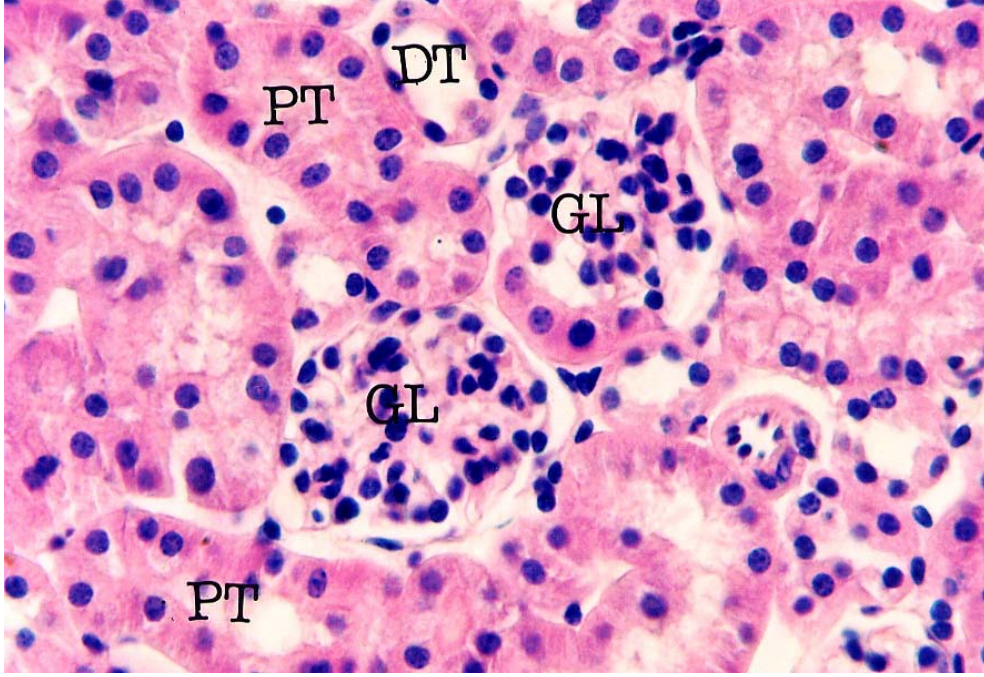
4. 1. IŞIK MİKROSKOBU BULGULARI

Kontrol grubuna ait bireylerin H+E ile boyanan böbreklerinde, korteksdeki proksimal tübül, distal tübül, Bowman kapsülü ve glomerular yumağın düzenli yapılarının (Şekil 4. 1. 1, 2, 3 a-b), deneysel diyabet oluşturulmasında kullanılan maddelerden biri olan STZ uygulanan bireylerin böbreklerinde oldukça belirgin değişiklikler gösterdiği tespit edildi. STZ uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksindeki proksimal tübüllerde, fırça kenarlar oldukça fazla hasar görmüş ve devamlılıklarını kaybetmişti. Hücre yüksekliği artmış, proksimal tübül lümeni daralırken, tübüllerin bazal kısımlarında da yer yer bozukluklar oluşmuştu (Şekil 4. 1. 4 a-c). Yine bu grupta, glomerular yumak ile birlikte, parietal ve viseral yaprakta da düzensizlikler görüldü. Kapillerlerdeki eritrosit kümelenmesi kontrol grubu bireyleriyle karşılaştırıldığında, aralarında oldukça büyük bir fark vardı (Şekil 4. 1. 5 a-b, 6, 7 a-b). Ayrıca, Bowman kapsülü aralığı da kontrol grubundan (Şekil 4. 1. 3 a-b) genişti ve bu genişlemiş alanda eritrositlere rastlanmaktaydı (Şekil 4. 1. 6, 7 a-b). STZ uygulanması, böbrek dokusunda kanama alanları oluşturmaktaydı ve bazı bölgelerde peritübular alanlar oldukça fazla eritrosit kümelenmesi göstermekteydi (Şekil 4. 1. 8, 9 a-b). Ayrıca, damarlar etrafında ve tübüller arasında da kanama alanlarına rastlanmaktaydı (Şekil 4. 1. 10 a-b). Lökositler, hem damar içinde hem de peritübular alanlarda kontrol grubundakilerden fazlaydı (Şekil 4. 1. 11).

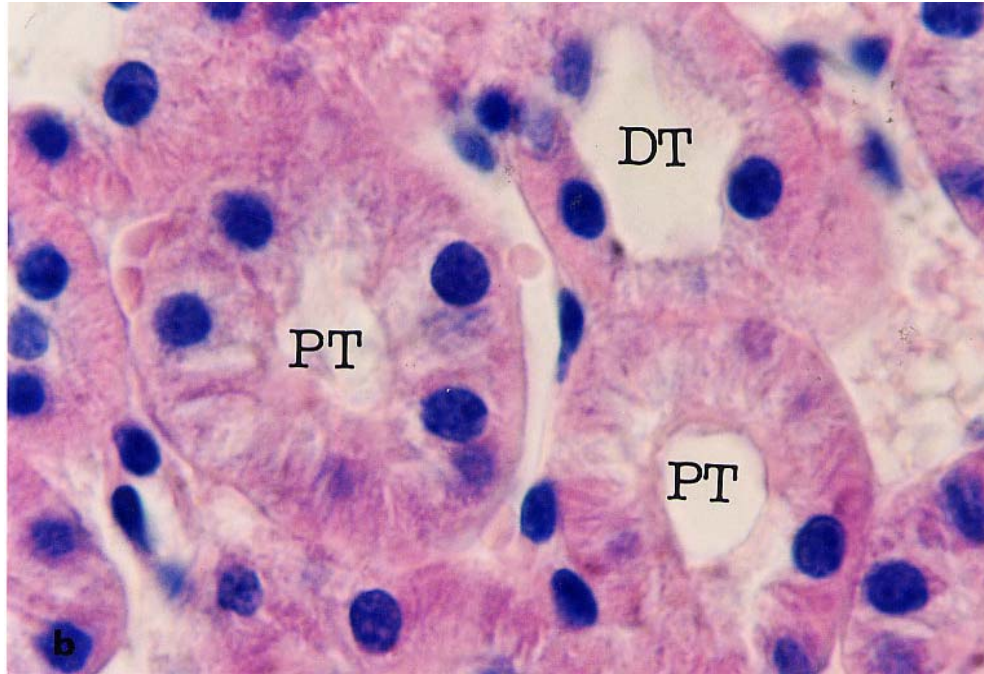
STZ enjeksiyonundan hemen sonra başlanan ve 3 ay süresince her gün AG uygulanan deney grubuna ait hayvanların proksimal tübüllerinin fırça kenarlarında, STZ uygulanan

gruba nazaran hasarlı bölgeye daha az rastlanmaktaydı (Şekil 4. 1. 12, 13). Ancak, bazı bölgelerde, STZ' nin meydana getirdiği hasar belirgindi, fırça kenarın devamlılığını koruyamadığı görüldü (Şekil 4. 1. 12). Glomerular yumakta, STZ uygulanan grupta olduğu gibi, kapillerlerde düzensizliklere, parietal yaprak endotelinde bozukluklara rastlandı. Kapsüler alan, kontrol grubuna benzemekteydi (Şekil 4. 1. 14, 15). Kapillerlerin bozulmasıyla, kapsüler alana geçmiş eritrositler de gözlenmekteydi (Şekil 4. 1. 16). STZ' den sonra uygulanan AG, STZ ile kanama alanlarının oluşmasını engelleyemedi. Peritübular alandaki eritrosit kümelenmeleri bu grupta da belirgindi (Şekil 4. 1. 17 a-b).

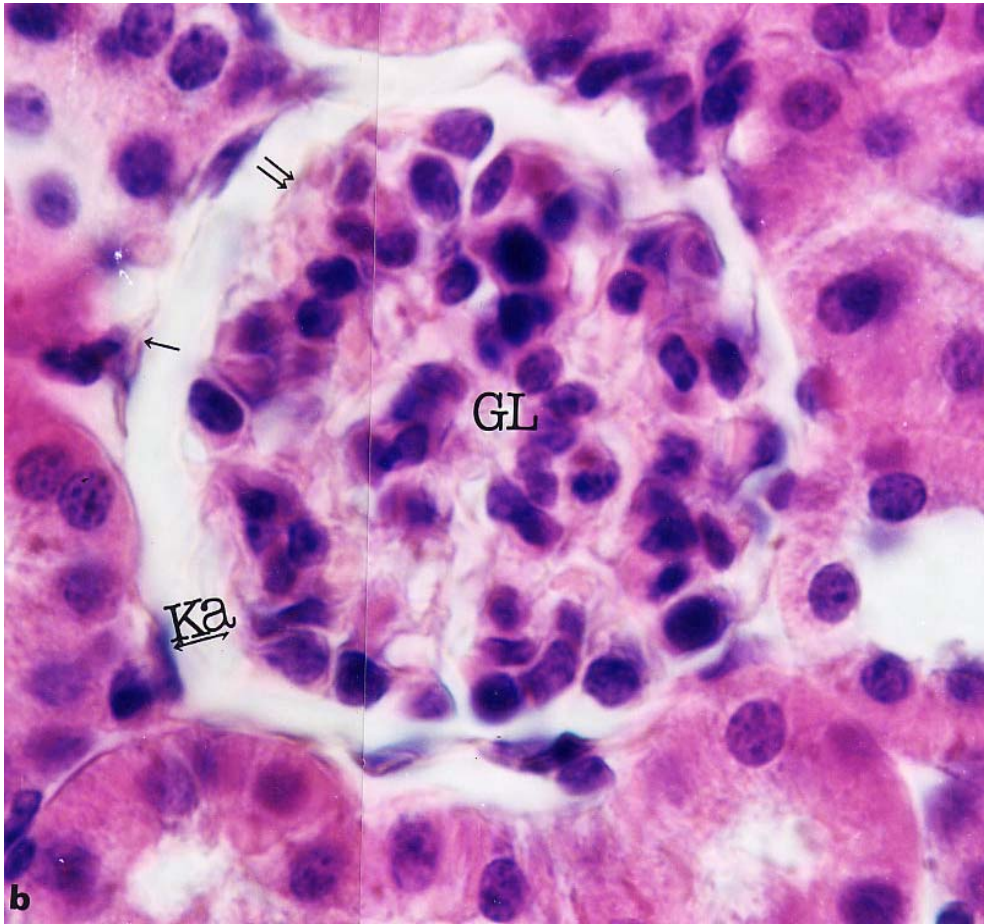
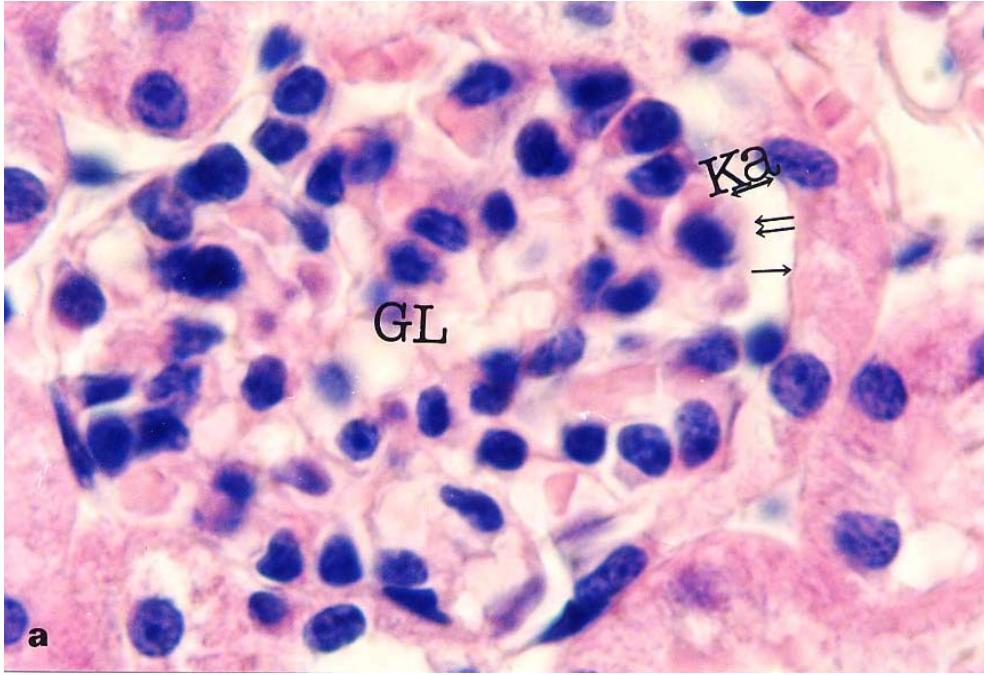
Sadece AG uygulanan deney grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, pek çok bölgede proksimal tübüllerin fırça kenarları kontrol grubu bireylerine göre daha belirgindi ve oldukça düzenliydi (Şekil 4. 1. 18 a-c). Yine bu deney grubunda, glomerular yumakta kapillerler içindeki eritrosit düzeni kontrol grubuna benzemekteydi. Ayrıca, Bowman kapsülü aralığı dar ve düzenliydi (Şekil 4. 1. 19). Kan damarları muntazamdı, peritübular alanlarda kanama bölgeleri ve lökosit artışı yoktu (Şekil 4. 1. 20).



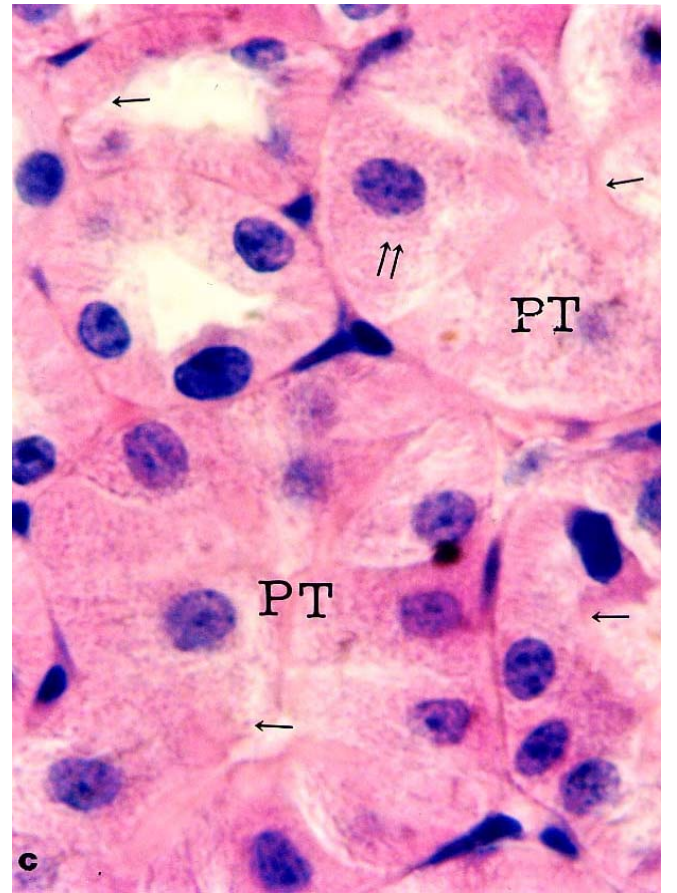
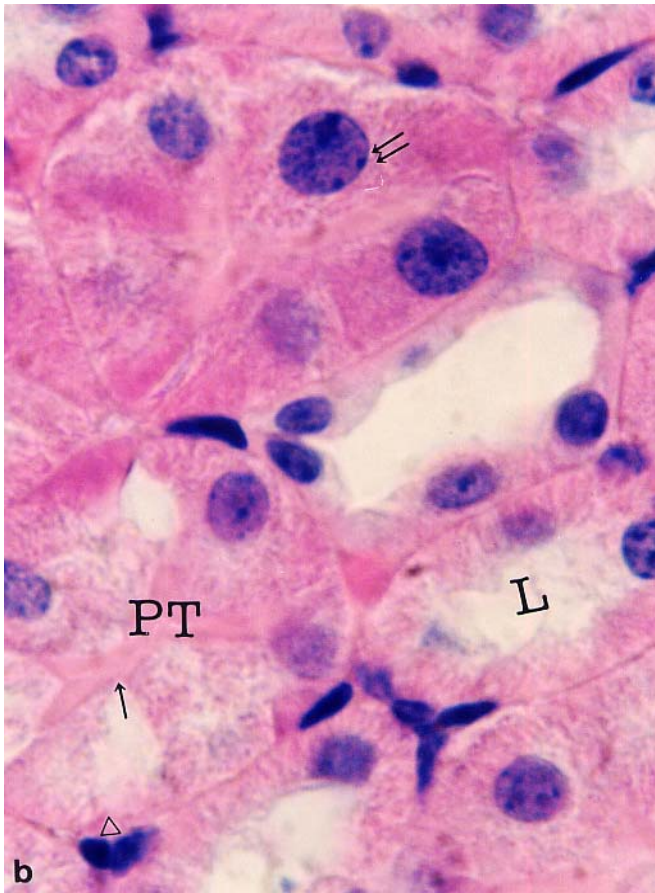
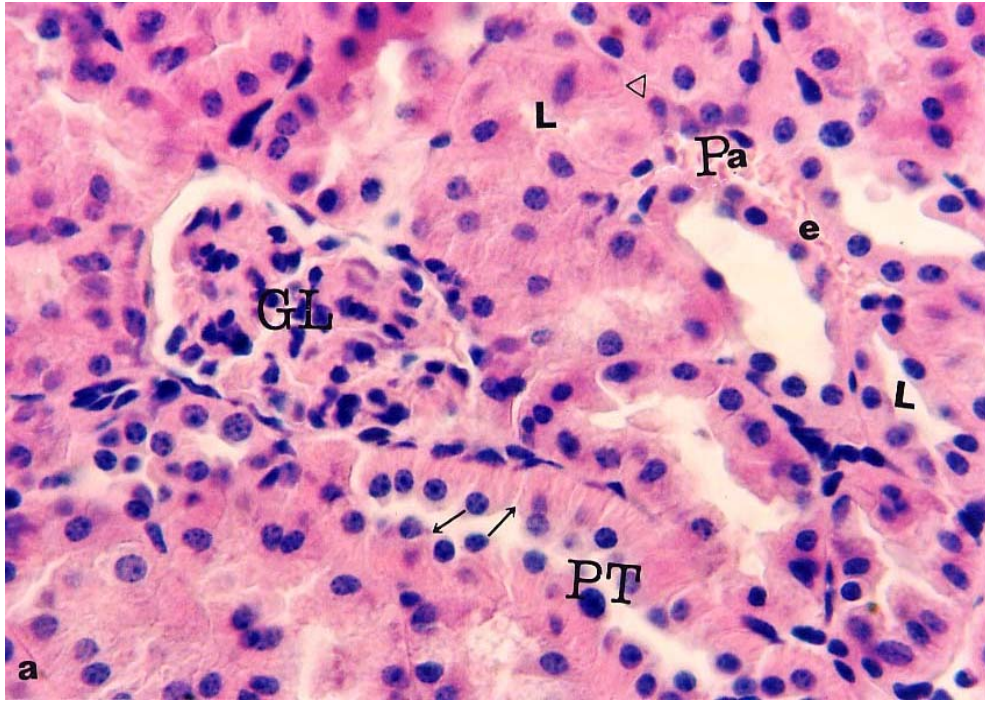
Şekil 4. 1. 1: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), proksimal tübüller (PT) ve distal tübüller (DT). H+E, X600.



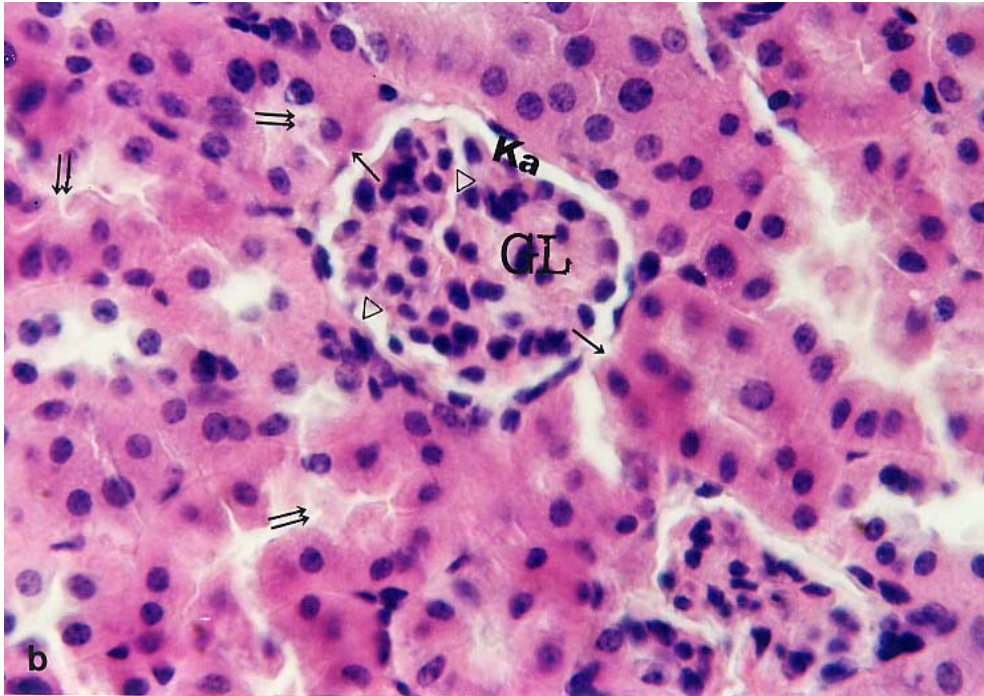
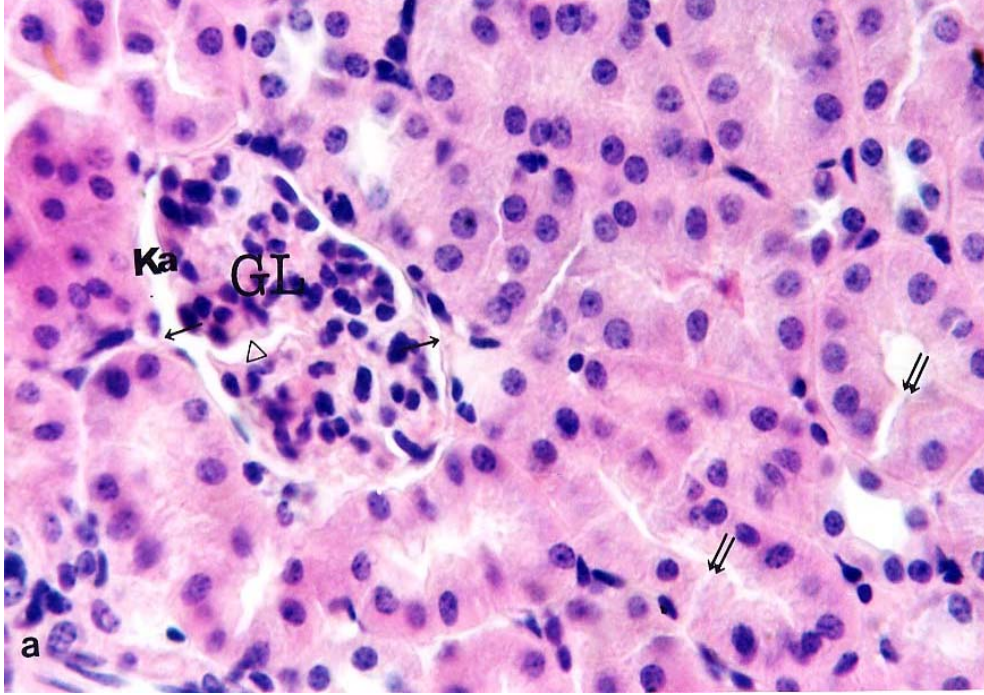
Şekil 4. 1. 2: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde proksimal tübüller (PT) ve distal tübüller (DT). H+E, X1500.



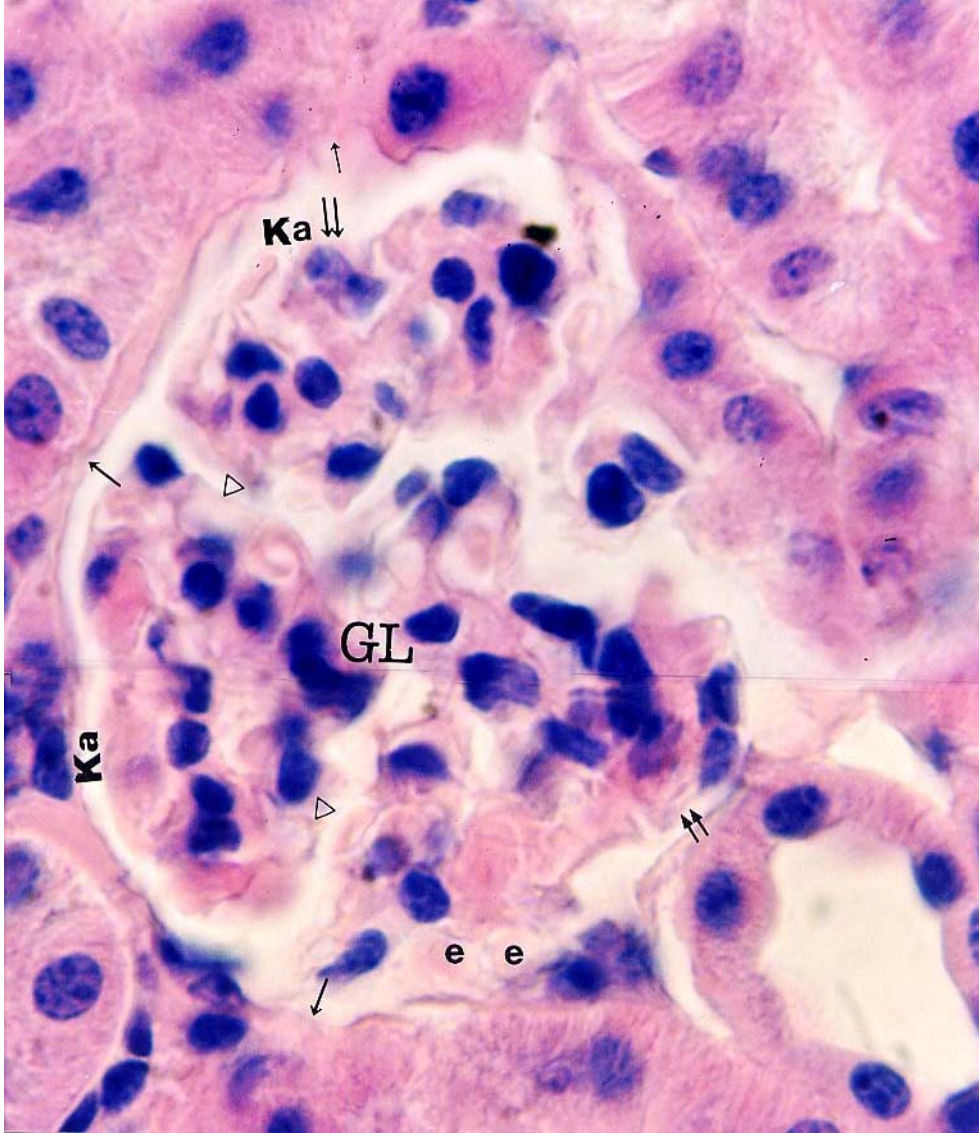
Şekil 4. 1. 3 a-b: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde glomerular yumak (GL), kapsüler alan (\leftrightarrow Ka), parietal yaprak (\uparrow) ve viseral yaprak ($\uparrow\uparrow$). H+E, a-b) X1500.



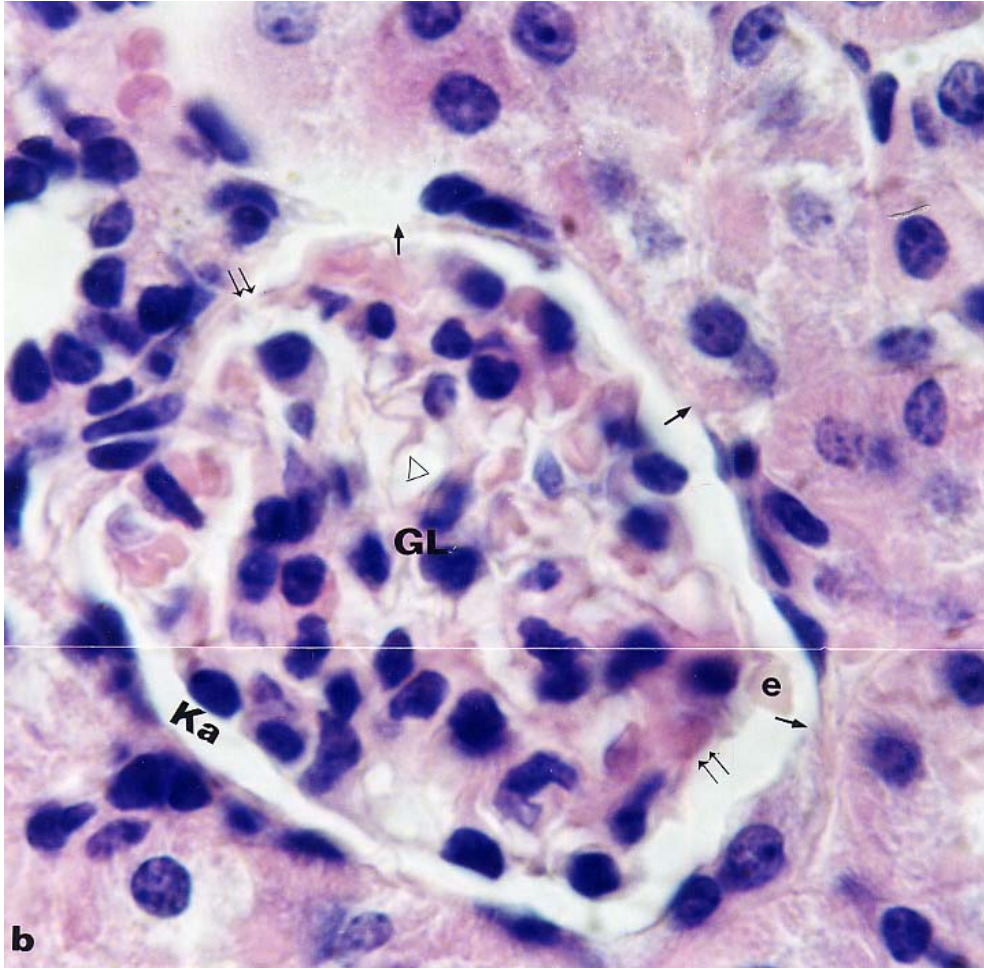
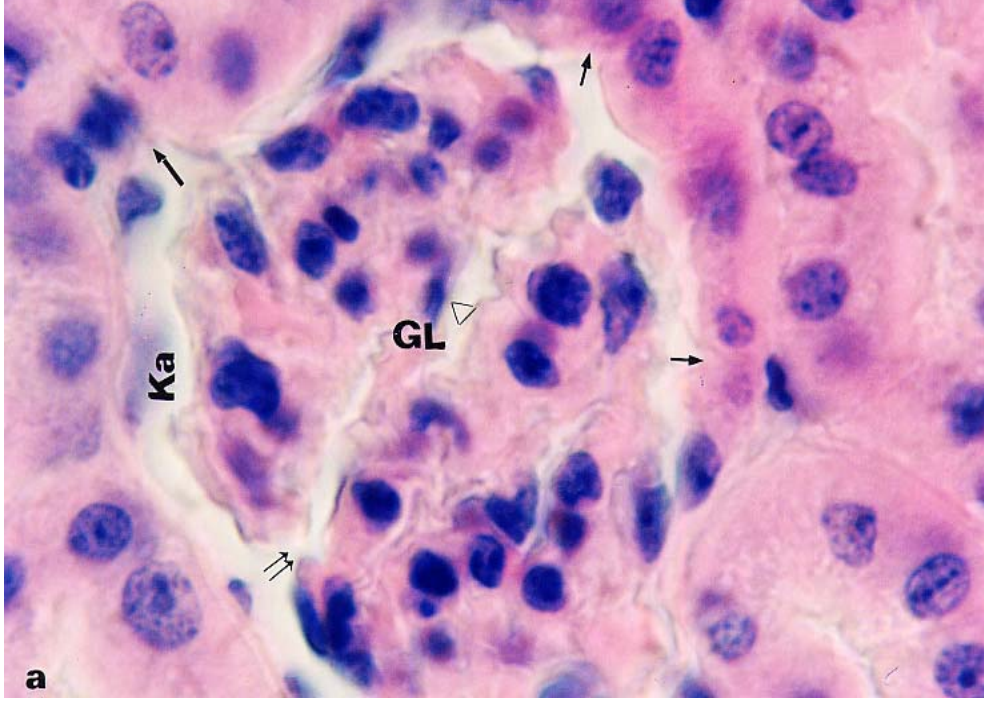
Şekil 4. 1. 4 a-c: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, hasara uğramış, devamlılığı kaybolmuş fırça kenara (↑) sahip proksimal tübüller (PT) ve bazal kısımlarındaki bozukluklar (Δ), yüksekliği artmış proksimal tübül hücreleri (↑↑) ve daralmış tübül lümeni (L) ile peritübüler alanda (Pa) eritrositler (e). H+E, a) X600, b-c) X1500.



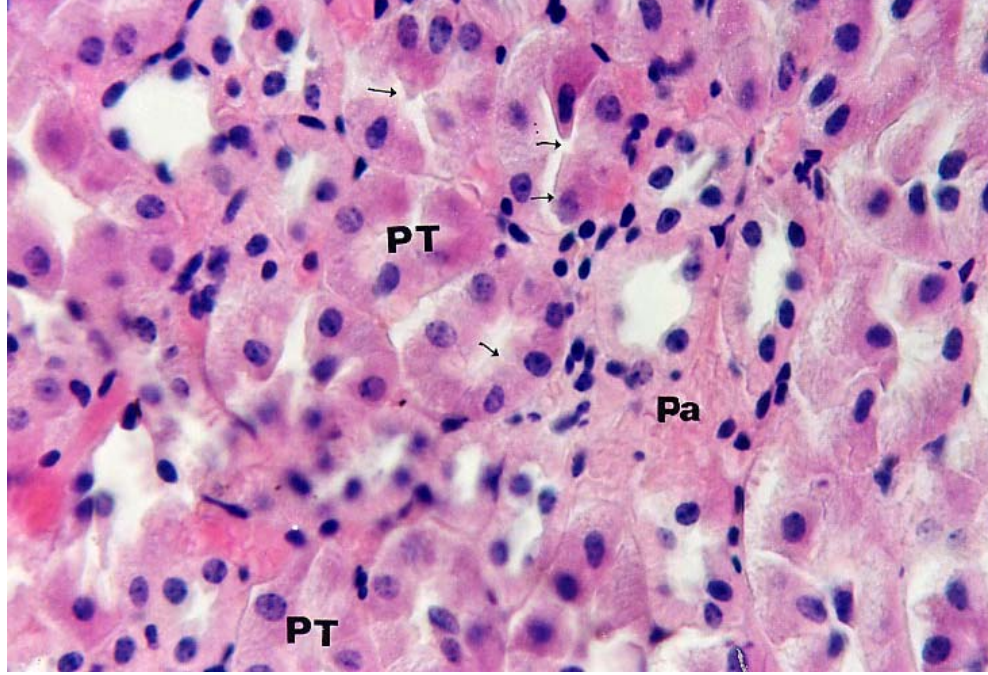
Şekil 4. 1. 5 a-b: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumaktaki (GL) kapillerlerde düzensizlikler (Δ), parietal yapraktaki bozulmalar (↑), fırça kenardaki düzensizlikler (↑↑) ve kapsüler alan (Ka). H+E, a-b) X600.



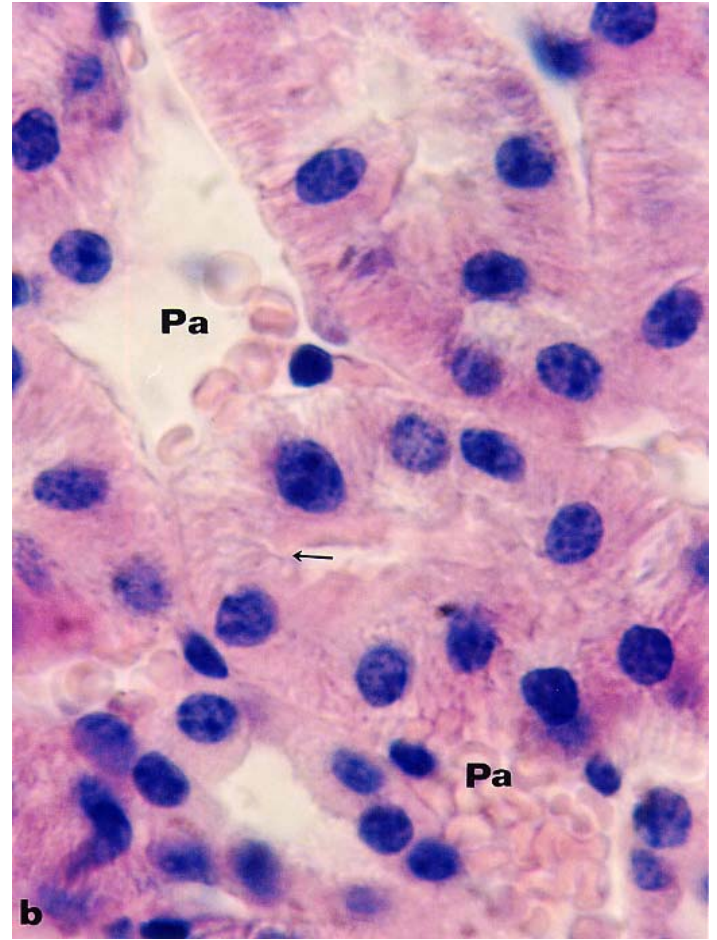
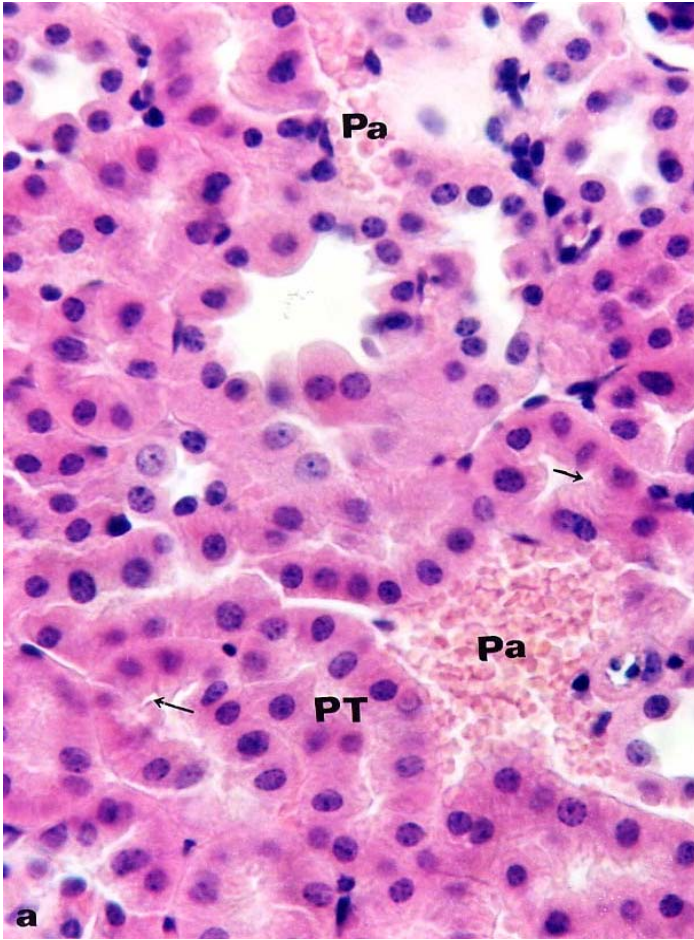
Şekil 4. 1. 6: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumaktaki (GL) kapillerlerde düzensizlikler (Δ), kapsül alan (Ka), parietal yaprak (\uparrow) ve viseral yapraktaki bozulmalar ($\uparrow\uparrow$) ile eritrositler (e). H+E, X1500.



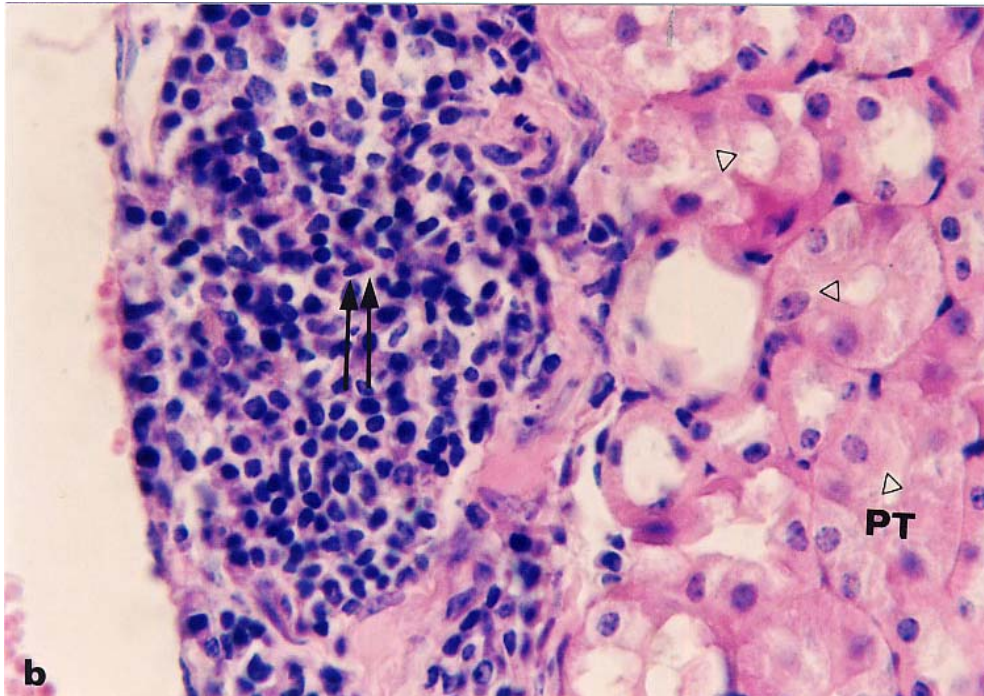
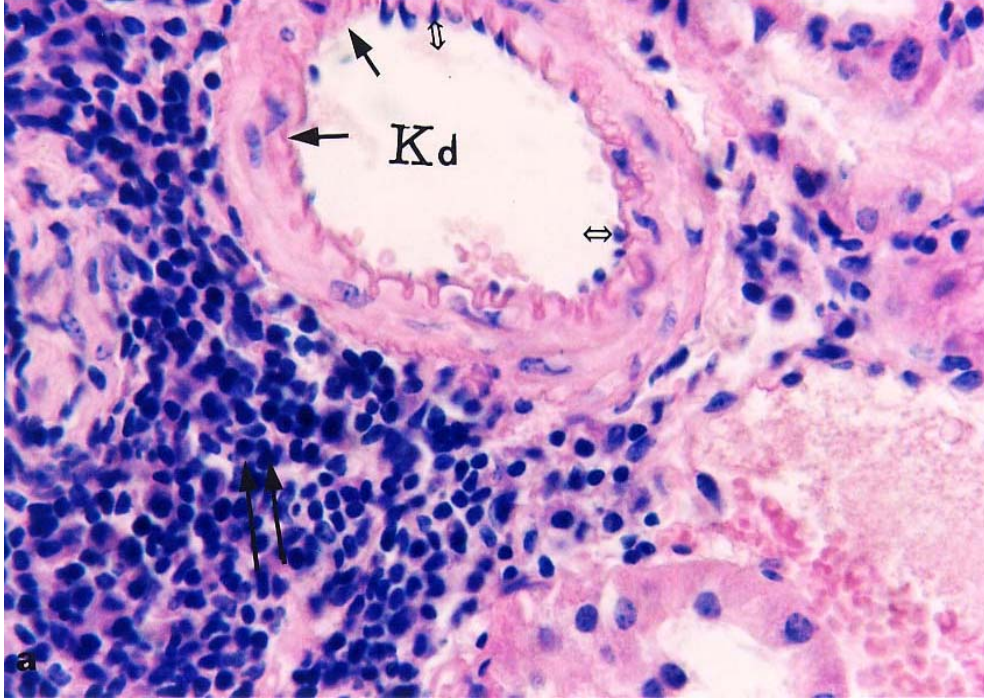
Şekil 4. 1. 7 a-b: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, Şekil 3. 1. 6' dakine benzer bozukluklar görülmektedir. Glomerular yumak (GL) kapillerleri (Δ), kapsüler alan (Ka), bozulmuş parietal yaprak (\uparrow), viseral yaprak ($\uparrow\uparrow$) ve eritrosit (e). H+E, a-b) X1500.



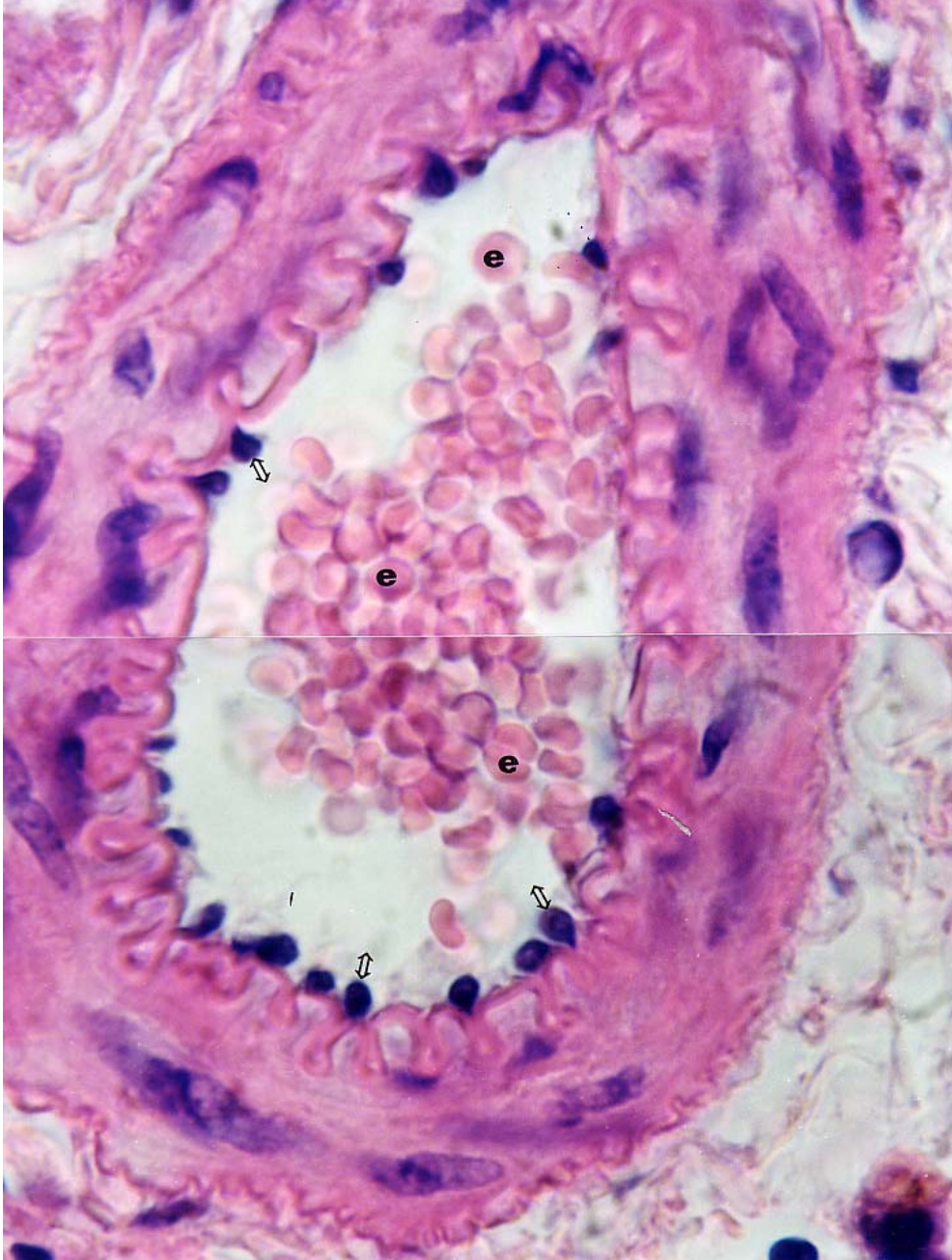
Şekil 4. 1. 8: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, genişlemiş peritübüler alanlarda (Pa) eritrositlerin bulunduğu kanama bölgeleri. Proksimal tübüllerde (PT) bozulmuş, devamlılığını kaybetmiş fırça kenarlar (↑). H+E, X600.



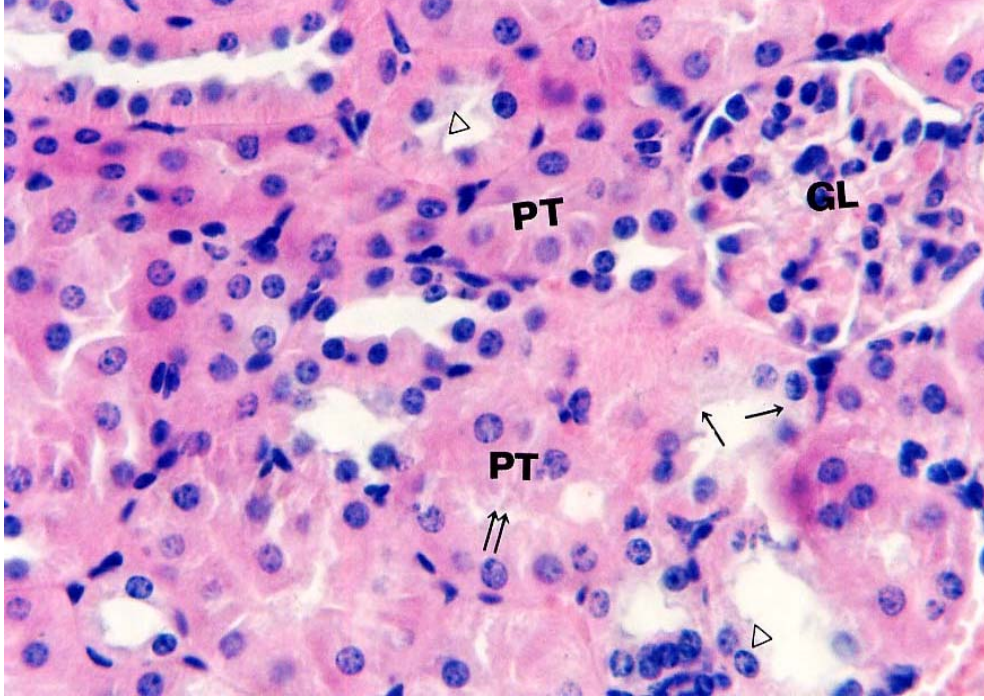
Şekil 4. 1. 9 a-b: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, peritübüler alanda (Pa) eritrositlerin kümелendiği kanama bölgeleri. Proksimal tübüllerde (PT) bozulmuş, devamlılığını kaybetmiş fırça kenarlar (↑). H+E, a) X600, b) X1500.



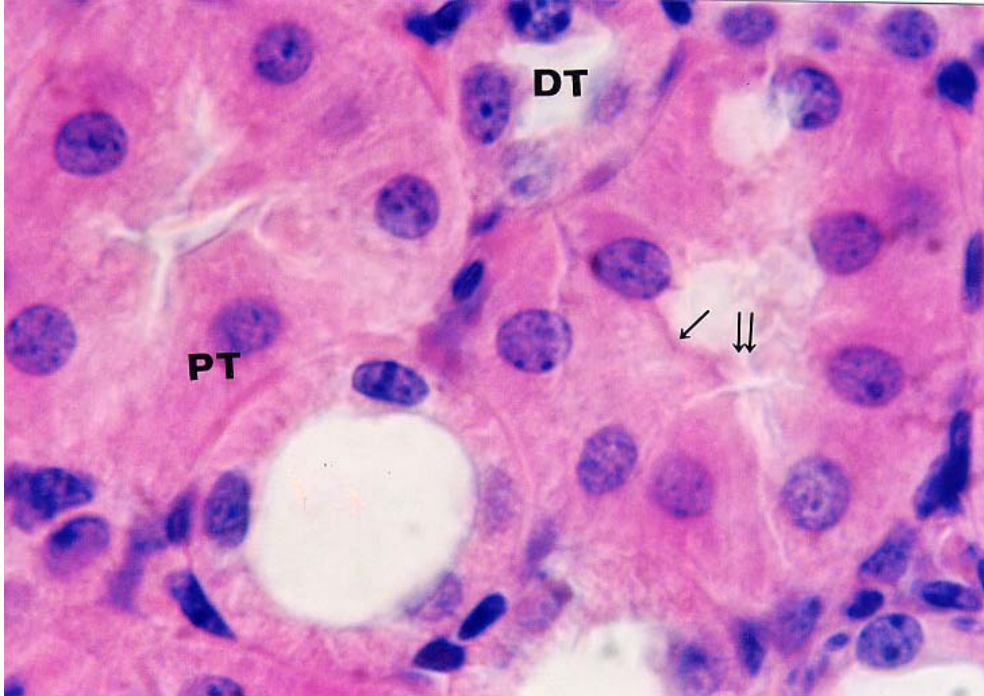
Şekil 4. 1. 10 a-b: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, endotel tabakası zarar görmüş (↑) kan damarı (Kd), kan damarı etrafındaki inflamasyon alanı (↑↑) ve lökositler (⇔), proksimal tübüllerin (PT) devamlılığı kaybolmuş fırça kenarı (Δ). H+E, a-b) X1500.



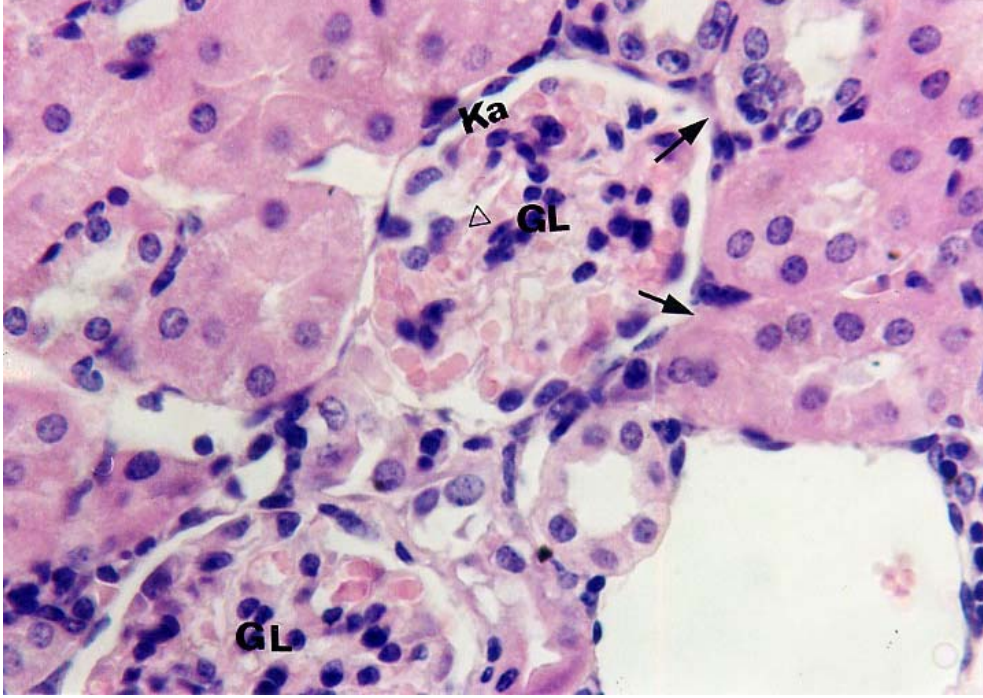
Şekil 4. 1. 11: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, bir arteriyol, çok sayıda lökosit (\Leftrightarrow) ve eritrositler (e). H+E, X1500.



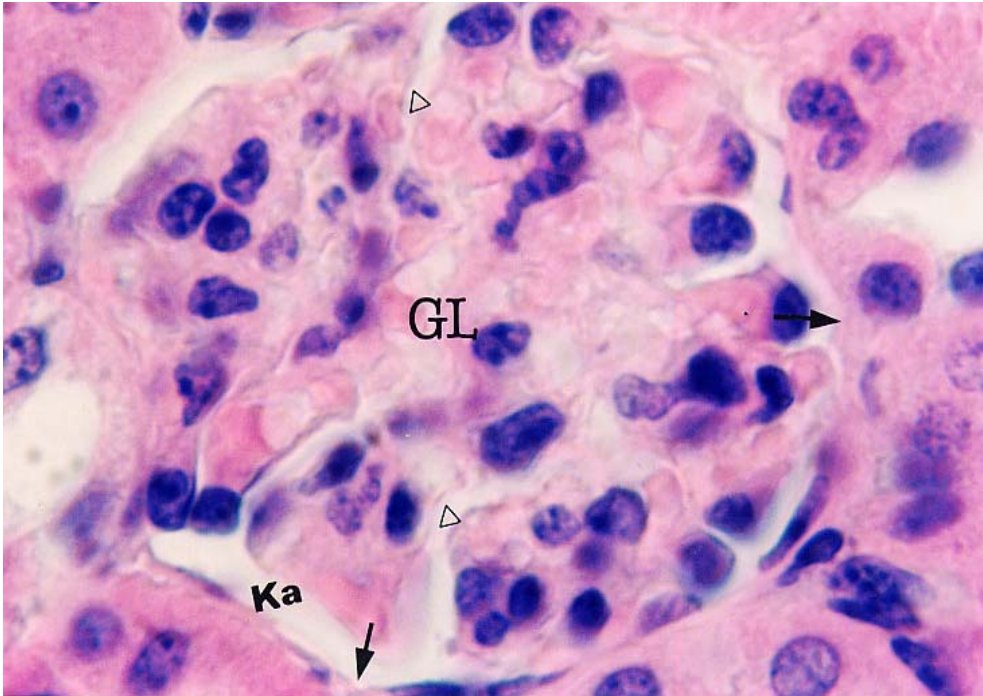
Şekil 4. 1. 12: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksindeki proksimal tübüllerde (PT) kontrol grubuna benzer fırça kenarlar (↑) ile bazı bölgelerde, STZ uygulamasından sonra meydana gelen hasarın devam ettiği proksimal tübüllerin (PT) düzensiz fırça kenarları (↑↑). H+E, X600.



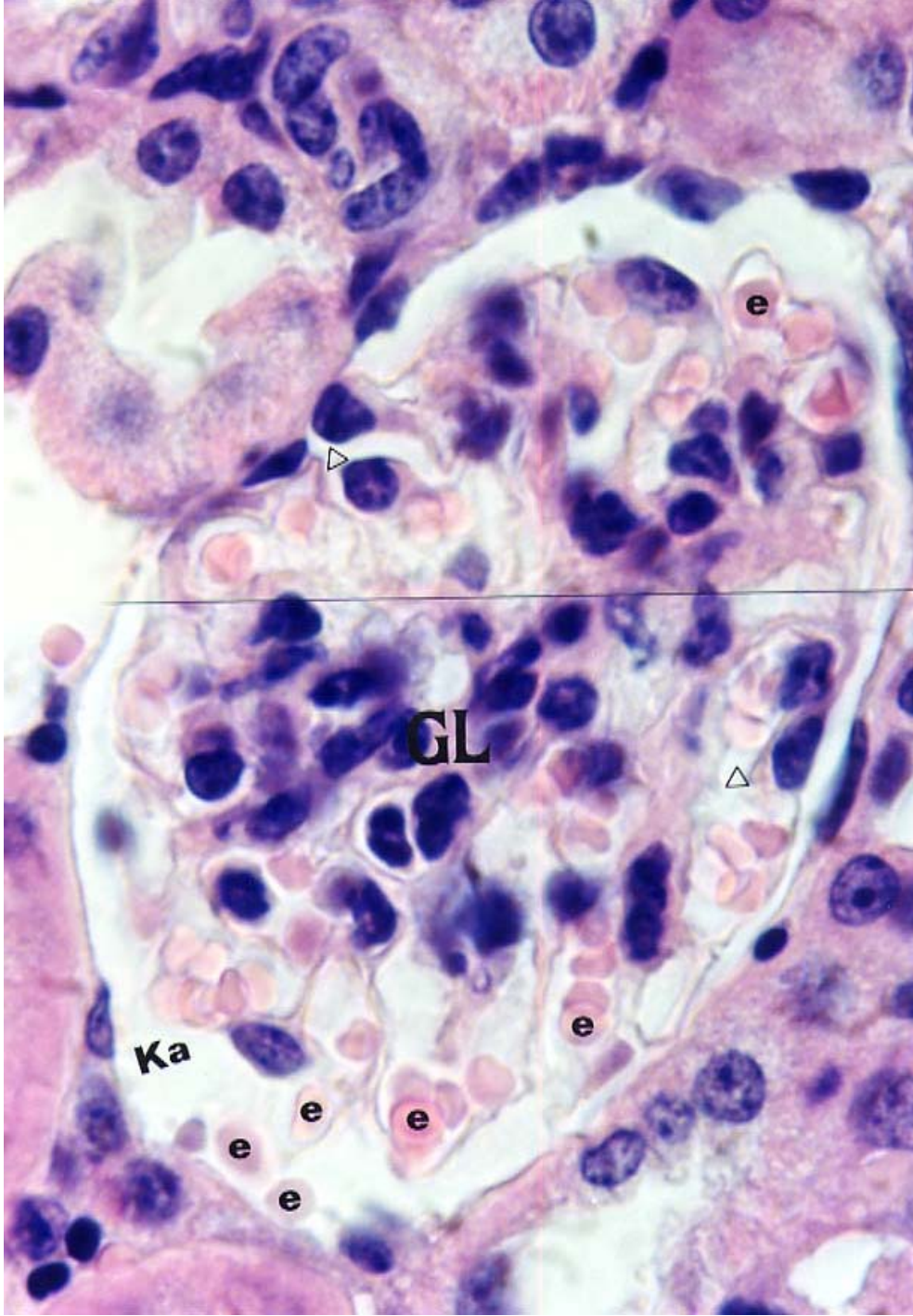
Şekil 4. 1. 13: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksindeki proksimal tübüllerde (PT), düzenli (↑) ve düzensiz fırça kenarlar (↑↑). H+E, X1500.



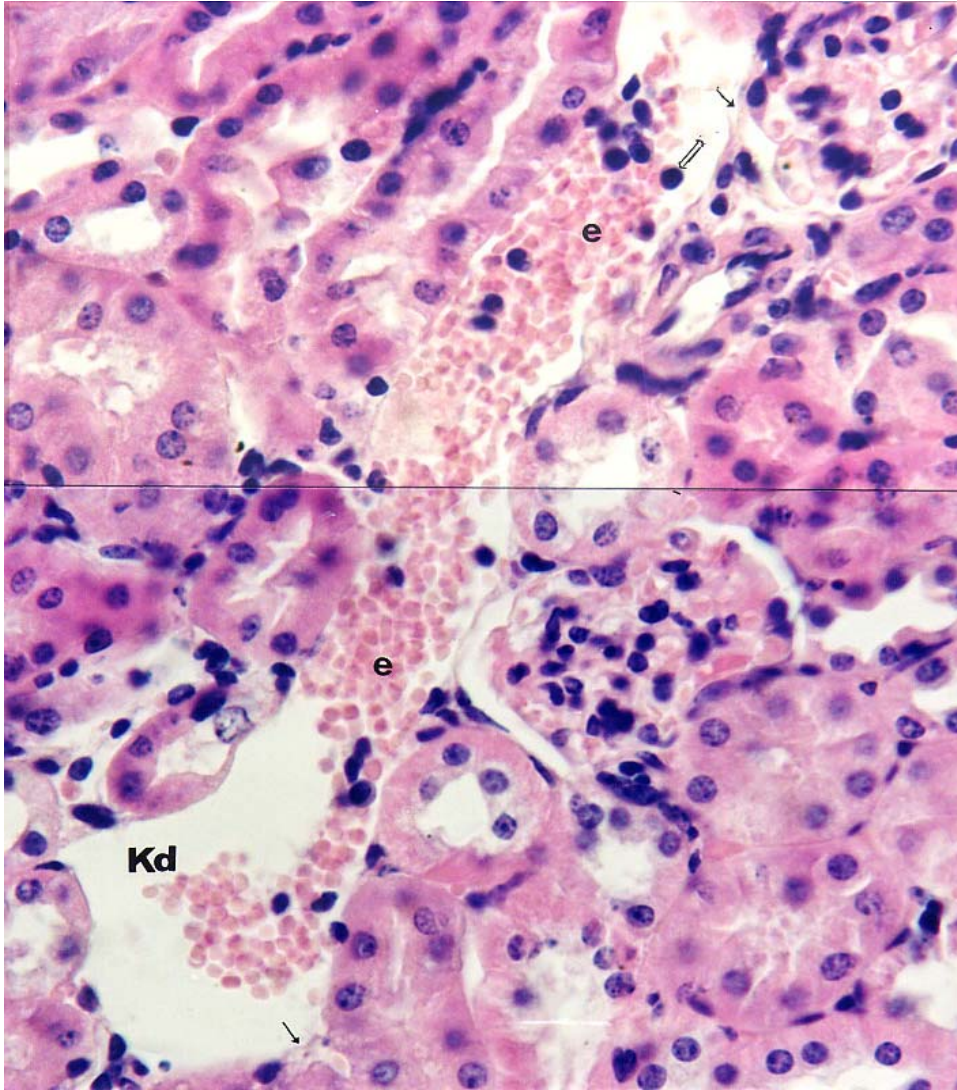
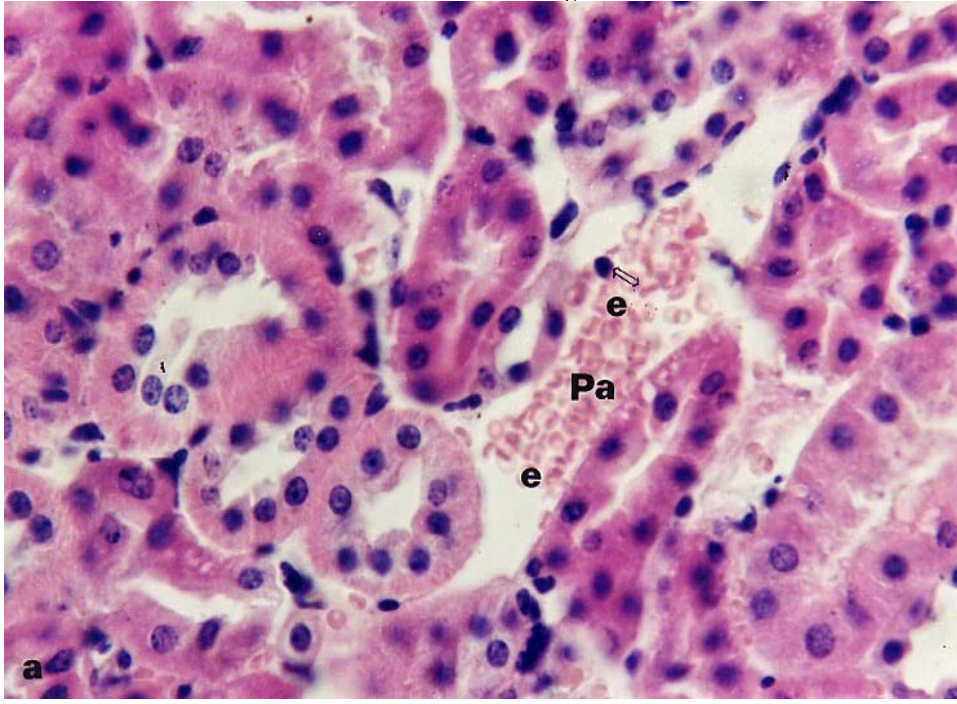
Şekil 4. 1. 14: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumaktaki (GL) kapillerlerde düzensizlikler (Δ), parietal yapraktaki bozukluklar (\uparrow) ve kapsüler alan (Ka). H+E, X600.



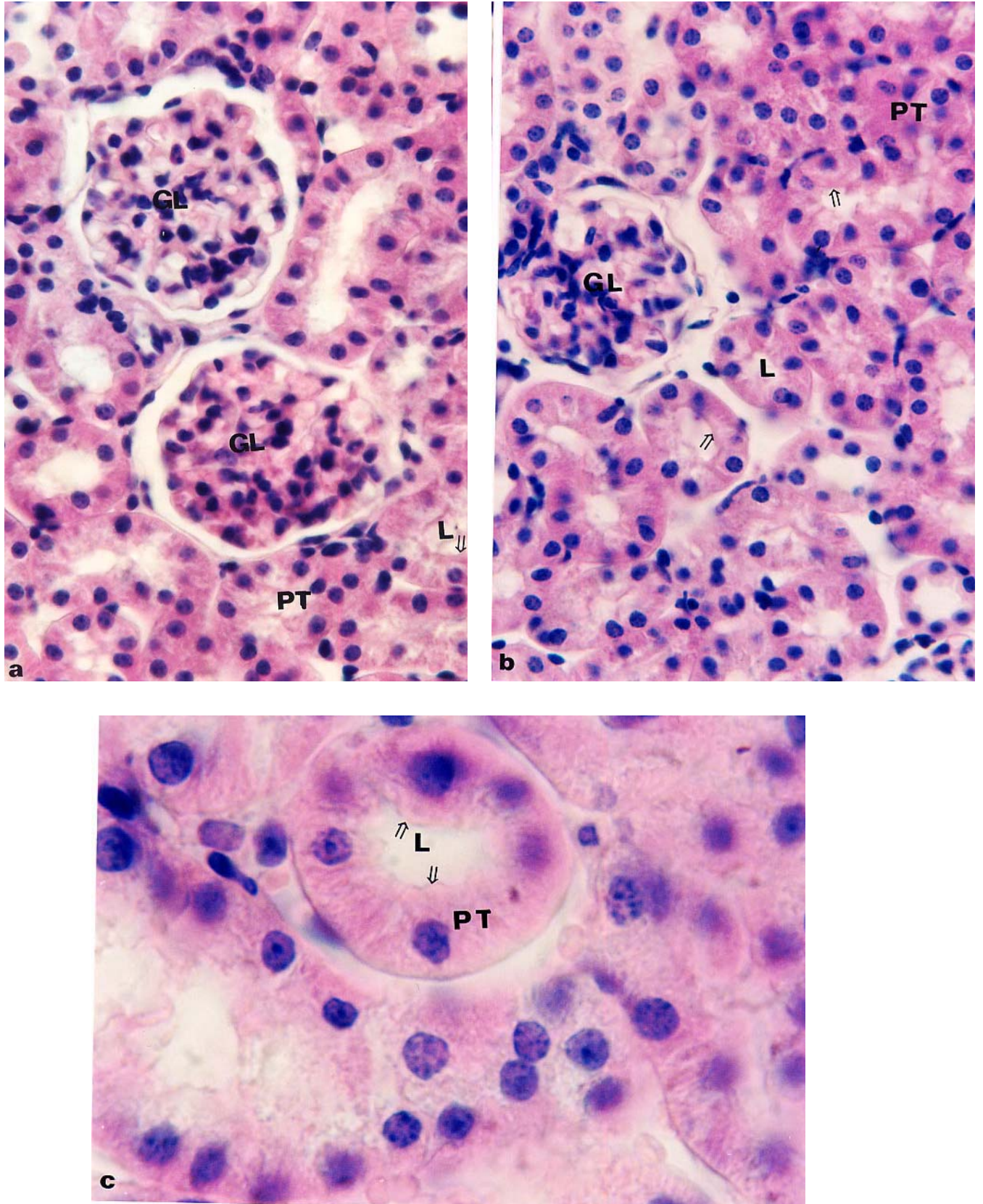
Şekil 4. 1. 15: STZ+AG grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumaktaki (GL) kapillerlerde düzensizlikler (Δ), parietal yaprakta yer yer bozukluklar (\uparrow) ve kontrol grubundakine benzer kapsüler alan (Ka). H+E, X1500.



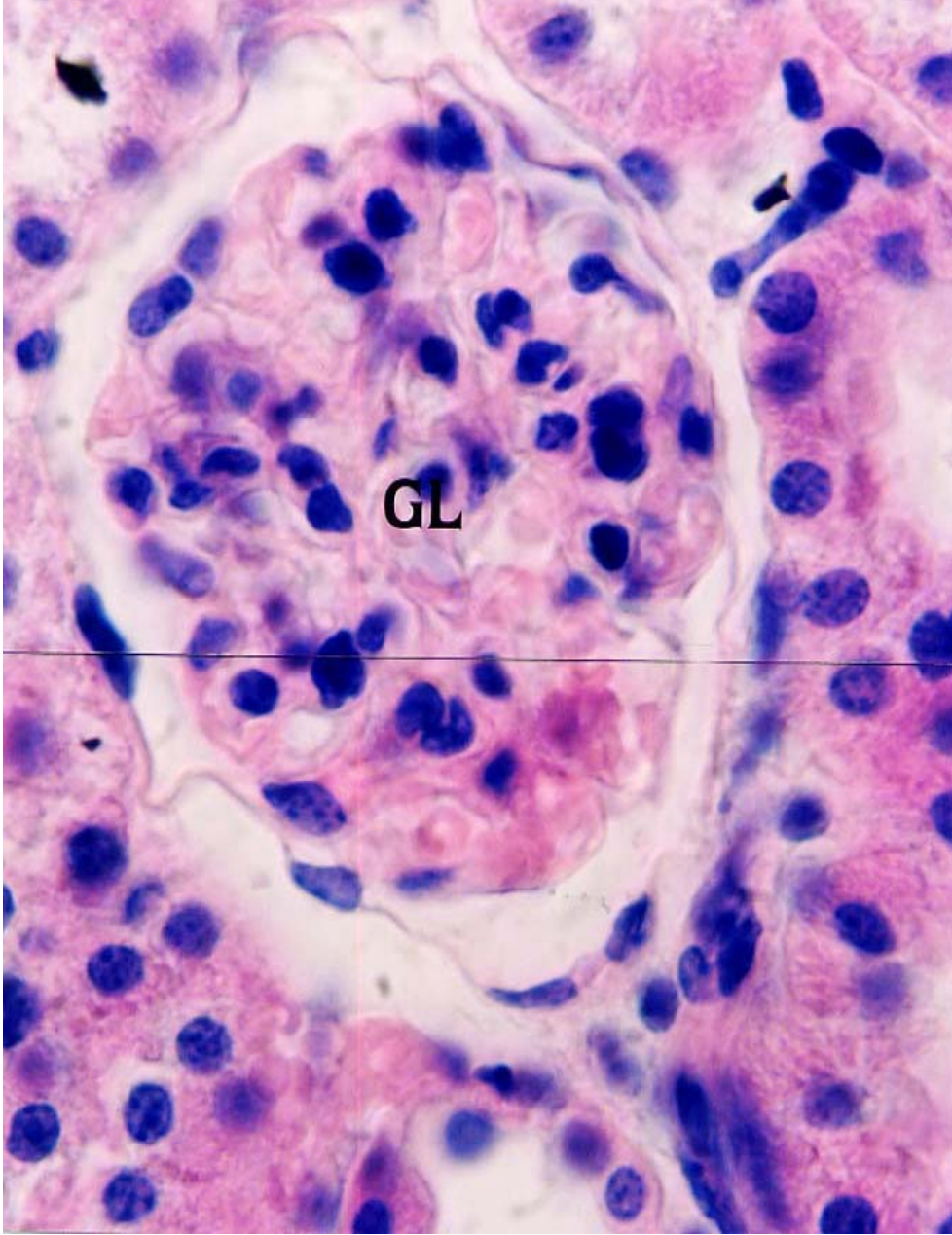
Şekil 4. 1. 16: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumaktaki (GL) kapillerlerde düzensizlikler (Δ), kapillerlerin bozulmasıyla kapsüler alana (Ka) geçmiş eritrositler (\uparrow). H+E, X1500.



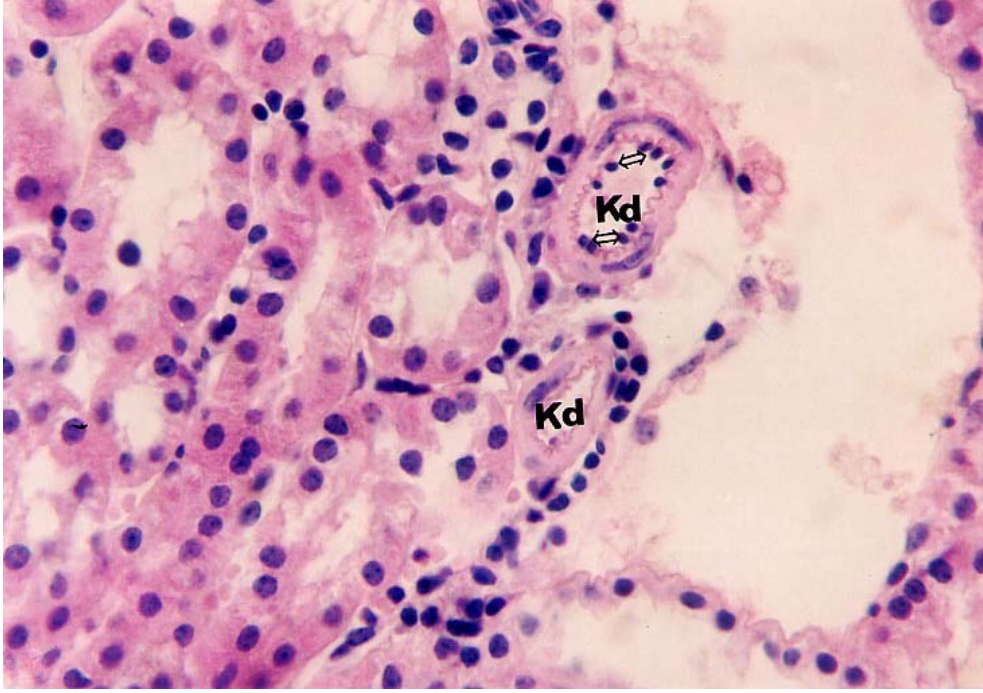
Şekil 4. 1. 17 a-b: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, peritübular alanda (Pa) eritrositler (e) ve lökosit (\Leftrightarrow) ile yer yer devamlılığı kaybolmuş (\uparrow) kan damarı (Kd). H+E, a-b) X600.



Şekil 4. 1. 18 a-c: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrole göre belirgin olan, düzenli fırça kenara sahip (↑) proksimal tübüller (PT) ve tübüllerin lümenleri (L). H+E, a-b) X600, c) X1500.



Şekil 4. 1. 19: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrol grubuna benzer glomerular yumak (GL). H+E, X1500.



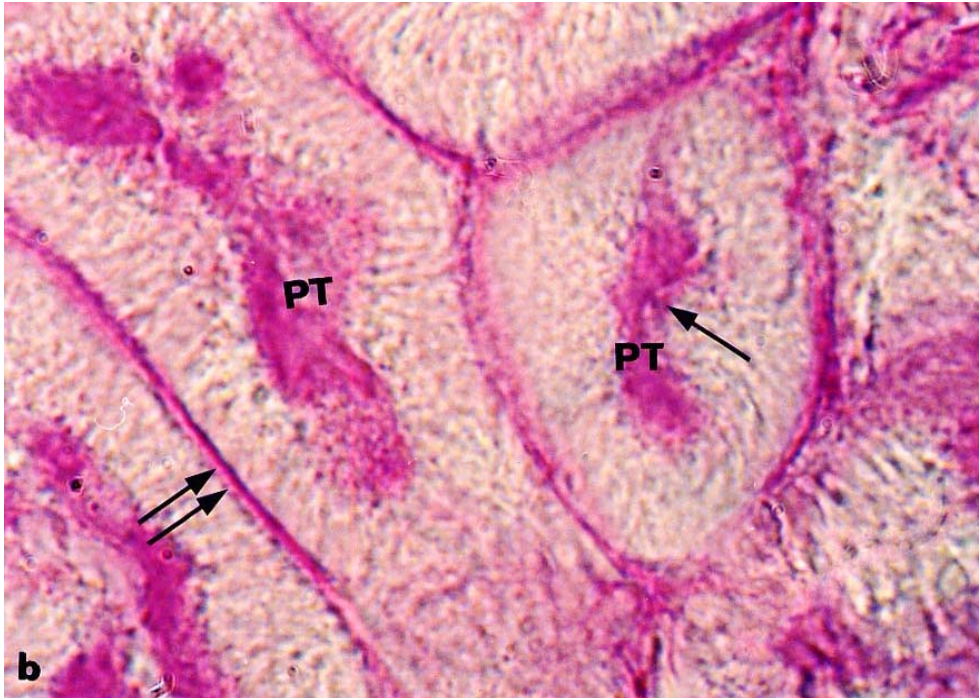
Şekil 4. 1. 20: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrol grubuna benzer, az sayıda lökosit (⇔) içeren kan damarı (Kd). H+E, X600.

STZ uygulanan deney hayvanlarının böbrek dokulardan hazırlanan ışık mikroskobu kesitleri incelendiğinde, korteks bölgesinde, proksimal tübüllerin apikal yüzeylerindeki fırça kenarlarda kontrollere göre (Şekil 4. 1. 21 a-b) belirgin değişikliklerin olduğu görüldü (Tablo 4. 1. 1). STZ uygulanan grupta fırça kenarın ve bazal membranın devamlılığının bozulduğu, PAS reaksiyonunun bu bölgelerde, kontrole göre azalmış olduğu saptandı (Şekil 4. 1. 22 a-b). STZ uygulamasından hemen sonra ve 3 ay süresince her gün AG verilen grubun böbrek korteksinde, proksimal tübüllerin fırça kenarında, STZ uygulaması ile meydana gelen hasarın, sadece STZ uygulanan gruptan daha az olduğu ve proksimal tübül fırça kenarında PAS reaksiyonunun STZ' li gruptaki gibi zayıf olmadığı, kontrol grubuna yakın olduğu tespit edildi (Şekil 4. 1. 23 a-b). Sadece AG uygulanan deney grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde PAS reaksiyonunun, diğer 3 gruptan farklı olarak daha şiddetli olduğu gözlemlendi (Şekil 4. 1. 24 a-b).

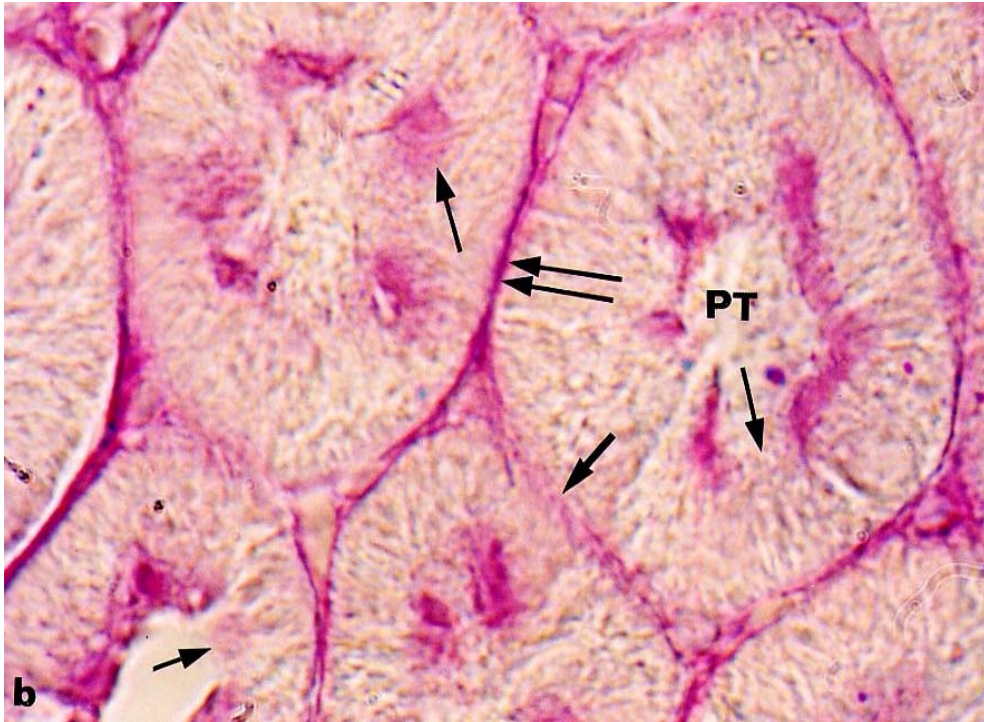
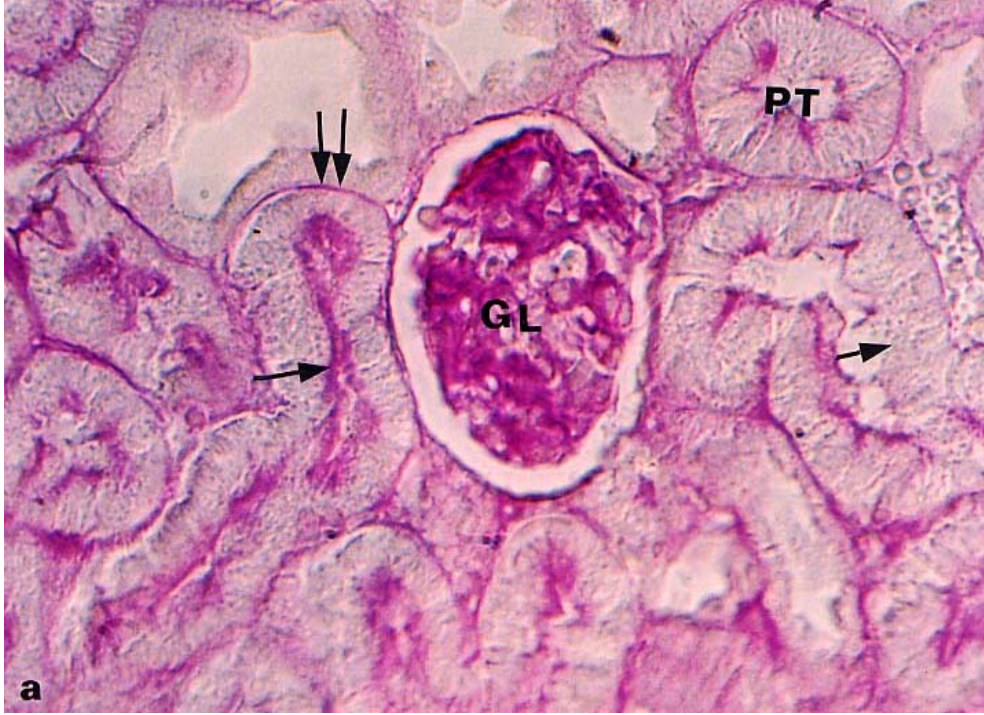
Kontrol grubuna ait hayvanların renal korpüsküllerinde, bazal membranlardaki PAS reaksiyonunun, proksimal tübüllerdekine benzer olduğu görüldü (Şekil 4. 1. 25). Ancak, STZ uygulanan hayvanların böbrek korteksindeki renal korpüskülde, glomerular kapillerlerin ve parietal yaprak bazal membranlarının bozulması ile birlikte, PAS reaksiyonunun da azalmış olduğu tespit edildi. Bu grupta, genel olarak glomerular yumaklarda bazal membran kalınlaşmasının olduğu ve glomerular yumağın bazı bölgelerinde mesangiyal matriks artışının da olduğu gözlemlendi (Şekil 4. 1. 26). STZ+AG uygulanan gruplara ait hayvanların böbrek korteksindeki renal korpüskülde, Bowman kapsülü bazal membranında yer yer bozukluklar olmakla birlikte, glomerular yumakta PAS reaksiyonunun kontrole yakın olduğu belirlendi (Şekil 4. 1. 27). Sadece AG uygulanan gruba ait glomerular yumak kapillerlerinin ve parietal yaprak epitelinin, bazal membranlarının kontrolden daha belirgin olduğu ayrıca, PAS reaksiyonunun arttığı görüldü (Şekil 4. 1. 28).

Tablo 4. 1. 1: PAS reaksiyonu şiddetinin gruplara göre değerlendirilmesi

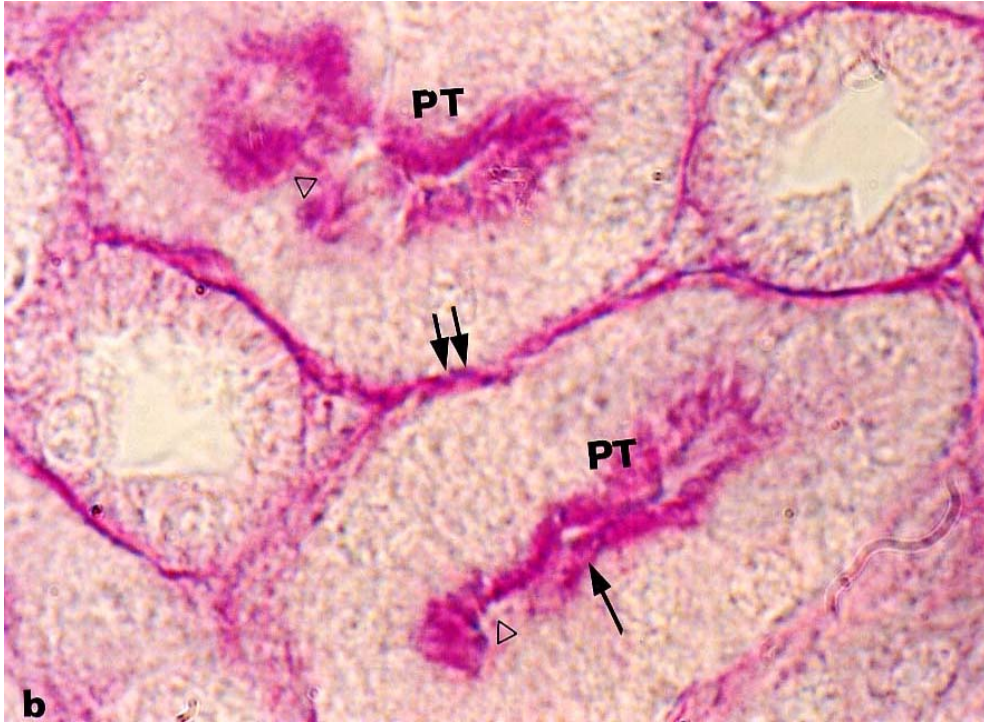
	Kontrol Grubu	STZ Grubu	STZ+AG Grubu	AG Grubu
PAS reaksiyonu şiddeti	++	+	++	+++



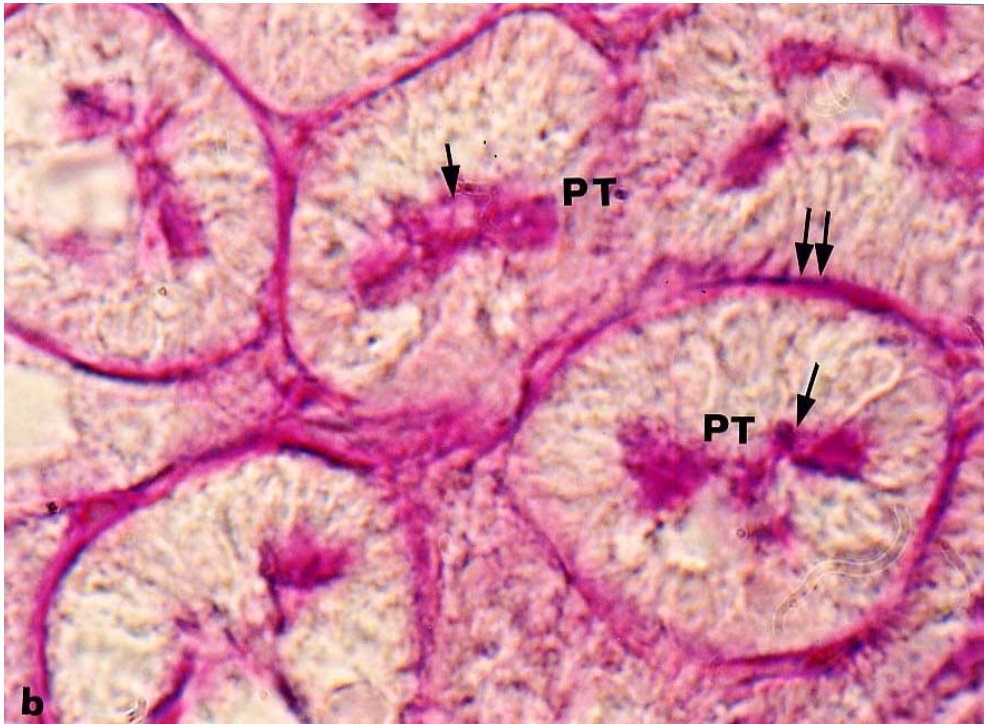
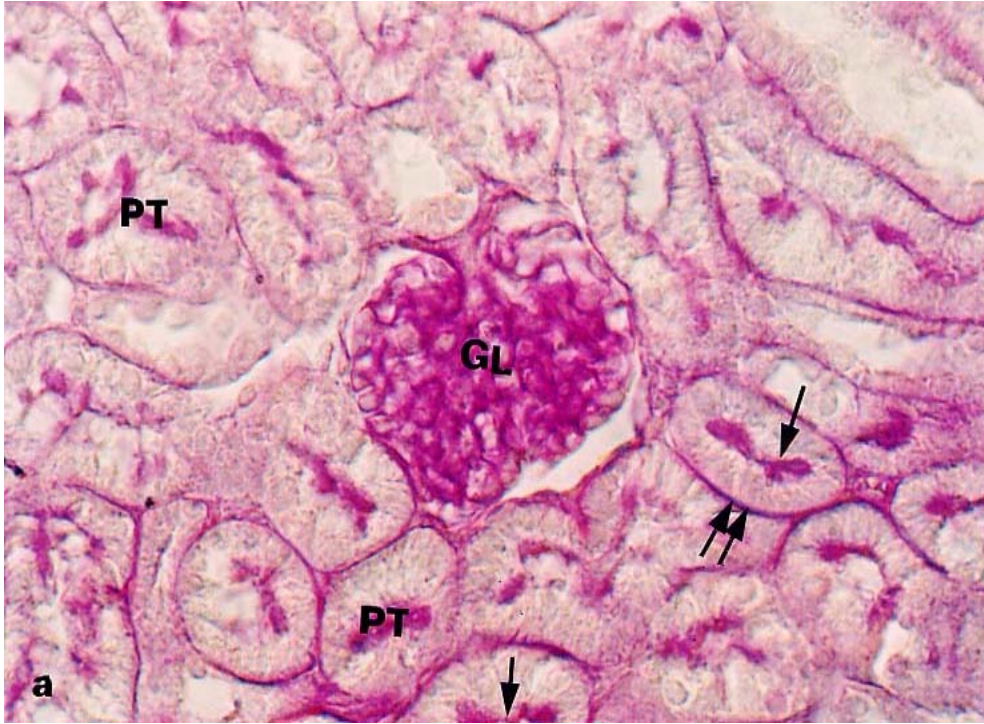
Şekil 4. 1. 21 a-b: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde proksimal tübüllerin (PT) fırça kenarında (↑) PAS reaksiyonu ve bazal membranlar (↑↑). a) X600, b) X1500.



Şekil 4. 1. 22 a-b: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, hasara uğramış, devamlılığı kaybolmuş ve kontrole göre PAS reaksiyonu azalmış fırça kenara (↑) sahip proksimal tübüller (PT), glomerular yumak (GL) ve bazal membranlar (↑↑). a) X600, b) X1500.



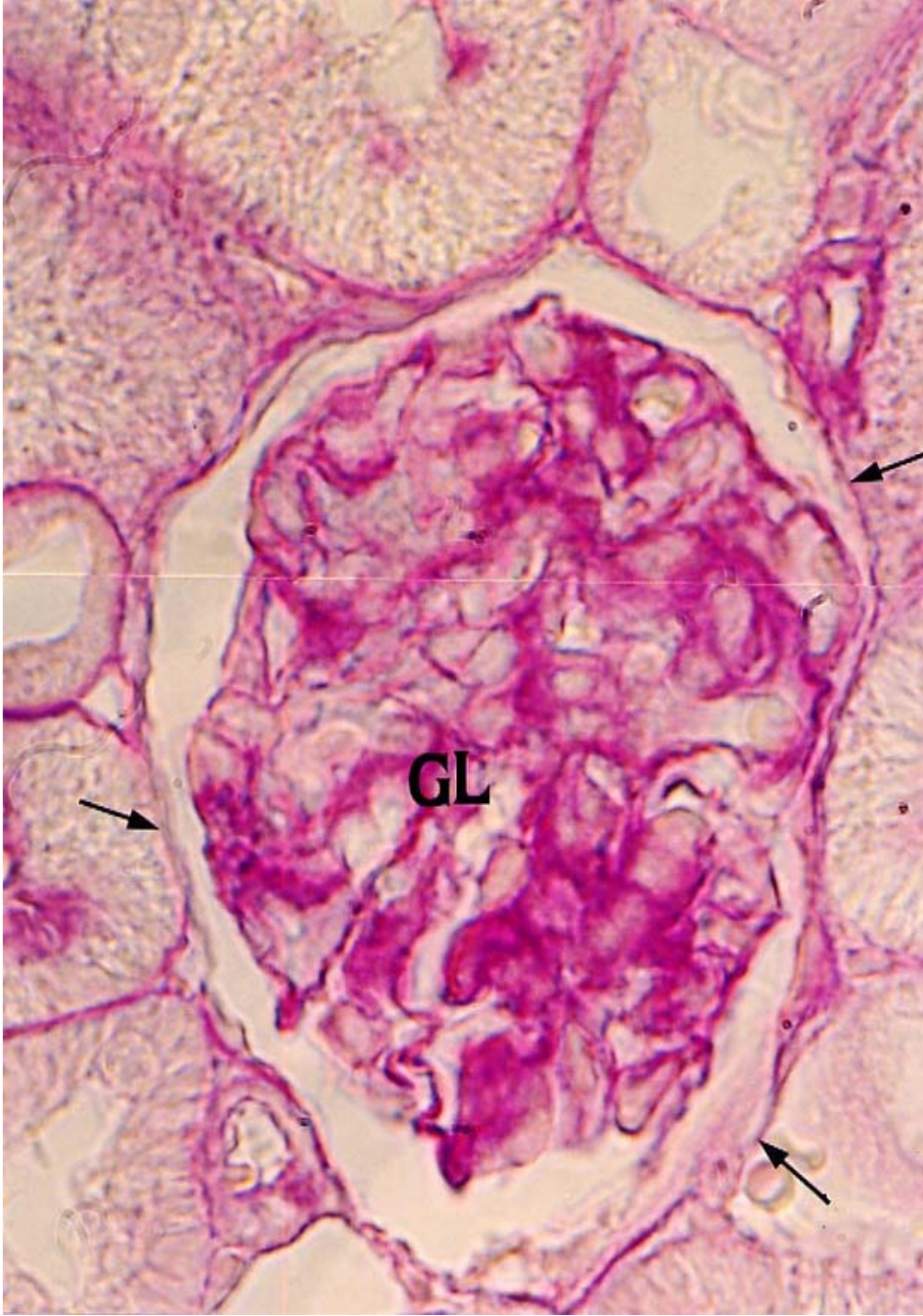
Şekil 4. 1. 23 a-b: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrol grubuna yakın PAS reaksiyonu veren proksimal tübül (PT) fırça kenarları (\uparrow) ile STZ uygulanan gruba benzer düzensiz fırça kenarlar (Δ) ve bazal membranlar ($\uparrow\uparrow$). a) X600, b) X1500.



Şekil 4. 1. 24 a-b: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrole göre yoğun PAS reaksiyonu veren proksimal tübüllerin (PT) fırça kenarları (↑) ve bazal membranlar (↑↑). a) X600, b) X1500.



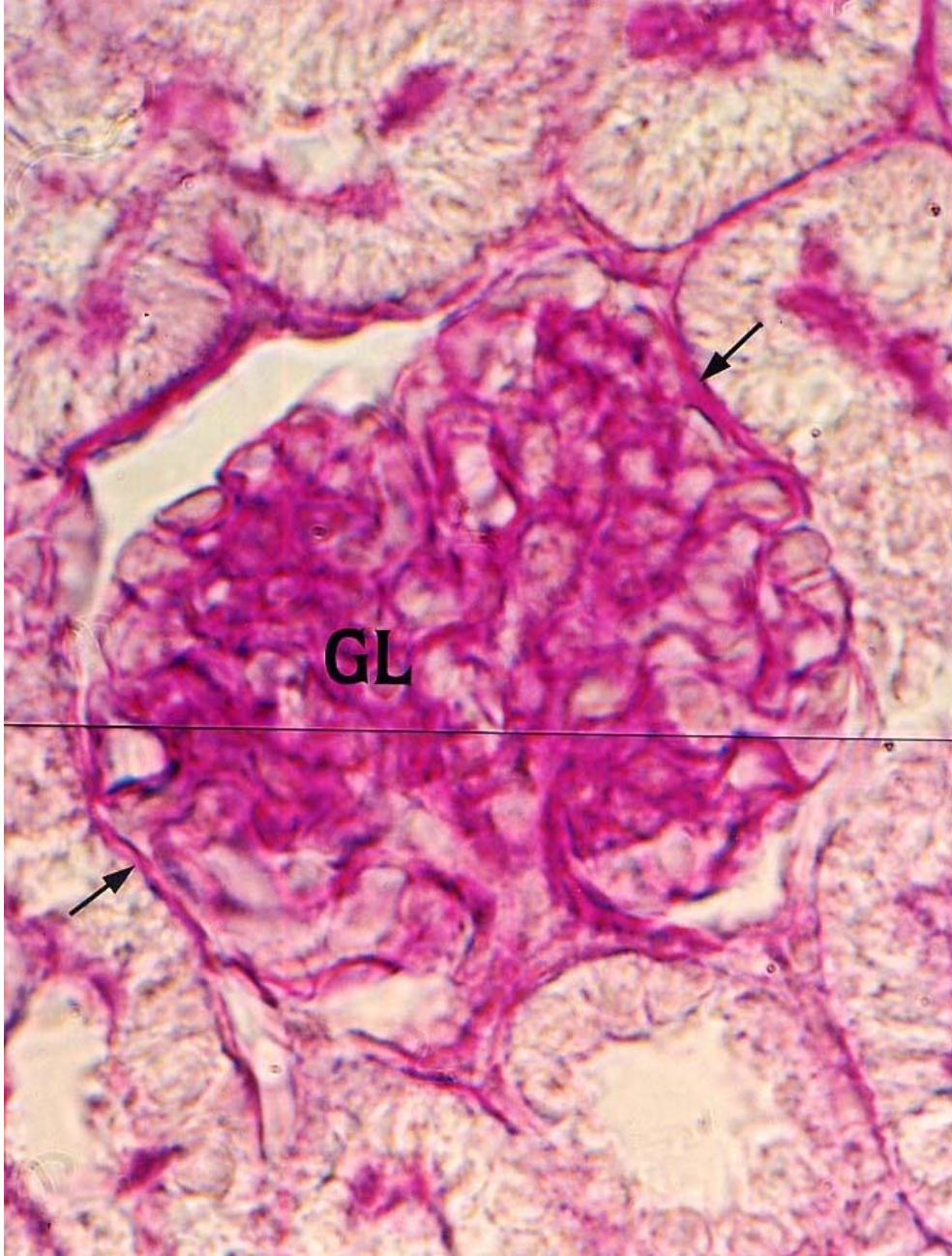
Şekil 4. 1. 25: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumakta (GL) kapillerlerin ve parietal yaprak epitelinin bazal membranında (↑) PAS reaksiyonu. X1500.



Şekil 4. 1. 26: STZ uygulanan deney grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumakta (GL) kapillerlerin ve parietal yaprak epitelinin bazal membranında (↑) kontrole göre azalmış PAS reaksiyonu (↑↑). X1500.



Şekil 4. 1. 27: STZ+AG uygulanan deney grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumakta (GL) kapillerlerin ve parietal yaprak epitelinin bazal membranında (↑) yer yer bozukluklar olmasına rağmen, kontrole benzer PAS reaksiyonu. X1500.

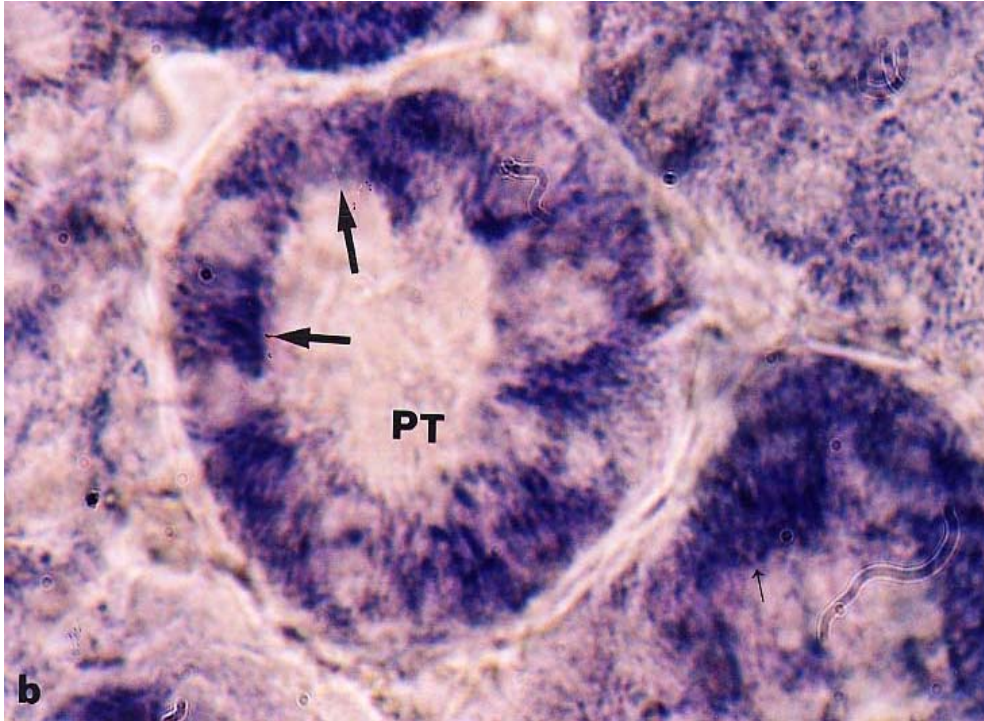
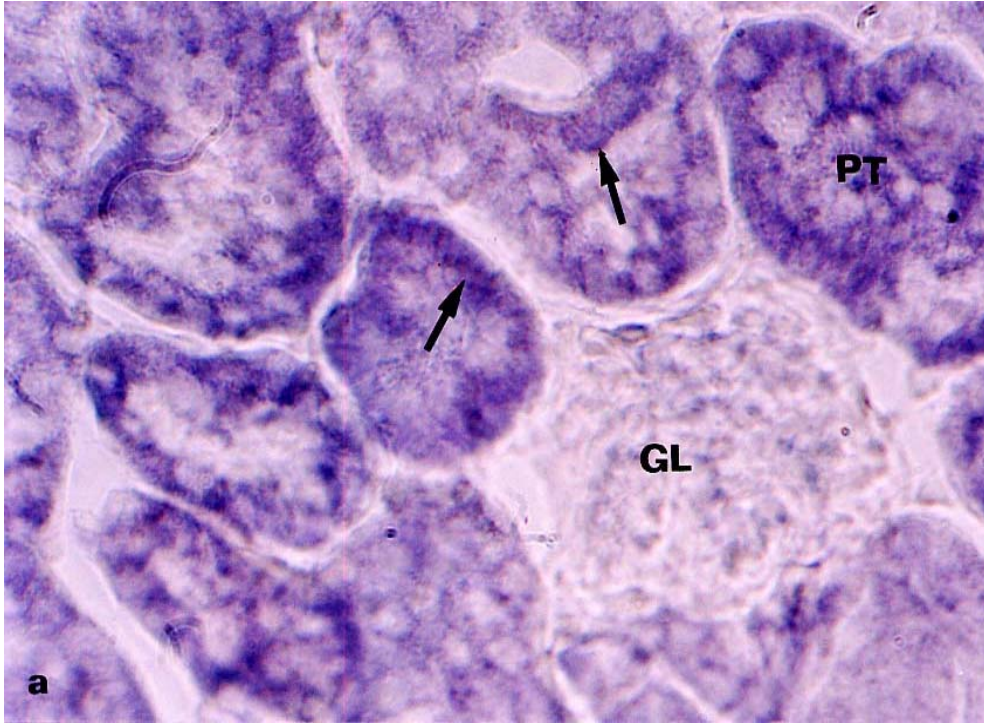


Şekil 4. 1. 28: AG uygulanan deney grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrole göre PAS reaksiyonunun fazla olduğu, glomerular yumak (GL) kapillerlerinin ve parietal yaprak epitelinin bazal membranında (↑) PAS reaksiyonu. X1500.

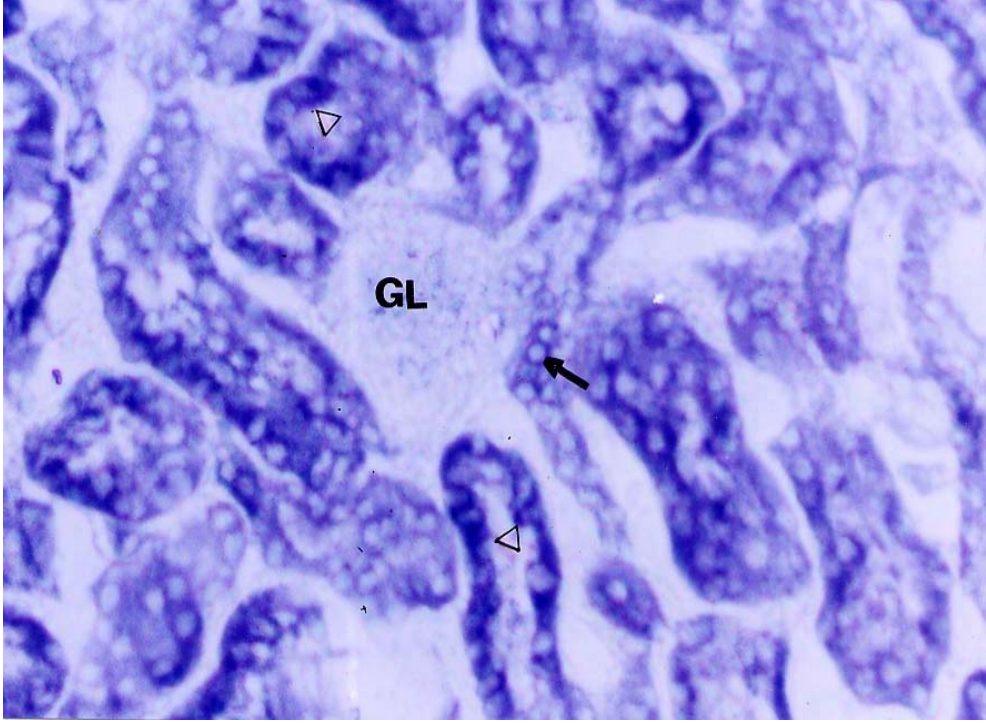
Deney hayvanlarının böbrek dokularından alınıp, dondurma mikrotomu aracılığı ile kesilip hazırlanan kesitlere, NADPH-d tekniği uygulanarak, korteks bölgesindeki NOS enziminin dağılımı histokimyasal olarak gösterildi. Bu kesitler incelendiğinde, kontrol ve deney grupları arasında belirgin farklılıkların olduğu görüldü (Tablo 4. 1. 2). STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül hücrelerinde NADPH-d reaksiyonunun kontrole göre (Şekil 4. 1. 29 a-b, 30) yoğun olduğu tespit edildi (Şekil 4. 1. 31 a-b). Makula densada NADPH-d reaksiyonunun kontrole göre (Şekil 4. 1. 30) yoğun olması da, bu gruba ait önemli bir bulgu olarak görüldü (Şekil 4. 1. 32). STZ enjeksiyonundan hemen sonra AG uygulanan grupta ise, sadece STZ uygulanan gruptaki gibi, NADPH-d reaksiyonunun yoğun olmadığı ve kontrole yakın olduğu belirlendi (Şekil 4. 1. 33 a-b). Ayrıca makula densada, NADPH-d reaksiyonunda kontrole göre belirgin bir farklılık görülmemekteydi (Şekil 4. 1. 34). Sadece AG uygulanan deney grubunda, NADPH-d reaksiyonunun, kontrole ve diğer gruplara göre daha az yoğun olduğu belirlendi (Şekil 4. 1. 35 a-b). Bu grupta makula densadaki NADPH-d reaksiyonunun ise, kontrolden daha az yoğun olduğu görüldü (Şekil 4. 1. 36).

Tablo 4. 1. 2: NADPH-d reaksiyonunun gruplara göre değerlendirilmesi

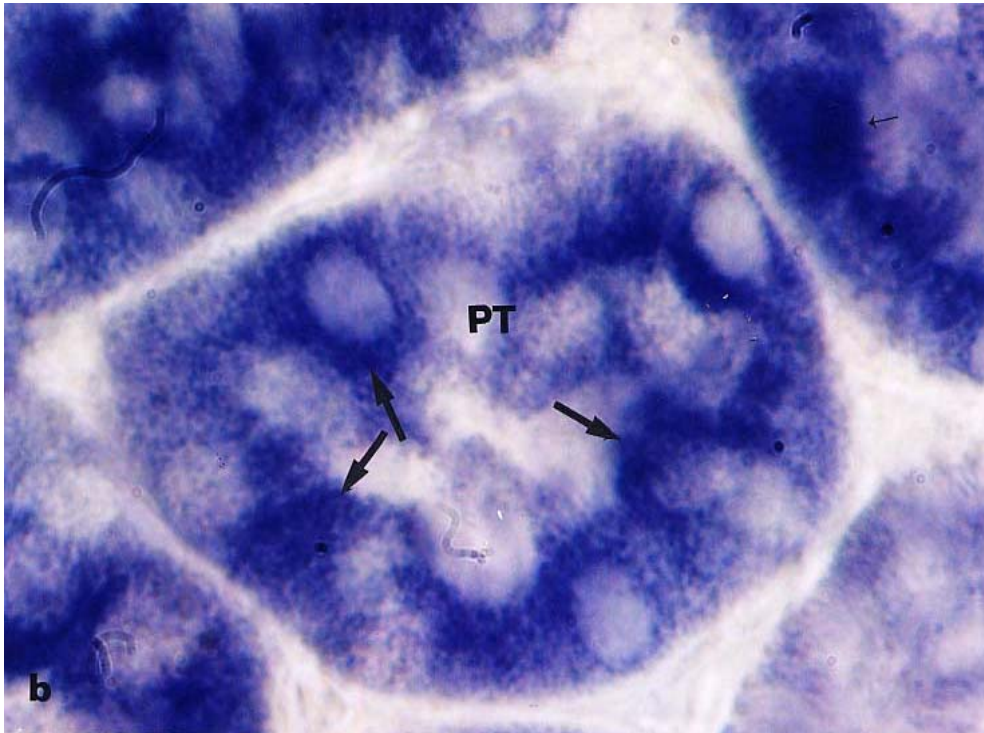
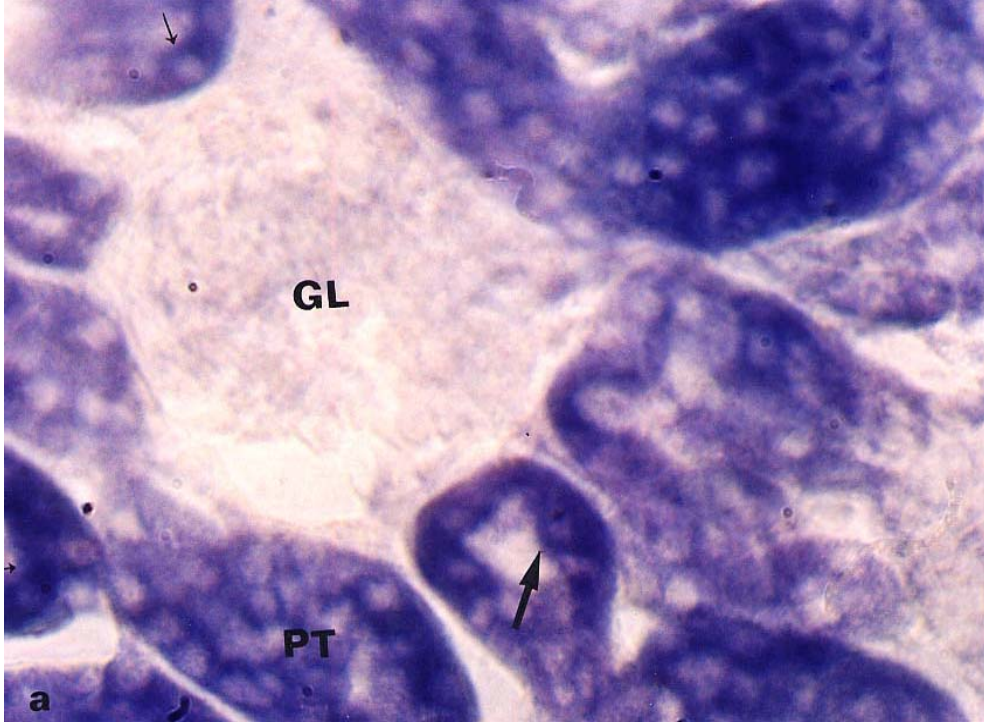
	Kontrol Grubu	STZ Grubu	STZ+AG Grubu	AG Grubu
NADPH-d reaksiyonu	++	+++	++	+



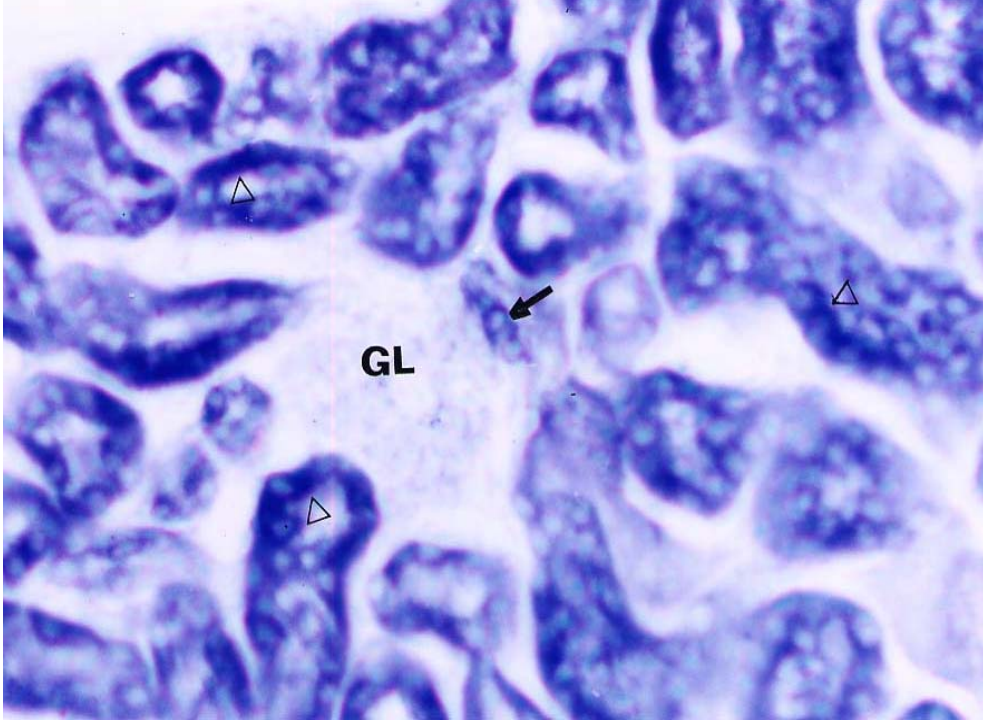
Şekil 4. 1. 29 a-b: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübüllerde (PT) NADPH-d reaksiyonu (↑) ve glomerular yumak (GL). a) X600, b) X1500.



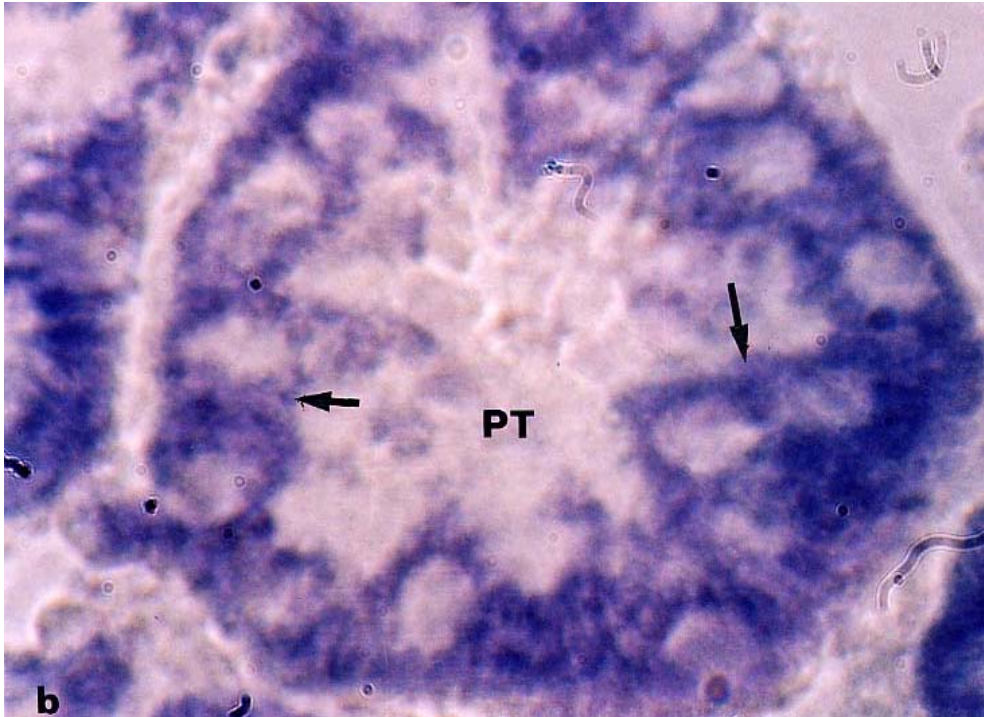
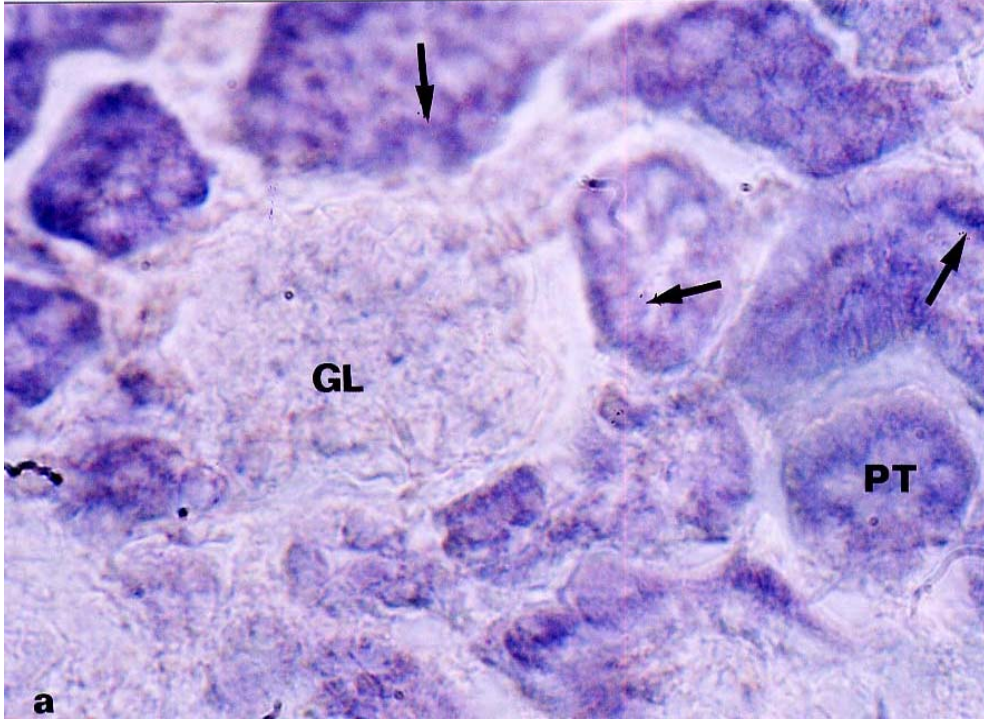
Şekil 4. 1. 30: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, böbrek tübüleri (Δ), makula densada (↑) NADPH-d reaksiyonu ve glomerular yumak (GL). X375.



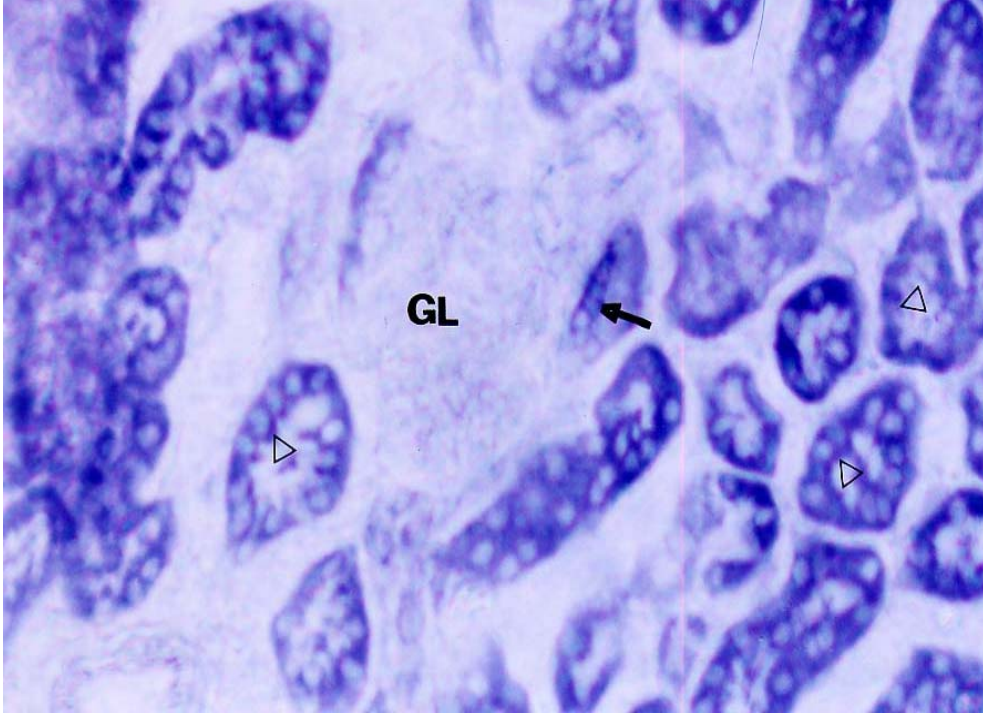
Şekil 4. 1. 31 a-b: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübüllerde (PT) kontrol grubuna göre yoğun olan NADPH-d reaksiyonu (↑) ve glomerular yumak (GL). a) X600, b) X1500.



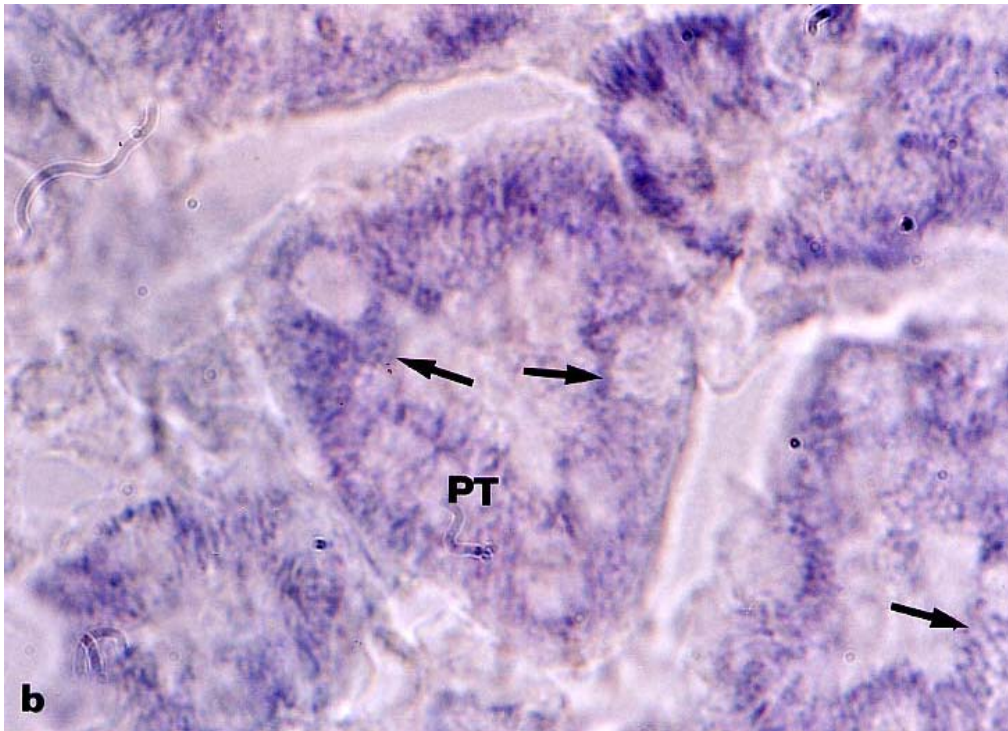
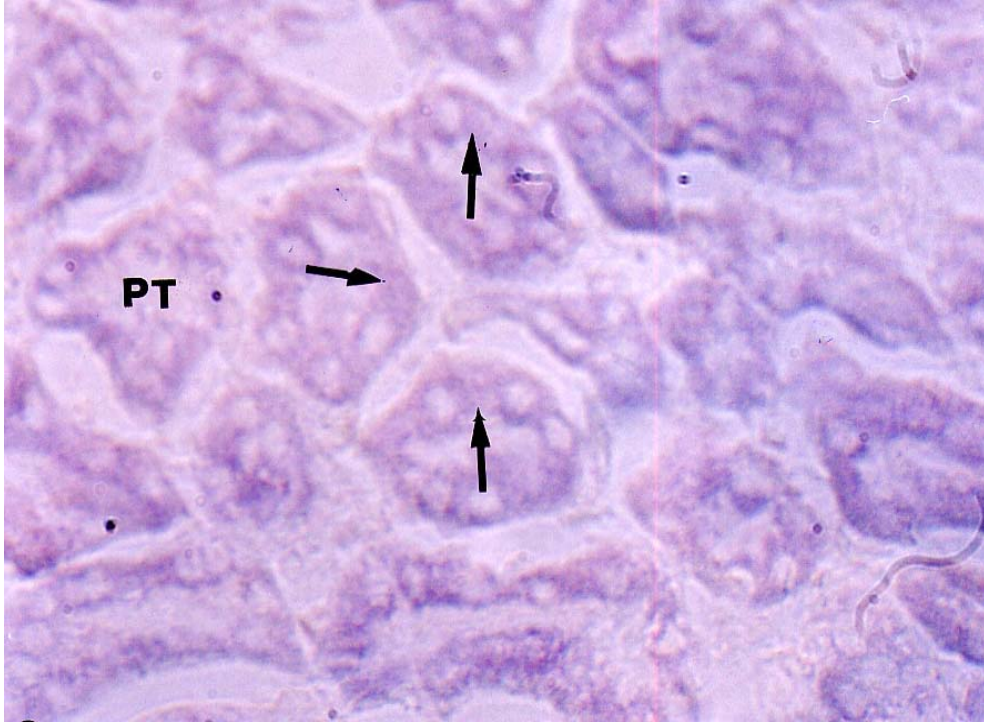
Şekil 4. 1. 32: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, böbrek tübüleri (Δ), makula densada (↑) kontrole göre yoğun NADPH-d reaksiyonu ve glomerular yumak (GL). X375.



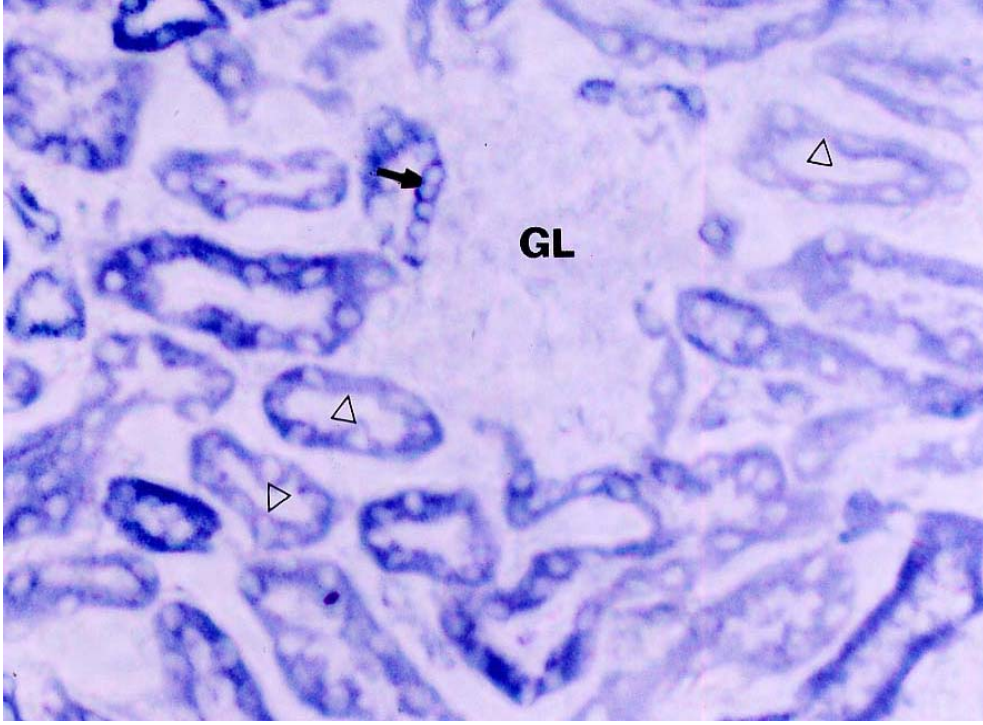
Şekil 4. 1. 33 a-b: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübüllerin (PT) büyük bir kısmında kontrole benzer NADPH-d reaksiyonu (↑) ve glomerular yumak (GL). a) X600, b) X1500.



Şekil 4. 1. 34: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, böbrek tübüllerinde (Δ), makula densada (↑) kontrol grubuna benzer olan NADPH-d reaksiyonu ve glomerular yumak (GL). X375.



Şekil 4. 1. 35 a-b: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübüllerde (PT) kontrol grubuna ve STZ uygulanan gruba göre daha az yoğun olan NADPH-d reaksiyonu (↑). a) X600, b) X1500.

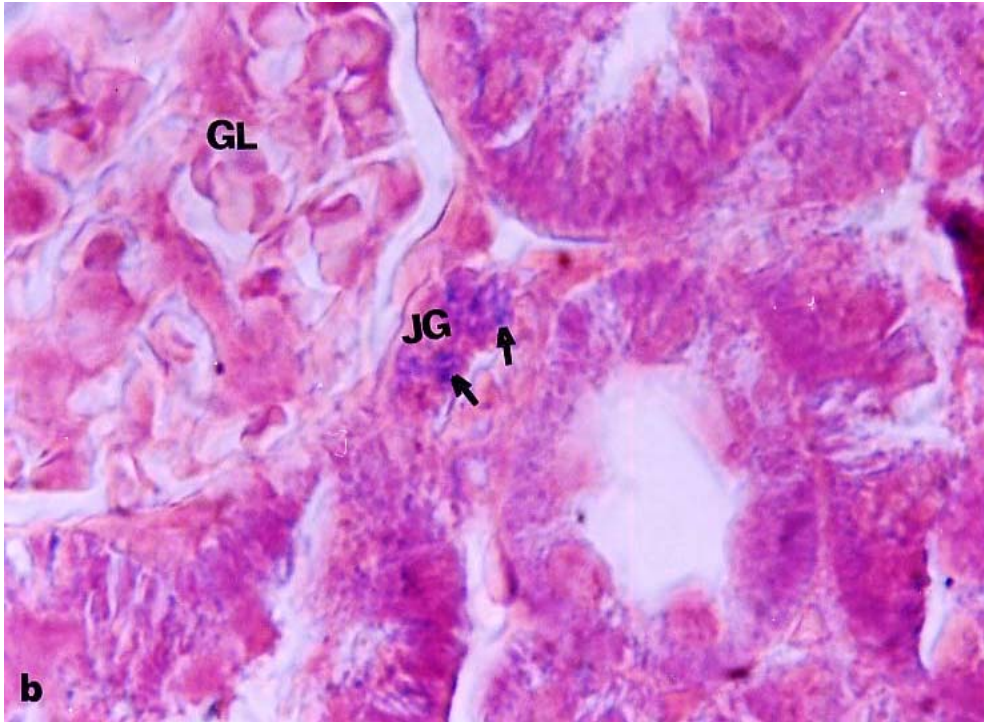
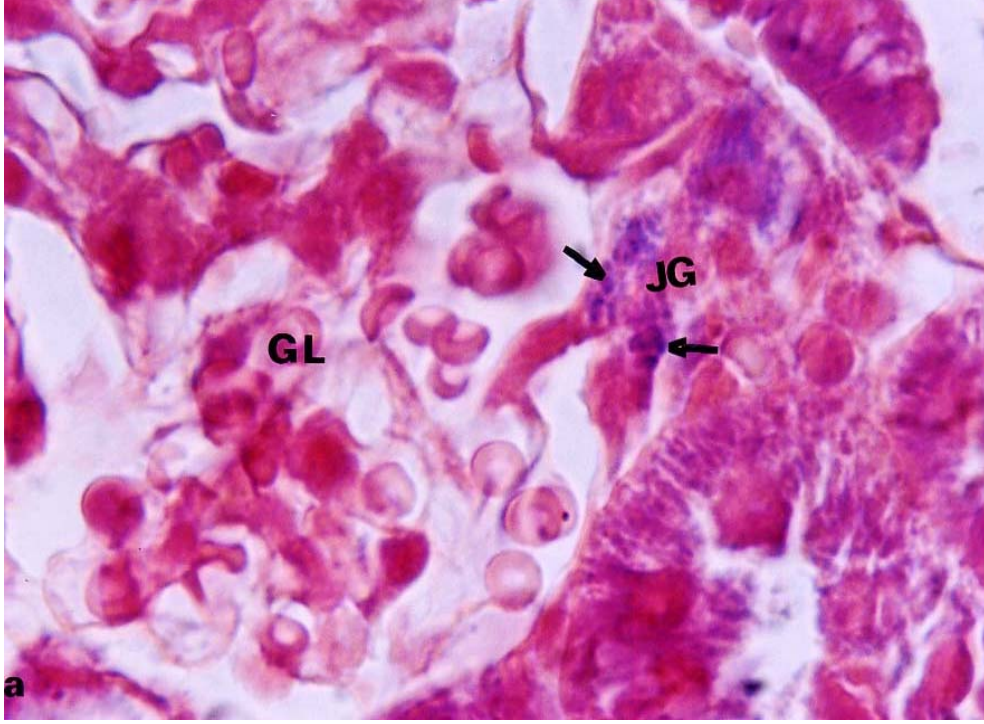


Şekil 4. 1. 36: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, böbrek tübüllerinde (Δ), makula densada (↑) kontrole göre daha az yoğun olan NADPH-d reaksiyonu ve glomerular yumak (GL). X375.

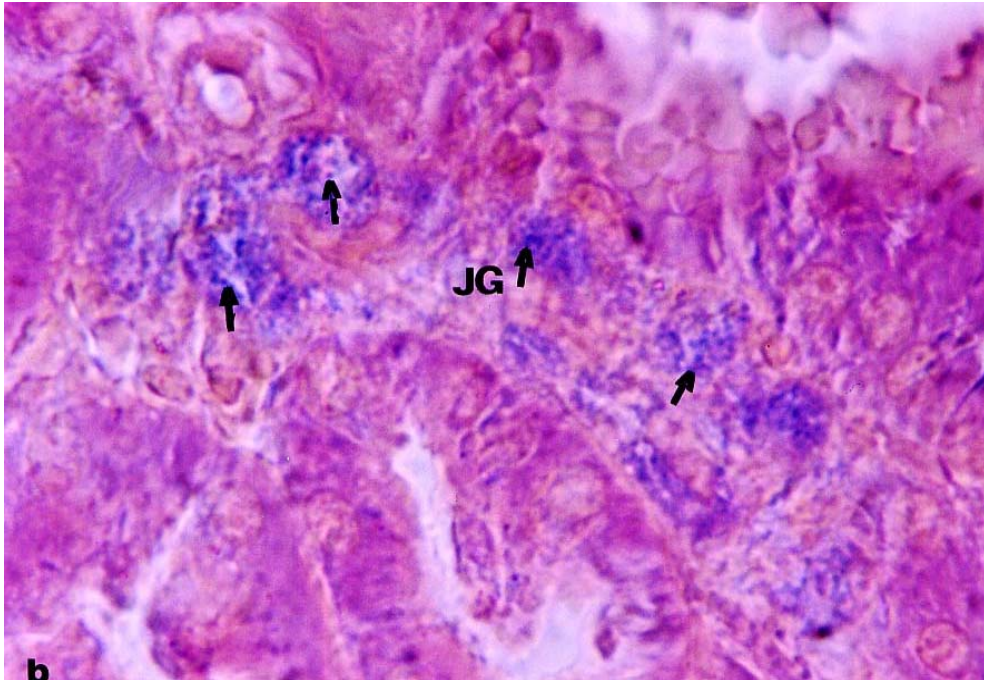
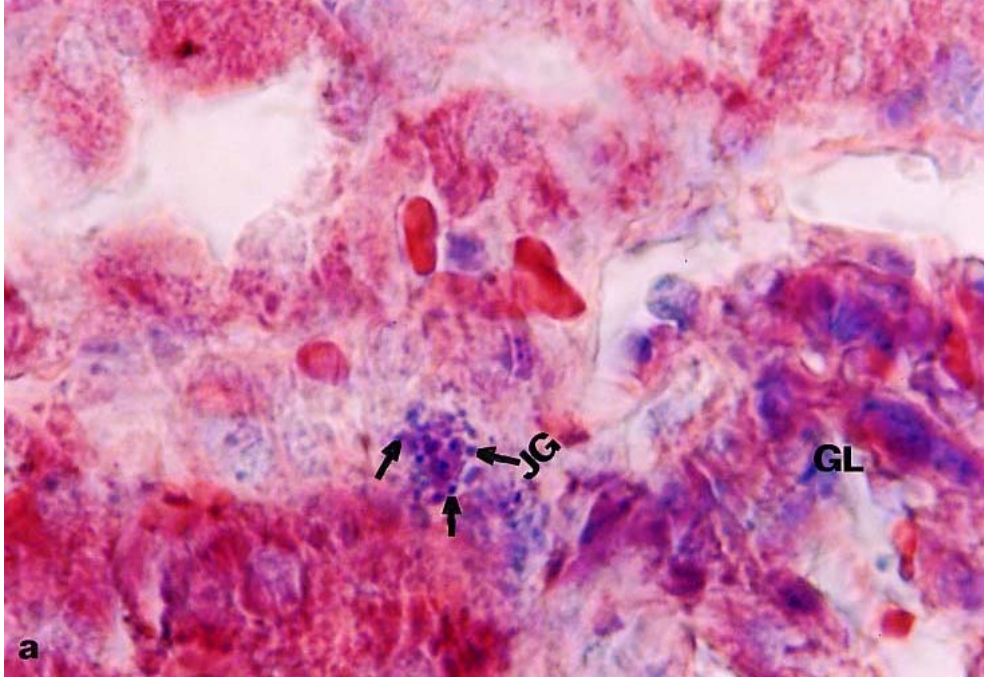
Kontrol, STZ, STZ+AG ve AG gruplarına ait hayvanların böbreklerinden hazırlanan ışık mikroskobu kesitlerine Bowie yöntemi uygulanarak, jukstaglomerular (JG) hücreler incelendi. JG hücrelerdeki renin içeren granüllerin dağılımı, her 4 grupta karşılaştırılarak aralarındaki farklılıklar belirlendi (Tablo 4. 1. 3). STZ uygulanan gruba ait JG hücrelerindeki renin içeren granül dağılımı ve boyanma yoğunluğu kontrol grubundakilere (Şekil 4. 1. 37 a-b) göre daha belirgindi (Şekil 4. 1. 38 a-b). STZ uygulanmasından hemen sonra, üç ay süresince her gün AG verilen grupta, jukstaglomerular granüllerin dağılımının ve boyanma yoğunluğunun kontrol grubuna yakın olduğu tespit edildi (Şekil 4. 1. 39 a-b). Sadece AG uygulanan deney grubunda ise, bu granüllerin dağılımının ve boyanma yoğunluğunun kontrol grubundakilere göre oldukça belirgin olduğu görülmekteydi (Şekil 4. 1. 40 a-b).

Tablo 4. 1. 3: PAS reaksiyonu şiddetinin gruplara göre değerlendirilmesi

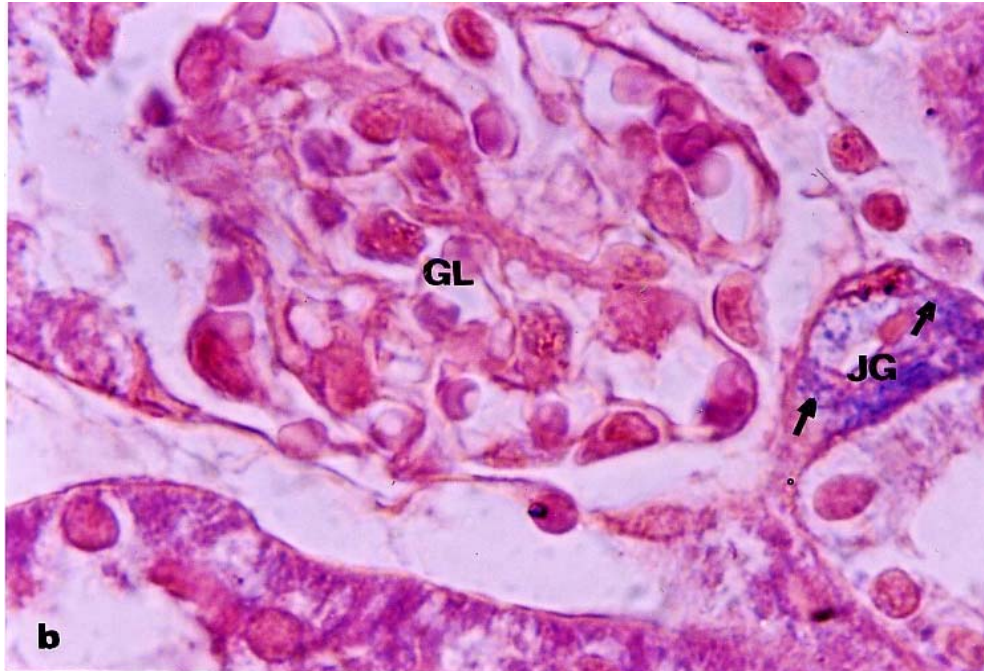
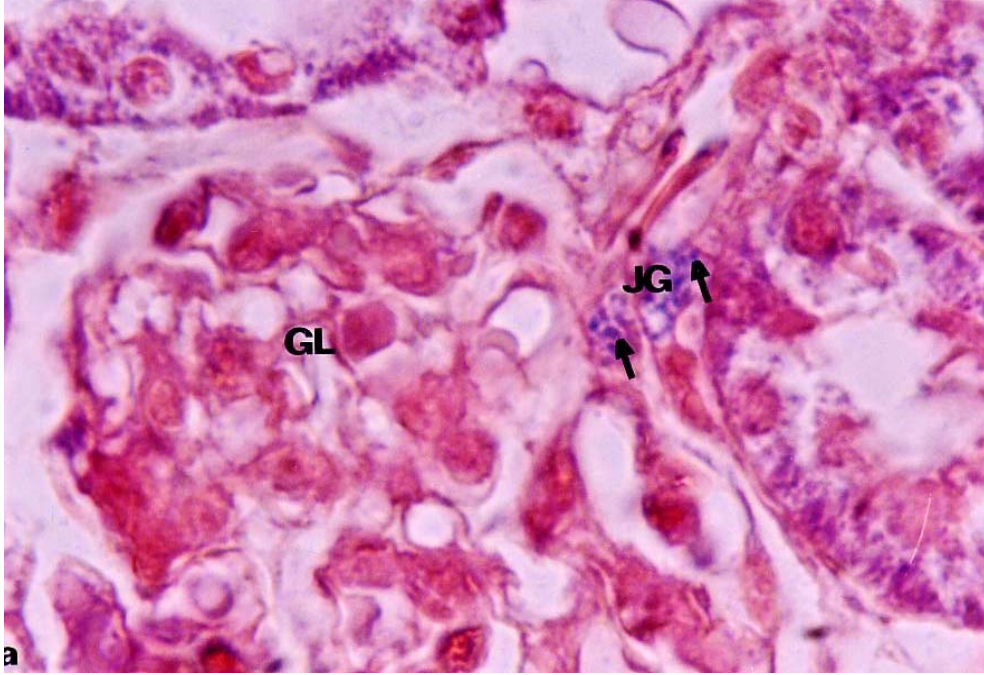
	Kontrol Grubu	STZ Grubu	STZ+AG Grubu	AG Grubu
Renin granüllerinin dağılımı	+	++	+	++



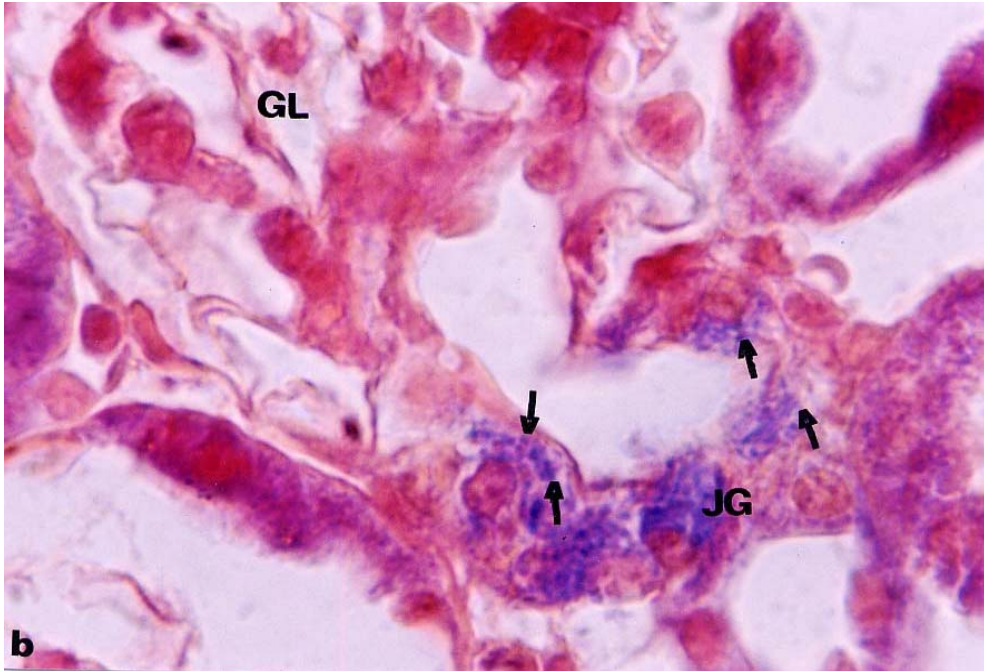
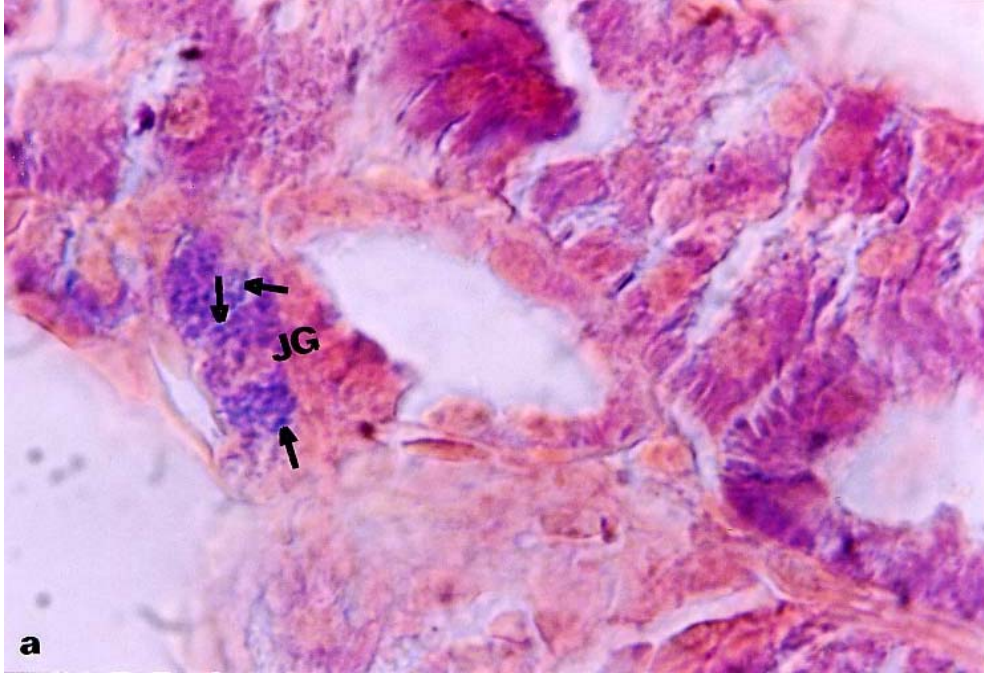
Şekil 4. 1. 37 a-b: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, jukstaglomerular hücrelerde (JG) belirgin bir şekilde görülen jukstaglomerular granüller (↑) ve glomerular yumak (GL). Bowie yöntemi; X1500.



Şekil 4. 1. 38 a-b: STZ uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde, jukstaglomerular hücrelerde (JG), kontrollere göre yoğun olan jukstaglomerular granüller (↑) ve glomerular yumak (GL). Bowie yöntemi; X1500.



Şekil 4. 1. 39 a-b: STZ+AG uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde, jukstaglomerular hücrelerde (JG), STZ uygulanan gruba göre yoğunluğu azalmış, kontrol grubuna benzer jukstaglomerular granüller (↑) ve glomerular yumak (GL). Bowie yöntemi; X1500.



Şekil 4. 1. 40 a-b: AG uygulanan hayvanlara ait böbrek korteksinde, jukstaglomerular hücrelerde (JG) kontrol grubuna göre yoğun jukstaglomerular granüller (↑) ve glomerular yumak (GL). Bowie yöntemi; X1500.

4. 2. ELEKTRON MİKROSKOBU BULGULARI

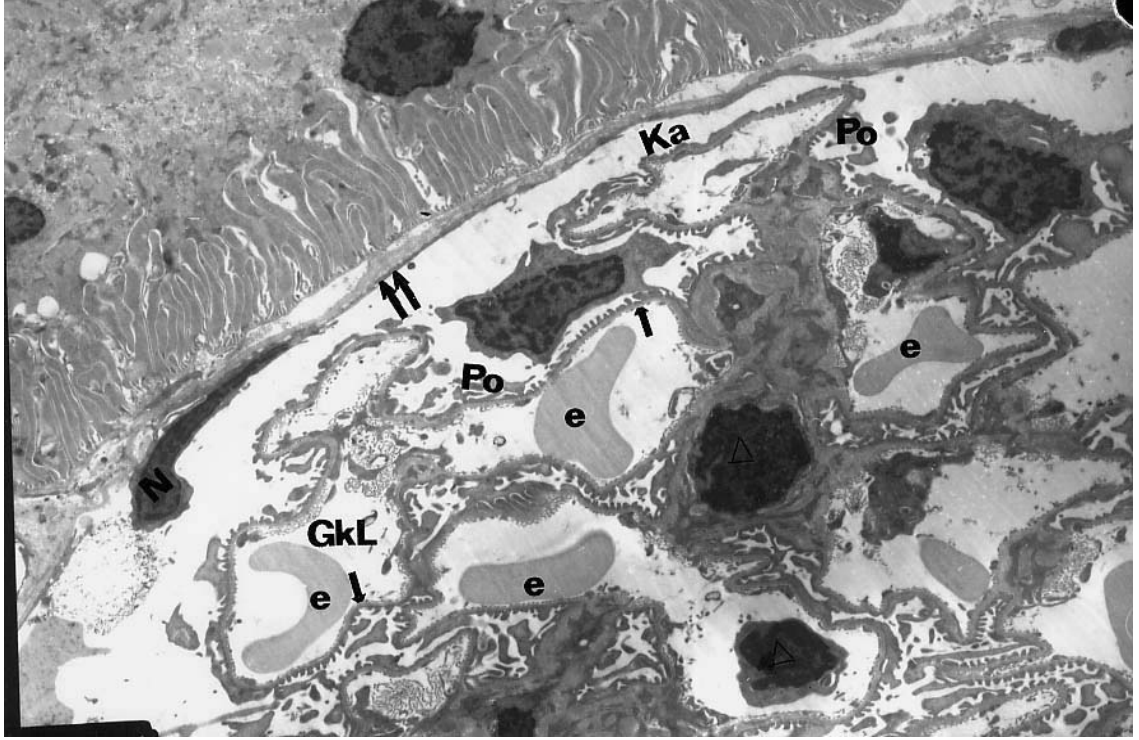
Çalışmada kullanılan hayvanların böbreklerinin korteks bölgelerinden hazırlanan ince kesitler elektron mikroskopunda incelendiğinde, kontrol grubuna ait hayvanların glomerular yumaklarında, kapiller endoteli ile parietal yaprak epitelinin ve podositlerin normal yapıları gözlemlendi (Şekil 4. 2. 1, 2). Ayrıca, proksimal ve distal tübül hücrelerinin apikal kısımları ve bazal laminaları ile hücre organellerinin düzenli bir yapıya sahip olduğu görüldü (Şekil 4. 2. 3-7).

STZ uygulanan hayvanların böbrek kesitlerinde, glomerular kapillerlerin endotel tabakasının hasara uğradığı, devamlılığını kaybettiği, ayrıca glomerular kapillerlerin lümeninin genişlediği ve parietal yaprak epitel hücrelerinin apikal kısımlarında hasarın olduğu görüldü (Şekil 4. 2. 8, 9). Yine bu grupta, podositlerin ve fenestraların düzensiz bir görünüm aldığı da belirlendi (Şekil 4. 2. 8, 9). Benzer şekilde STZ uygulanan grupta, proksimal tübül hücrelerinde mikrovillusların hasara uğrayıp, devamlılıklarını kaybettikleri, proksimal tübüllerin ve distal tübüllerin bazal katlanmalarında da bozulmaların olduğu ve yer yer genişledikleri görüldü (Şekil 4. 2. 12-14). STZ uygulaması sonucu, mitokondrilerin bazal katlanmalar arasındaki düzenli dağılımının bozulduğu (Şekil 4. 2. 11-14), otofajik vakuollerin meydana gelmiş olduğu belirlendi (Şekil 4. 2. 11-14). STZ uygulamasının, peritübular alanlarda genişlemelere neden olduğu (Şekil 4. 2. 10, 11, 13), bu alanlarda, kapillerler dışında kan hücrelerinin bulunduğu ve kapillerlerin endotel hücrelerinde de hasarın meydana geldiği gözlemlendi (Şekil 4. 2. 11).

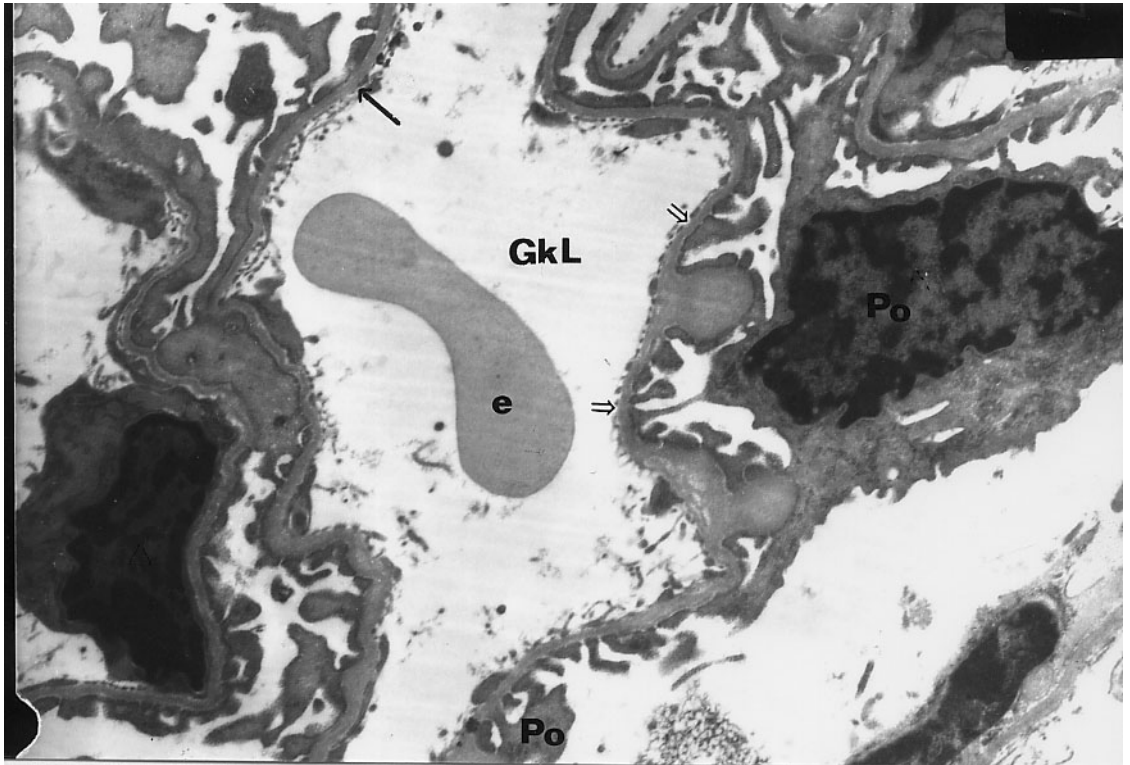
STZ ile birlikte AG uygulanan hayvanlarda, glomerular yumakta, STZ' nin oluşturduğu hasarın birçok bölgede önlemediği, kapiller lümenlerinin daraldığı, podositlerin kontrol grubuna benzer olduğu, endotel tabakasındaki bozuklukların, STZ uygulanan hayvanlardaki kadar fazla olmadığı görüldü (Şekil 4. 2. 15, 16). Yine bu grupta, proksimal tübül hücrelerinin apikal yüzeylerinde yer alan mikrovillusların, birçok bölgede, kontrol grubu hayvanların proksimal tübül hücrelerinin mikrovilluslarına benzediği, genişlemiş GER keselerinin, STZ uygulananlardaki gibi belirgin olduğu görüldü (Şekil 4. 2. 17, 18). Bu hayvanların proksimal tübül hücrelerinde, GER keselerinin, polizomların ve mitokondrilerin diğer gruplardan fazla olması dikkat

çekiciydi. Distal tübül hücreleri ise, kontrol grubuna benzerdi (Şekil 4. 2. 19, 20). STZ uygulamasından sonra 3 ay süresince verilen AG' nin, peritübular alanlarda meydana gelen bozulmaları tam olarak önleyemediği, STZ uygulanan grupta olduğu gibi endotel hücrelerindeki bozuklukların yer yer devam ettiği ve bu alanlarda kan hücrelerinin bulunduğu görüldü (Şekil 4. 2. 17, 18, 20).

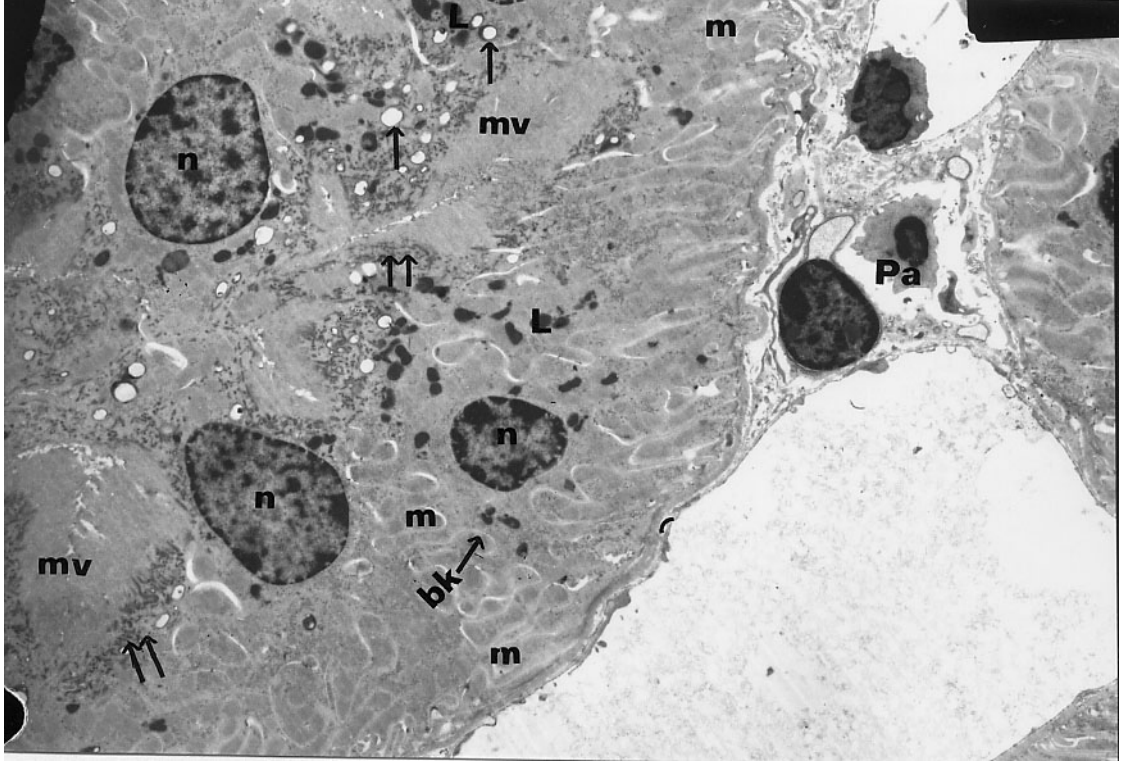
Sadece AG uygulanan grupta, glomerular yumağın bazal laminasında meydana gelen kalınlaşma dışında (Şekil 4. 2. 21, 22), tüm özelliklerin kontrol grubuna benzediği tespit edildi. Proksimal tübül hücrelerinin (Şekil 4. 2. 23), distal tübül hücrelerinin (Şekil 4. 2. 24) ve peritübular alanların (Şekil 4. 2. 24), kontrol grubunun bireyelerine benzer şekilde olduğu gözlemlendi.



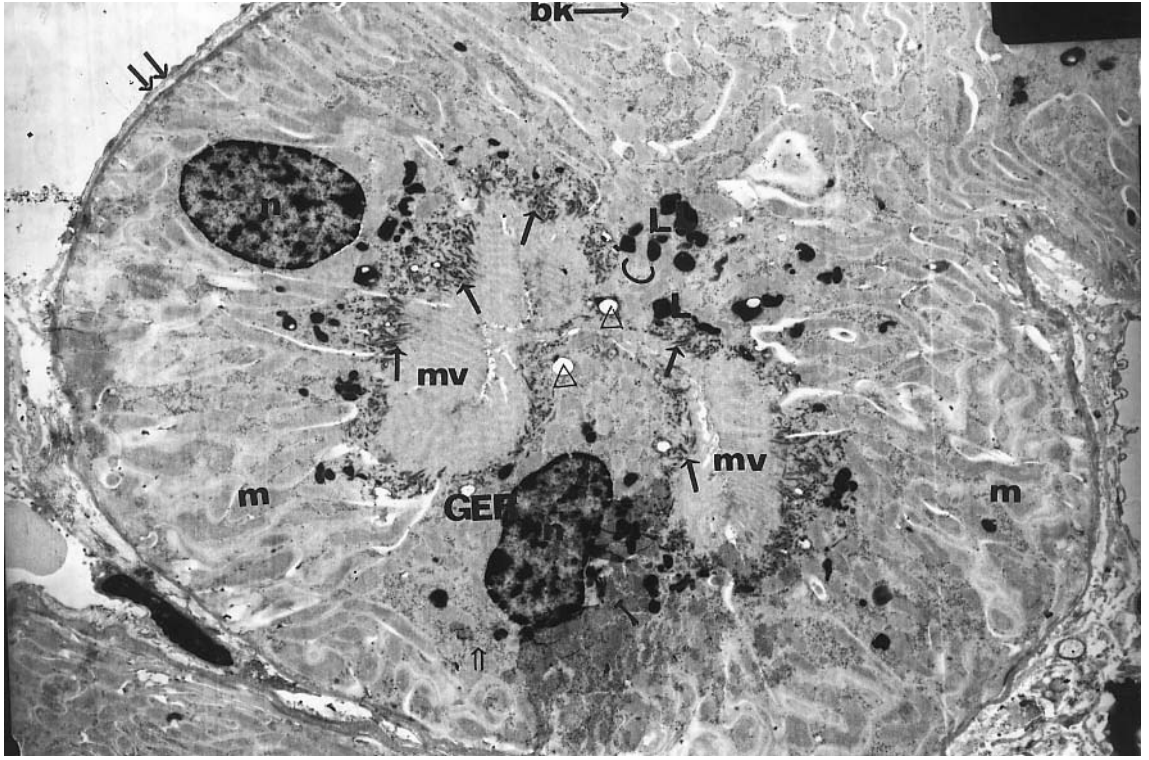
Şekil 4. 2. 1: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrositler (e), podositler (Po), mesangiyal hücre nükleusu (Δ), parietal yaprak epiteli (↑↑), parietal yaprak epitelinin nükleusu (N) ve kapsül alan (Ka). X6 800.



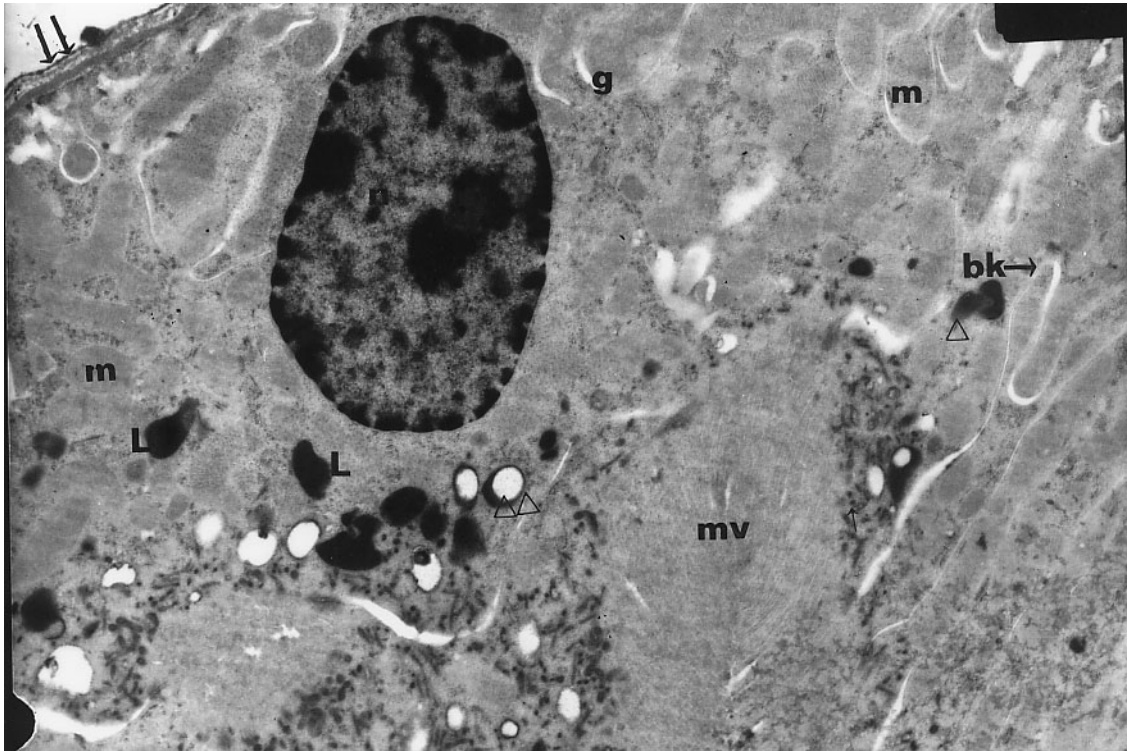
Şekil 4. 2. 2: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrosit (e), podositler (Po) ve düzenli fenestralar (⇓). X17 000.



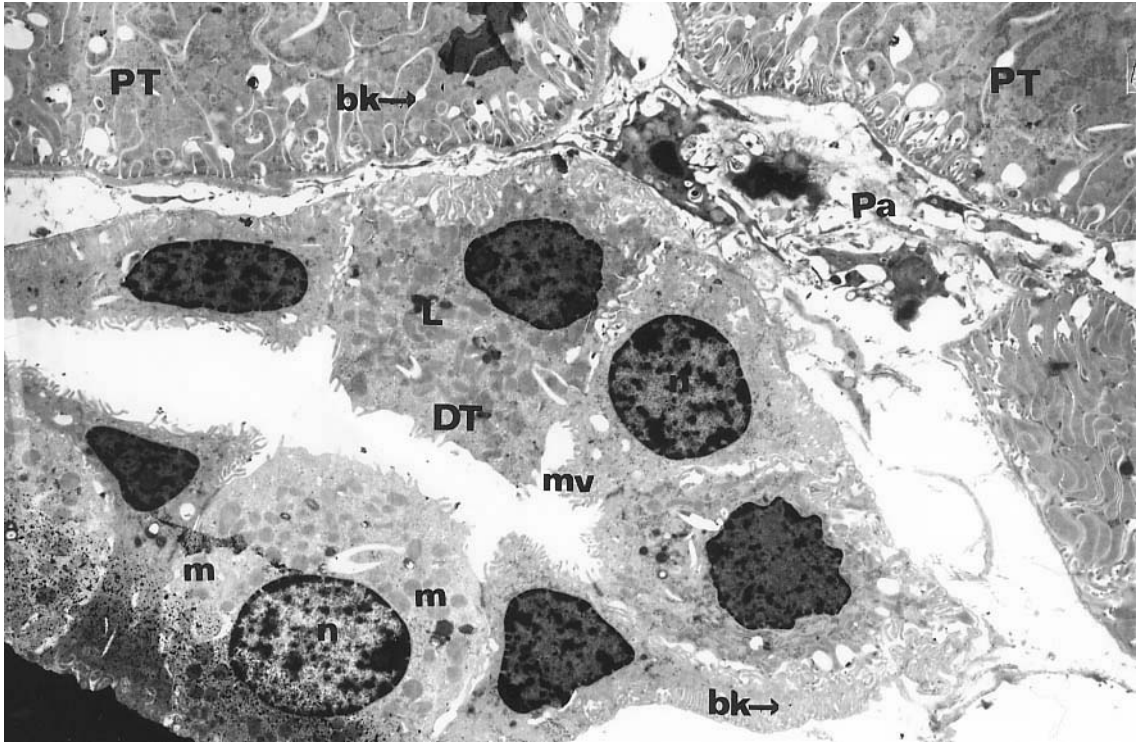
Şekil 4. 2. 3: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül hücrelerinin nukleusları (n), mitokondriler (m), bazal katlanmalar (bk→), mikrovilluslar (mv), otofajik vakuoller (↑), lizozomlar (L) ve peritübüler alan (Pa). X6 800.



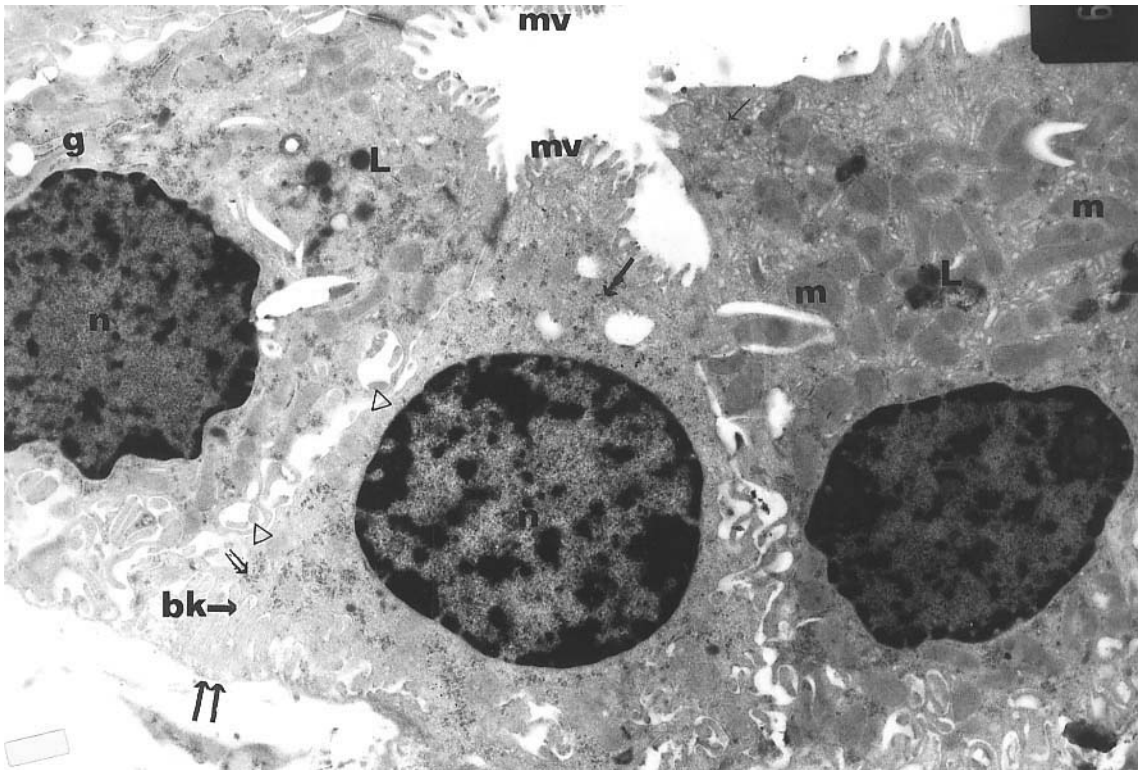
Şekil 4. 2. 4: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül hücresinde nükleuslar (n), mitokondriler (m), lizozomlar (L), mikrovilluslar (mv), otofajik vakuoller (Δ), bazal lamina (↑↑) ve bazal katlanmalar (bk →). X6 800.



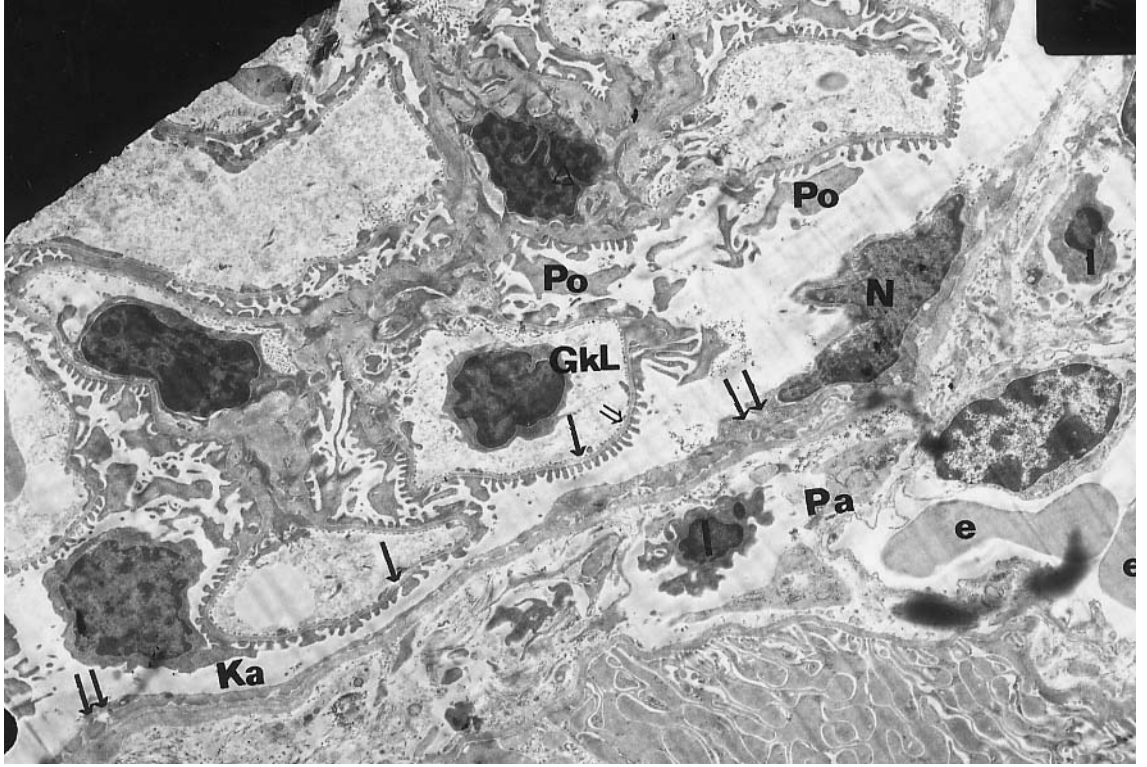
Şekil 4. 2. 5: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül hücresinde nükleus (n), mitokondri (m), lizozom (L), mikrovillus (mv), otofajik vakuol (ΔΔ), granüllü endoplazmik retikulum kesesi (g), peroksizom (Δ), bazal lamina (↑↑) ve bazal katlanmalar (bk →). X17 000.



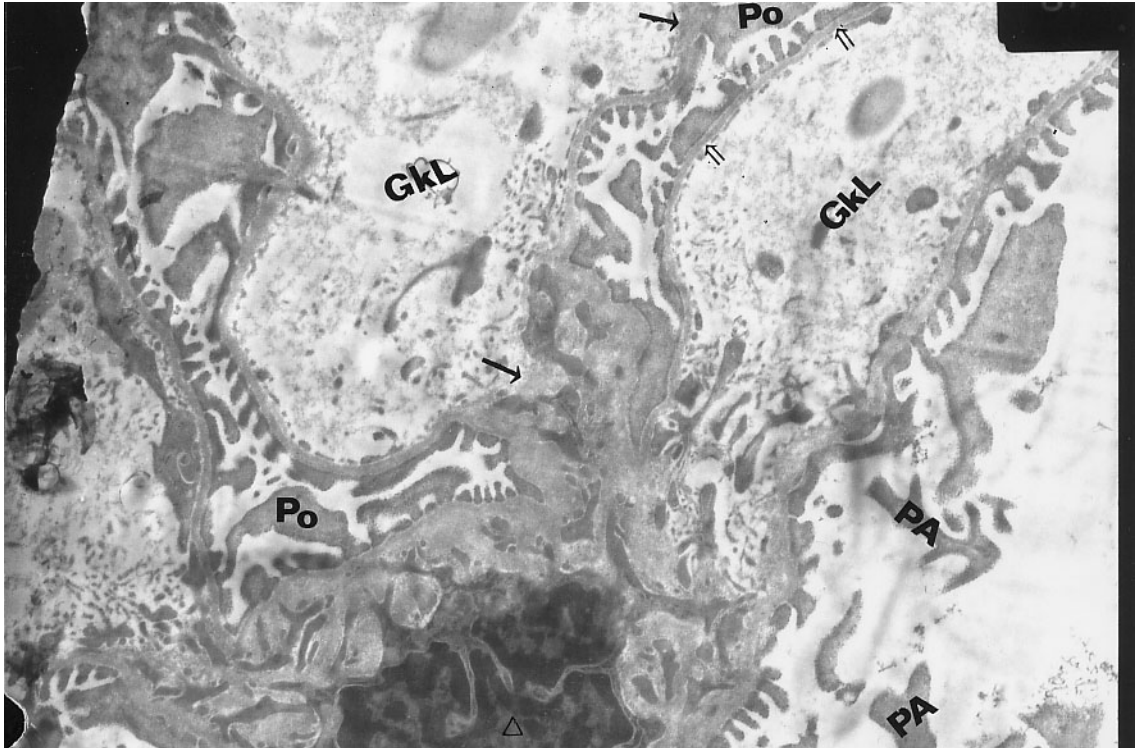
Şekil 4. 2. 6: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, distal tübül hücrelerinin (DT) nukleusları (n), mitokondriler (m), lizozomlar (L), bazal katlanmalar (bk→), mikrovilluslar (mv), peritübülär alan (Pa) ve proksimal tübüller (PT). X6 800.



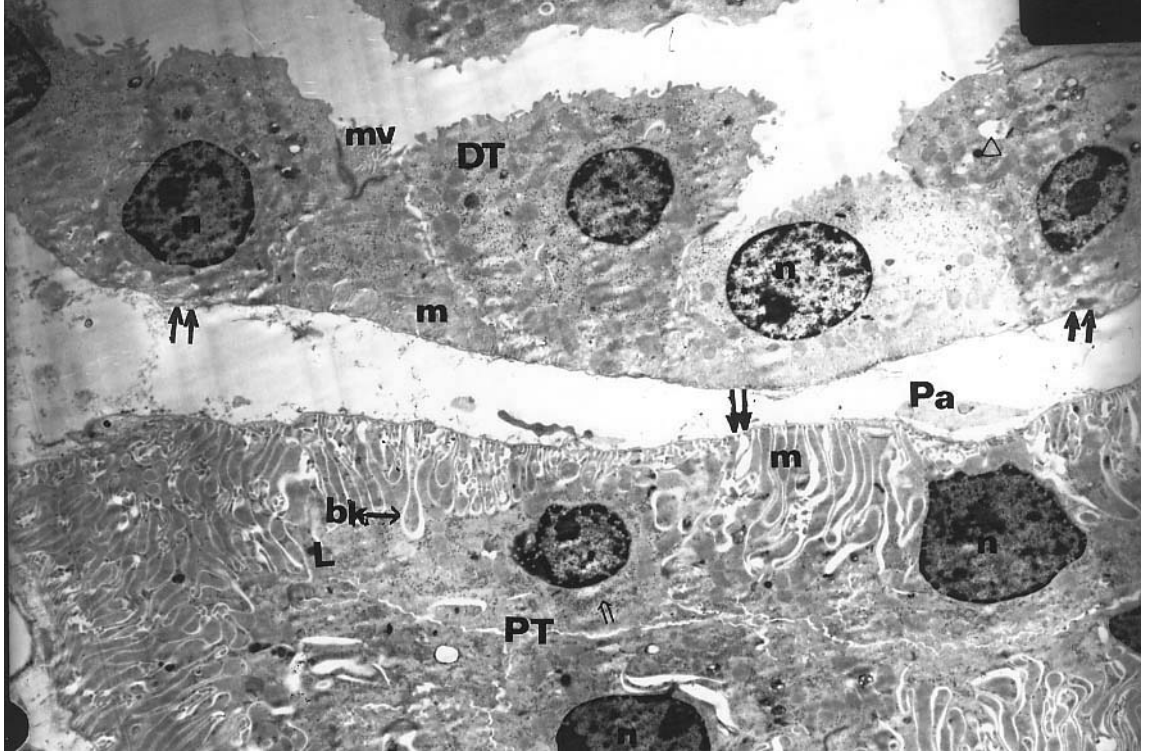
Şekil 4. 2. 7: Kontrol grubuna ait hayvanların böbrek korteksinde, distal tübül hücrelerinin nukleusları (n), mitokondriler (m), lizozomlar (L), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), mikrovilluslar (mv), bazal lamina (↑↑) ve bazal katlanmalar (bk→). X17 000.



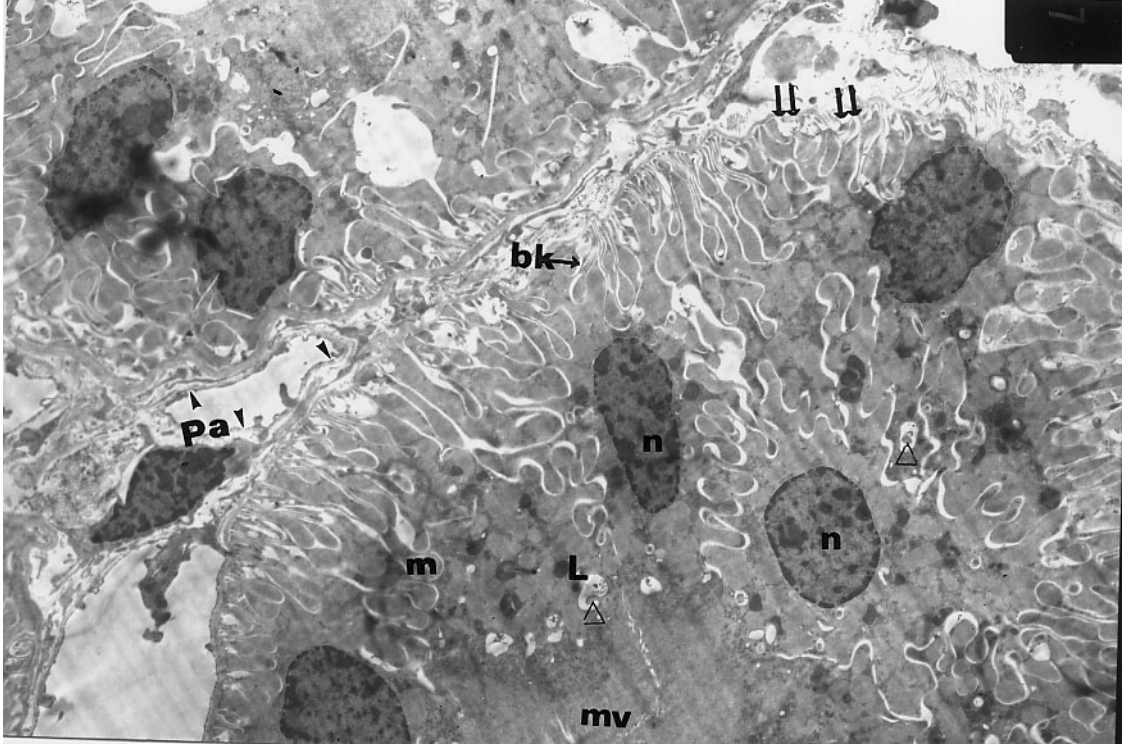
Şekil 4. 2. 8: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında, hasara uğramış glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), podositler (Po), düzensiz fenestralar (↑↑), mesangiyal hücre nükleusu (Δ), düzensiz parietal yaprak epiteli, parietal yaprak epitelinin nükleusu (N), kapsüler alan (Ka), peritübüler alan (Pa) ile peritübüler alanda eritrositler (e) ve lökositler (l). X6 800.



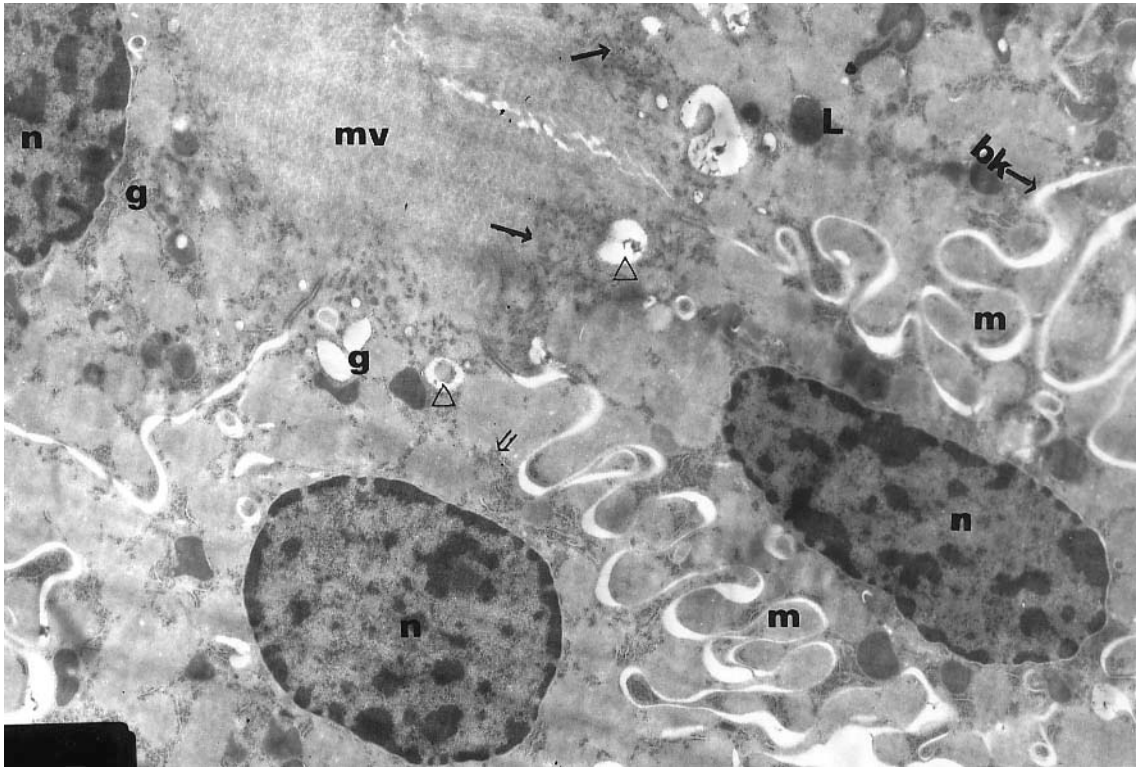
Şekil 4. 2. 9: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında, hasara uğramış glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), düzensiz uzantılara sahip olan podositler (Po), podosit ayakları (PA), düzensiz fenestralar (↑↑) ve mesangiyal hücre nükleusu (Δ). X17 000.



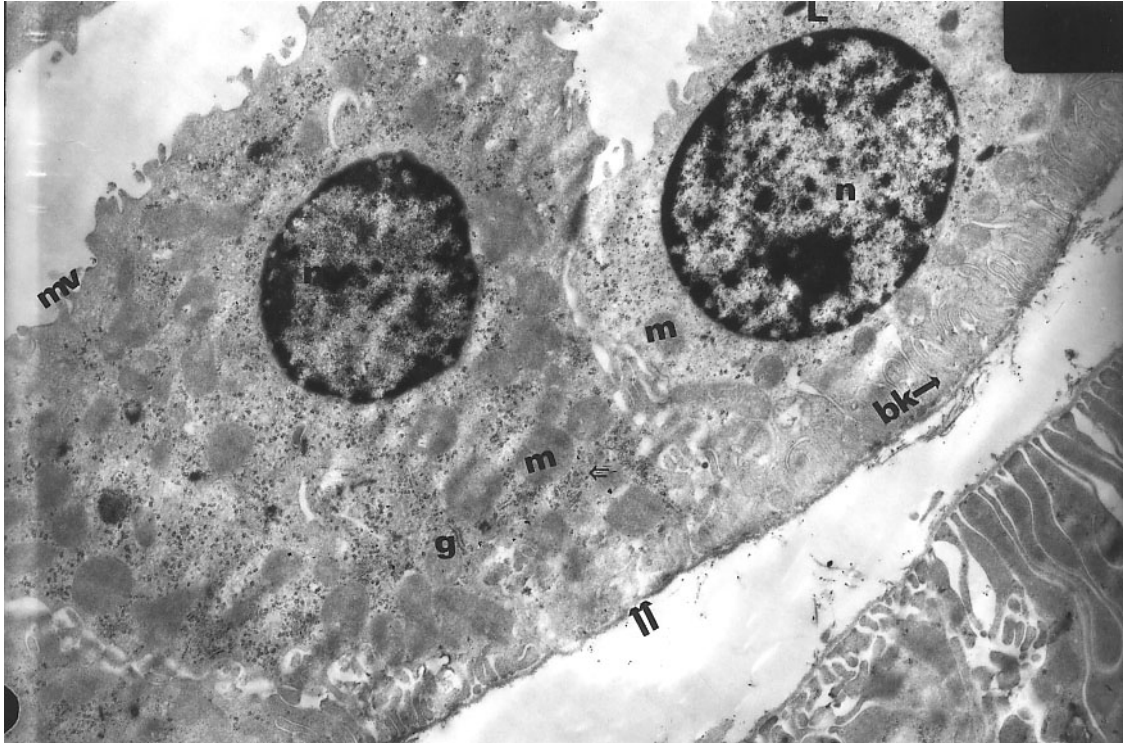
Şekil 4. 2. 10: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), hasara uğramış ve devamlılığını kaybetmiş düzensiz mikrovilluslar (mv), nukleuslar (n), mitokondriler (m), polizomlar (↑), lizozomlar (L), otofajik vakuoller (Δ), düzensiz ve genişlemiş bazal katlanmalar (bk→) ve peritübüler alan (Pa). X6 800.



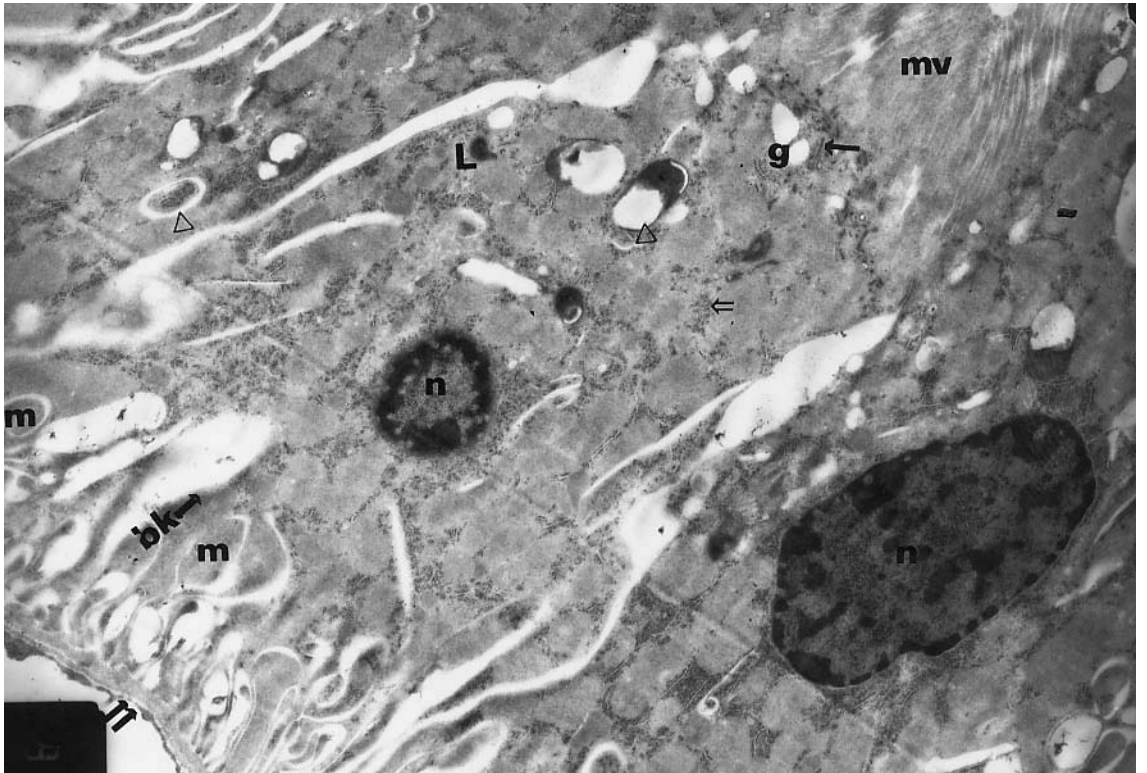
Şekil 4. 2. 11: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübülün bir kısmında, mikrovilluslar (mv), nukleuslar (n), mitokondriler (m), lizozomlar (L), otofajik vakuoller (Δ), düzensiz ve genişlemiş bazal katlanmalar (bk→), düzensiz bazal lamina (↑↑) ve peritübular alan (Pa) ile peritübular alan kapillerlerinin hasara uğramış endotel tabakası (▲). X6 800.



Şekil 4. 2. 12: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübülün bir kısmında, mikrovilluslar (mv), nukleuslar (n), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), lizozomlar (L), otofajik vakuoller (Δ), düzensiz ve genişlemiş bazal katlanmalar (bk→) ile mitokondriler (m). X17 000.



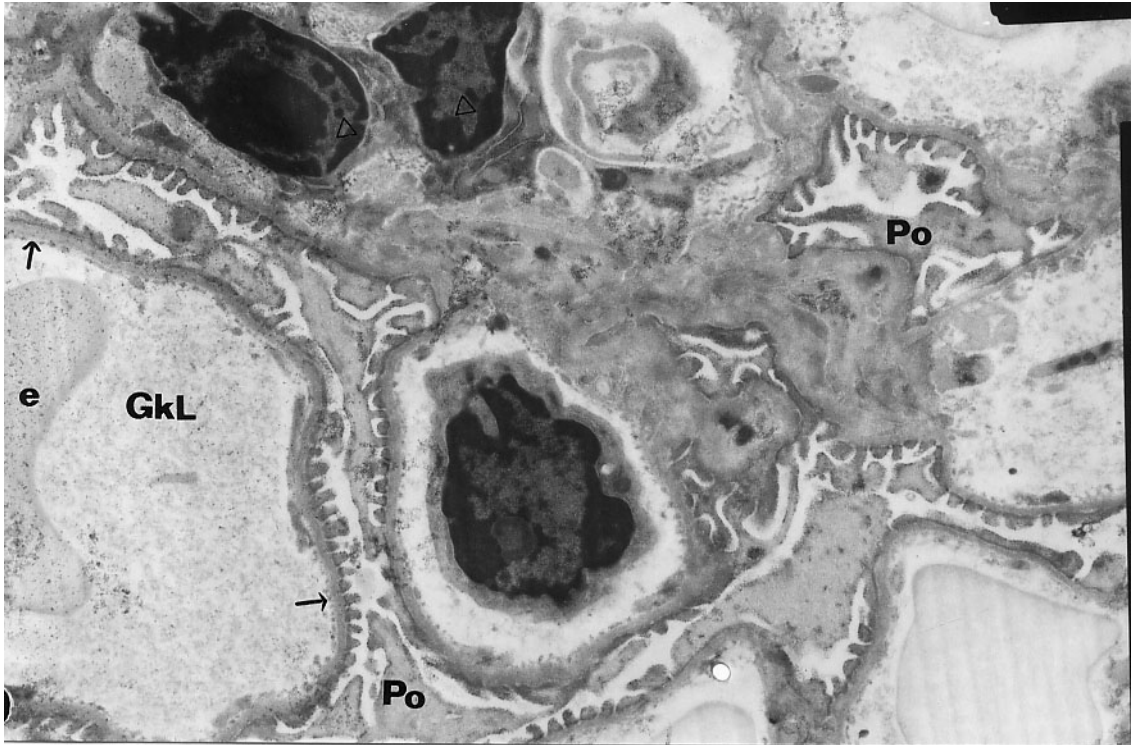
Şekil 4. 2. 13: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, distal tübülün bir kısmında, nukleuslar (n), hasara uğramış mikrovilluslar (mv), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), lizozomlar (L), bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m) ve düzensiz bazal lamina (↑↑). X17 000.



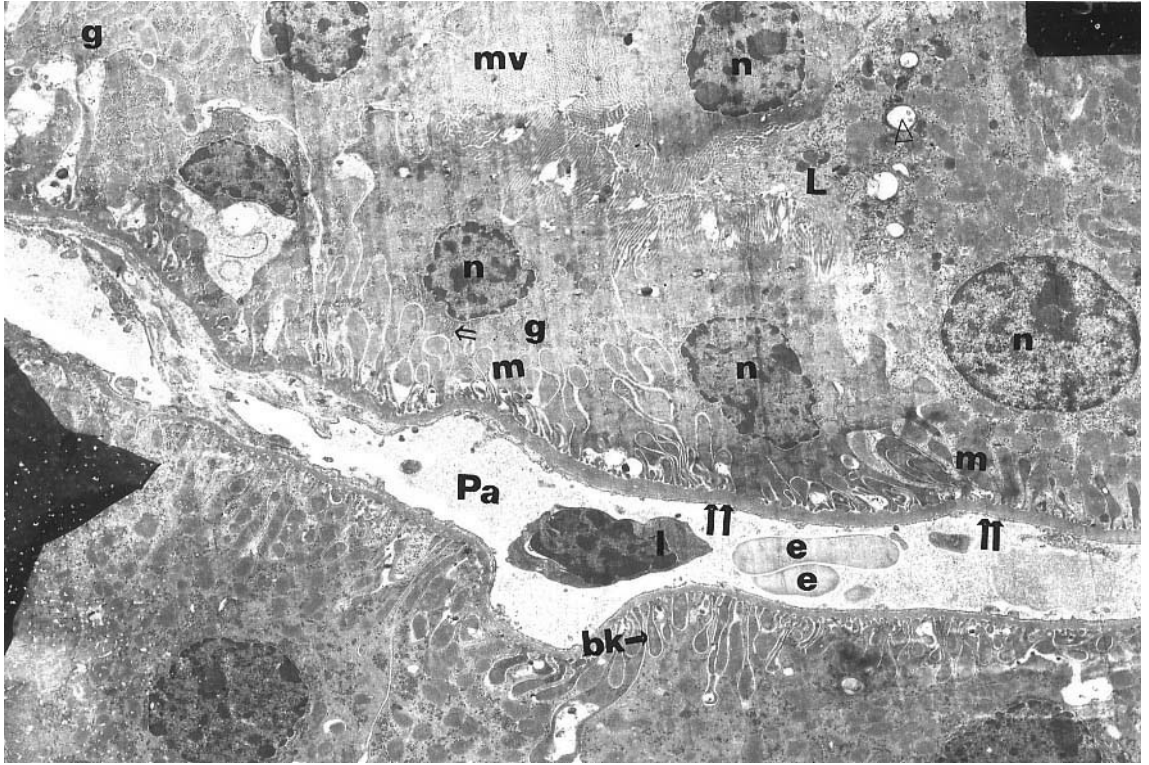
Şekil 4. 2. 14: STZ uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübülün bir kısmında, mikrovilluslar (mv), nukleuslar (n), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), lizozomlar (L), otofajik vakuoller (Δ), hücrelerarası alanda genişlemeler ile düzensiz ve genişlemiş bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m) ve bazal lamina (↑↑). X17 000.



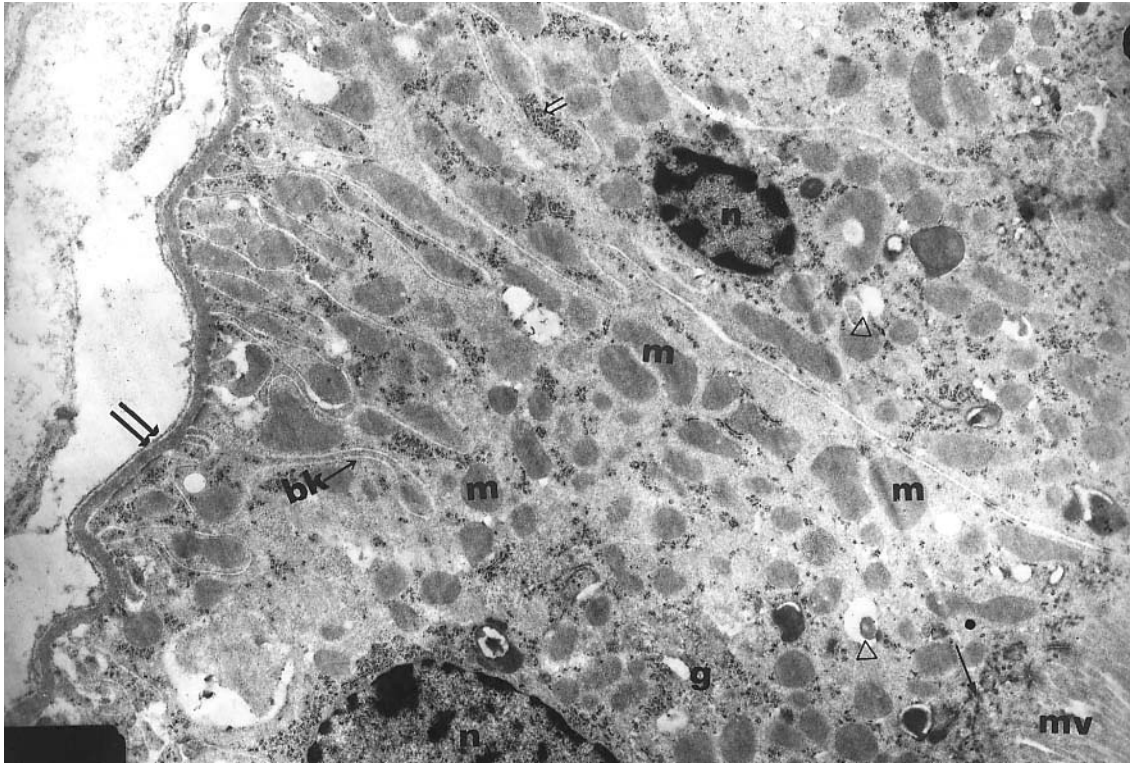
Şekil 4. 2. 15: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında, düzenli glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrosit (e), podosit ayakları (PA), mesangiyal hücre nükleusu (Δ) ve kollagen (Ko). X17 000.



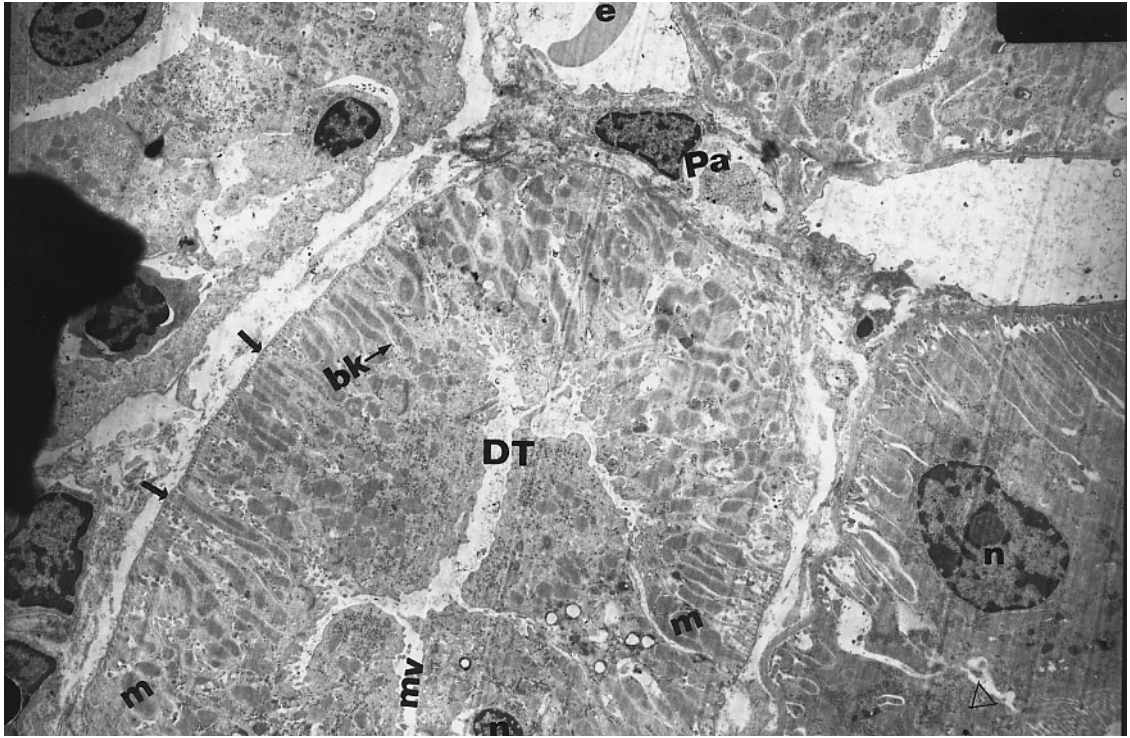
Şekil 4. 2. 16: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında, kontrole benzer glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrosit (e), podositler (Po) ve mesangiyal hücrelerin nükleusu (Δ). X17 000.



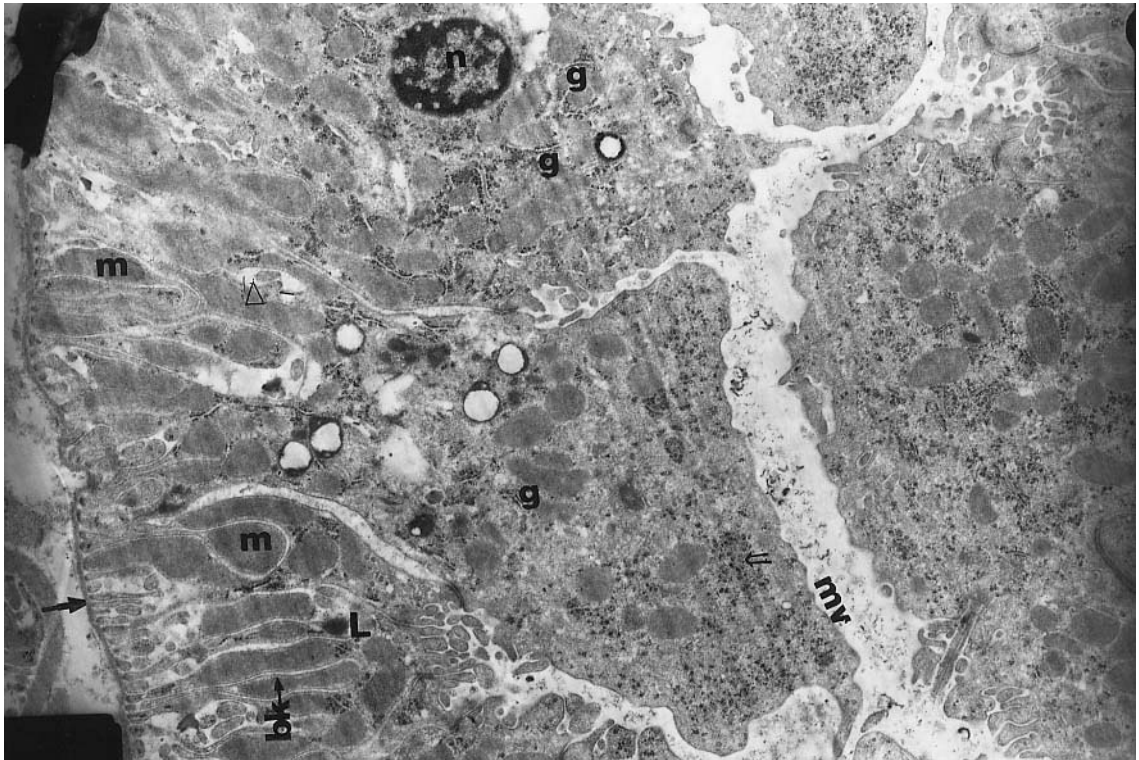
Şekil 4. 2. 17: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübülün bir kısmında nukleuslar (n), mikrovilluslar (mv), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), lizozomlar (L), bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m), peritübular alanda (Pa) eritrositler (e) ile lökosit (l) ve bazal lamina (↑↑). X6 800.



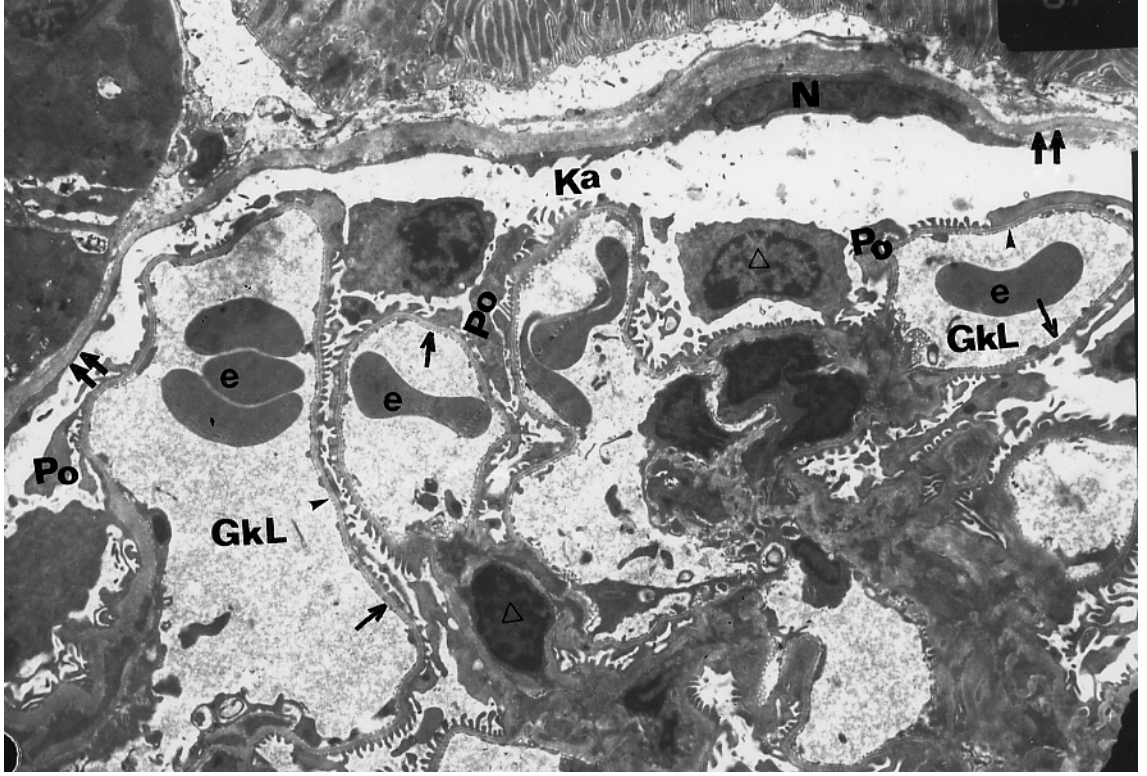
Şekil 4. 2. 18: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübülün bir kısmında nukleuslar (n), mikrovilluslar (mv), mikrotübüller (↑), genişlemiş granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), polizomlar (⇓), otofajik vakuoller (Δ), düzensiz bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m), bazal lamina (↑↑). X17 000.



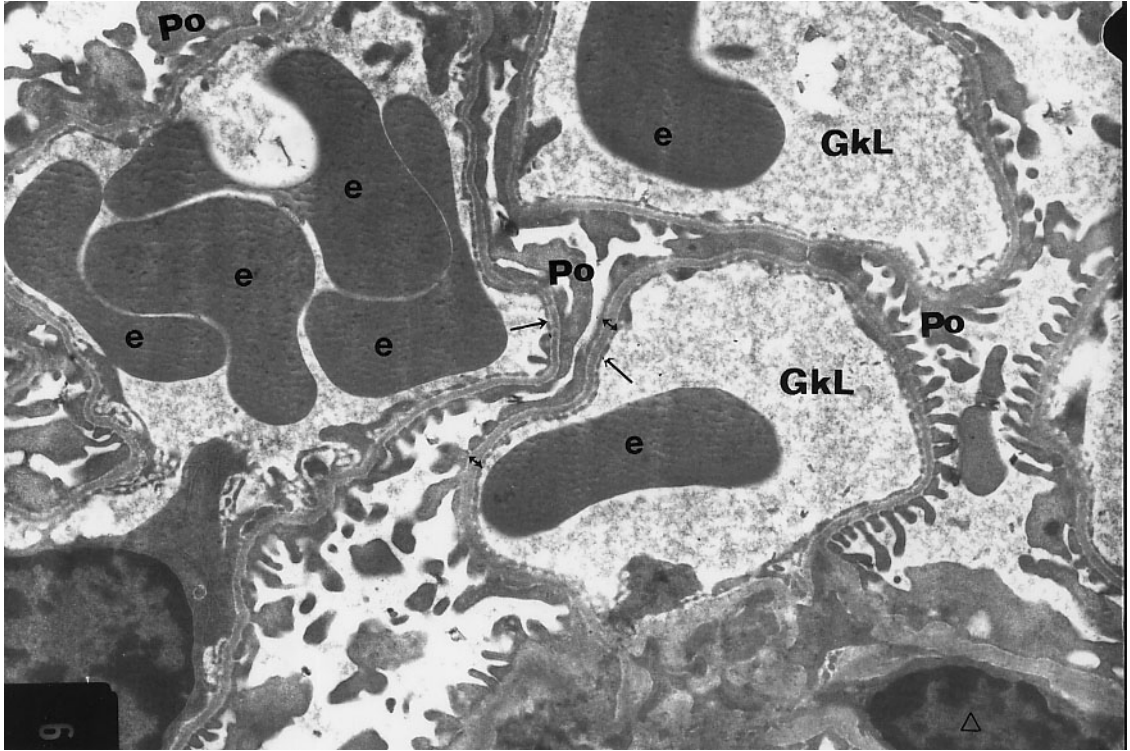
Şekil 4. 2. 19: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, distal tübülün (DT) bir kısmında nukleuslar (n), mikrovilluslar (mv), otofajik vakuoller (Δ), bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m), peritübular alan (Pa) ve bazal lamina (↑). X6 800.



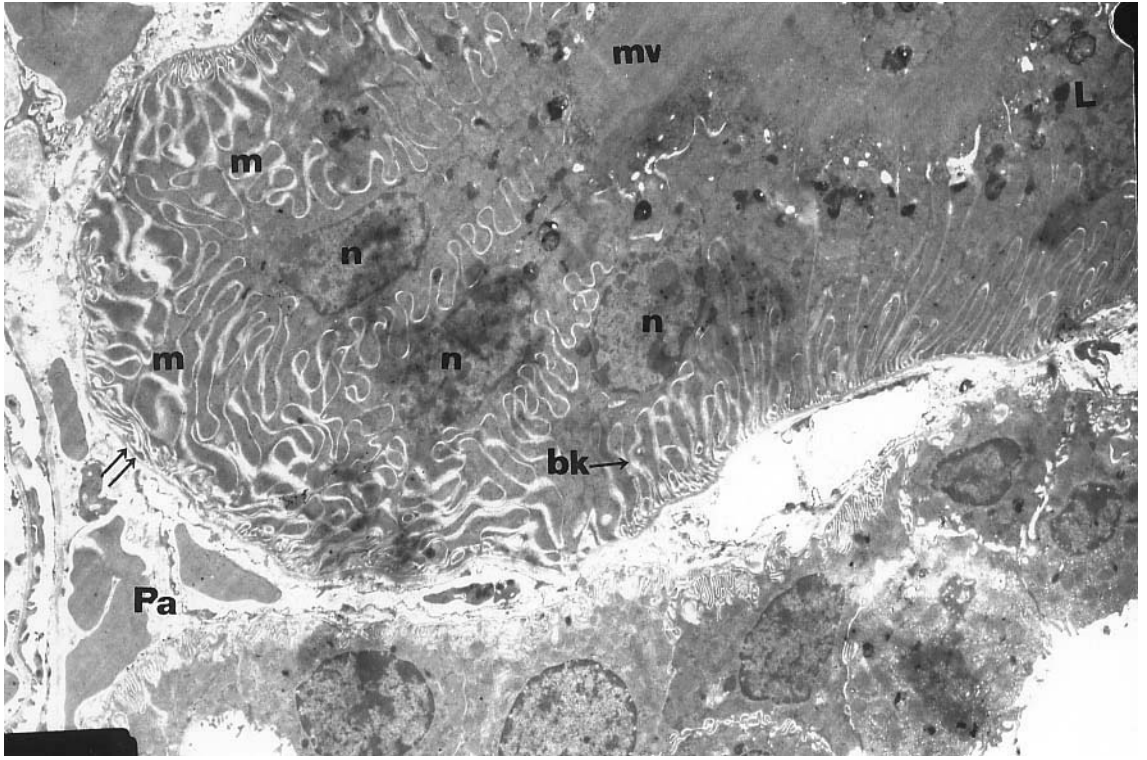
Şekil 4. 2. 20: STZ+AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, kontrole benzer distal tübül hücresinin nukleusu (n), mikrovilluslar (mv), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g) ile polizomlar (↑), lizozomlar (L), otofajik vakuoller (Δ), düzenli bazal katlanmalar (bk→), mitokondriler (m) ve bazal lamina (↑). X17 000.



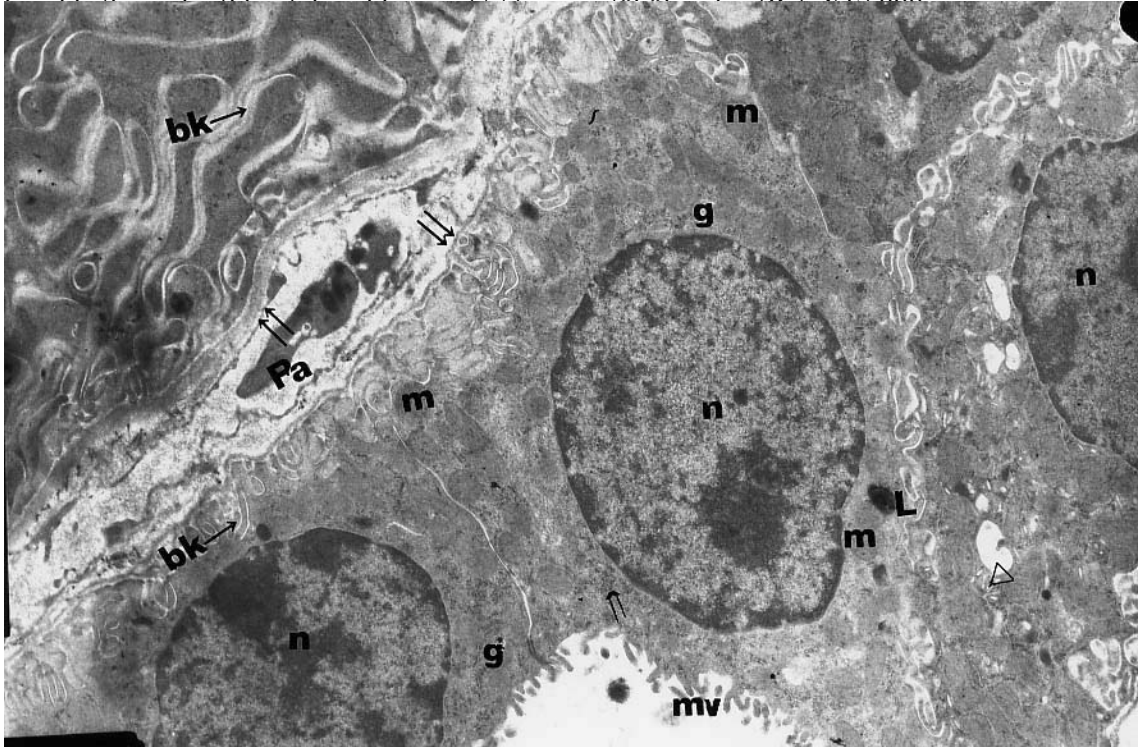
Şekil 4. 2. 21: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrositler (e), podositler (Po), düzenli fenestrallar (▲), mesangiyal hücrelerin nukleusu (Δ), parietal yaprak epiteli (↑↑), parietal yaprak epitelinin nukleusu (N) ve kapsüler alan (Ka). X6 800.



Şekil 4. 2. 22: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, glomerular yumağın bir kısmında glomerular kapiller endoteli (↑), glomerular kapiller lümeni (GkL), eritrositler (e), podositler (Po), mesangiyal hücre nukleusu (Δ) ve kalınlaşmış bazal lamina (⇓). X17 000.



Şekil 4. 2. 23: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, proksimal tübül hücresinin bir kısmında, nukleus (n), mitokondriler (m), mikrovilluslar (mv), lizozomlar (L), bazal katlanmalar (bk→), peritübüler alan (Pa) (↑↑). X17 000.



Şekil 4. 2. 24: AG uygulanan gruba ait hayvanların böbrek korteksinde, distal tübülün (DT) bir kısmında nukleuslar (n), mikrovilluslar (mv), mitokondriler (m), granüllü endoplazmik retikulum keseleri (g), polizomlar (↑), lizozomlar (L), bazal katlanmalar (bk→), peritübüler alan (Pa) ve bazal lamina (↑↑). X17 000.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Böbreğin fonksiyonel birimi olan nefronun en önemli görevi, filtrasyon, geri emilim ve sekresyondur. Normal koşullarda, bu işlemin sağlıklı bir şekilde yapılabilmesi için, glomerular yumak ve Bowman kapsülünün normal yapısını koruması ayrıca, tübüllerin emilim yüzeylerinin de sağlıklı olması gerekmektedir. Böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesi, sinirsel, hormonal ve nefron düzeyinde süzülen maddelerin miktar ve içeriklerine bağlı olarak yerine getirilmektedir. Bunun yanısıra, son yıllarda NO' in de, böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesinde herhangi bir rolünün olup olmadığı tartışılmaktadır. Şimdilerde ise, nefron fizyolojisinde, NO' in rolü olduğu kesin olarak bilinmektedir. Böbrekte, NO çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir role sahiptir. *In vivo* olarak yapılan deneysel çalışmalarda ilk olarak, NO' in natriüretik (Na^+ atılımı) ve diüretik (su atılımı) etkilere sahip olduğu, bunun da nefron boyunca NaCl ve sıvı geri emiliminin azalmasına bağlı olarak ortaya çıktığı ileri sürülmüştür [102]. Son 10 yılda, birçok yayında, tübüllerin farklı segmentlerinde, taşınmanın düzenlenmesinde NO' in doğrudan rolü olduğu gösterilmiştir [102]. Ancak, NO' in proksimal tübül üzerindeki etkileri hala tartışılmaktadır. Yapılan çalışmalar, proksimal tübülün, çeşitli uyarılara bağlı olarak, büyük miktarlarda NO üretebilmekte olduğunu göstermiştir. NO; sıvının, Na^+ , bikarbonat ve fosfatın, proksimal tübül geri emiliminin düzenlenmesinde çok önemli bir role sahiptir [103]. Böbrek tübülleri ile kan arasında bikarbonat düzeylerinin ayarlanması, tübül hücrelerinin membranlarındaki taşıyıcılar ile gerçekleşmektedir. Bu taşıyıcılarla NO arasındaki ilişkileri ortaya koymak üzere yapılan çalışmalarda, Na/H değiştiricisinin ve Na/K-ATPaz aktivitesinin NO ile inhibe olduğu gösterilmiştir [102, 104]. Bununla birlikte, Cl^- ve HCO_3^- iyonlarının emiliminin yapıldığı Henle kulbunun kalın çıkıcı kolunda, NO' in bu taşıyıcıların fonksiyonlarını azalttığı ile ilgili çalışmalara rastlanmaktadır [102]. NO' in, Na-K-2Cl taşıyıcısı ve Na/H değiştiricisi üzerine doğrudan inhibe edici etkisi araştırılırken, tübülün bu kısmında apikal potasyum kanallarını uyardığı bulunmuştur [102]. Toplayıcı kanallarda NO' in, Na^+ geri emilimini ve vazopressinin uyardığı osmotik su geçirgenliğini inhibe ettiği, ayrıca, NO' in H-ATPaz üzerine inhibe edici bir etkisinin olduğu belirtilmiştir [102]. Sonuç olarak, NO' in nefronun farklı bölgelerinde taşıyıcı fonksiyonlarının düzenlenmesinde, dolayısıyla idrarla Na^+ ve su atılımının yerine getirilmesinde rolü olduğu ortaya

konmuştur. Ancak, böbrek tübüllerinden madde taşınmasına NO' in etkisi, tübülün bazı bölgeleri için hala tartışılmaktadır [102-104].

Deneysel diyabetin oluşturulmasında kullanılan maddelerden biri olan STZ, birçok doku ve organda NO sentezini arttırarak, çeşitli patofizyolojik değişikliklere neden olmaktadır. STZ, diyabetojenik etkisini pankreastaki β hücrelerini tahrip ederek gösterir. STZ' nin β hücrelerindeki etkisi, kan glukoz ve insülin konsantrasyonlarındaki karakteristik değişiklikler ile birliktedir. İnsüline bağımlı diabetes mellitus oluşturmada, yetişkin sıçanlarda sıklıkla, 40-60 mg/kg olacak şekilde, tek intravenöz STZ dozu kullanılmakla birlikte, çalışmalarda daha yüksek dozlar da tercih edilebilmektedir [105]. STZ' nin intraperitoneal olarak verilmesi de benzer etki yaratırken, maddenin bu uygulanma yönteminde doz, 40 mg/kg' ın altında olmamalıdır [106]. STZ enjeksiyonundan 2 saat sonra, kan insülininin ani düşüşüyle birlikte hiperglisemi oluşur. Yaklaşık 6 saat sonra, kan insülin düzeyinin yükselmesiyle hipoglisemi meydana gelir ve sonunda hiperglisemi gelişerek, kan insülin konsantrasyonu düşer [107]. Kan glukoz ve insülin konsantrasyonlarındaki bu değişiklikler, β hücre fonksiyonunda anormalliklere neden olur. STZ, glukoz oksidasyonunu bozar [108] ve insülin biyosentezi ile salınımını azaltır [109, 110]. STZ' nin ilk olarak, glukozu karşı β hücre cevabını bozduğu elde edilmiştir. Geçici cevapsızlık geri döner ve ardından kalıcı hücre hasarı oluşur [107]. STZ' nin pankreatik β hücrelerine alınması, glukoz taşıyıcı GLUT2 yoluyla olur. GLUT2' nin azalan anlatımı, STZ' nin diyabetojenik etkisini önlemede bulunmuştur [111, 112].

STZ, NO oluşumunu uyarıyor ve NO, pankreasın Langerhans adacık hücrelerinde yıkıma neden oluyorsa, bu molekülün STZ kaynaklı DNA hasarında ilişkisi olduğu düşünülebilir [113, 114]. STZ' nin sitotoksik etkilerinde NO' in rol oynadığı çeşitli deneylerle gösterilmiştir [113, 115]. STZ kökenli değişikliklere, pankreatik β hücrelerinin korunmasızlığı, NO işlevi için karakteristiktir [115]. Bununla birlikte STZ, kendiliğinden bir NO vericisi değildir [113]. STZ hücre içerisinde metabolize olduğu zaman, NO serbest bırakılır. Diğer yandan, iNOS' un inhibe edilmesi ile konsantrasyonu düşürülen NO, pankreas Langerhans adacık hücrelerinde, STZ' nin neden olduğu DNA hasarına kısmen engel olur [108]. Ancak, STZ' nin sitotoksik etkilerinde tek sorumlu molekülün NO olmadığı da belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda, diyabetik sıçanlarda, üretilen NO' in artmış olduğu gösterilmiştir. Benzeri şekilde, sıçan ve farelerde, STZ uygulamasından sonra, NO metabolizmasının son ürünleri olan nitrit ve nitrat düzeylerinin arttığı da saptanmıştır [116]. Diyabetik böbrekte meydana gelen ilk hemodinamik değişiklik, hiperfiltrasyonun gelişimidir [90]. STZ ayrıca, lökositlerin kümelenmelerine ve damar endoteline yapışmalarına neden olarak, kapillerlerde tıkanmalara, endotel tabakasında bozulmalara, lökositlerin damarlardan hücrelerearası alana göç etmelerine ve bütün bu değişikliklere bağlı olarak kanamalara yol açmaktadır [77]. Diyabette meydana gelen bu dolaşım bozuklukları sonucu, hücresel bozukluklar da ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda, farelere STZ uygulaması ile diyabet oluşturduktan sonra, böbrek dokularından alınan kesitlerde, glomerular yumak, Bowman kapsülü ve tübül hücrelerinde gördüğümüz bozukluklar, gelişen bu patofizyolojik olaylara dayanmaktadır.

Farelere, tek ve yüksek doz (180 mg/kg) STZ' nin intraperitoneal olarak verilmesi ile meydana gelen diyabette, STZ ile oluşan sitokinlerin, makrofajları uyarması ile iNO sentezinin arttığı gösterilmiştir [89]. iNOS yolunda, makrofajlarda ve diğer bazı hücrelerde, arginin metabolizması sonucu oluşan mikromolar konsantrasyonlardaki NO, prokaryotik ve ökaryotik hücresel metabolizmayı inhibe edebilir. Diğer birçok immünolojik araçlar gibi NO' in de iki yanı da keskin bir bıçak olduğu sanılmaktadır. Makrofaj kaynaklı NO, bakteriyel ve parazitik hastalıklar ve hatta kanser için, konakta önemli bir savunma aracı olarak görünmektedir. Diğer kanıtlar ise, makrofaj kaynaklı NO' in otoimmün hastalıklara katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Kemiricilerde, diyabet oluşum nedenlerinde NO' in rol oynadığına ilişkin kanıtlar vardır [89]. Diyabette, glomerular yumağın düzensiz bir görünüm alması, kapillerlerin ve damarların genişlemesi, lökosit yığılması ve buna bağlı olarak eritrosit birikmesi, STZ enjeksiyonu ile oluşturulmuş diyabette, artan iNO ile ilgili olarak ortaya çıkmaktadır. Kapillerlerde meydana gelen bu yığılma ve tıkanmalar sonucunda, kanın damar endoteline yaptığı basınç artarak eNO de salınmakta, dolayısıyla arteriyollerin düz kasında cGMP aracılığıyla gevşeme meydana gelmektedir [117]. Bu da, böbrekte fizyolojik olarak glomerular filtrasyon hızı ile, maddelerin Bowman kapsülü aralığına geçişini etkilemektedir [118]. Çalışmamızda hazırladığımız ışık mikroskobu kesitlerinde de, STZ uygulanan grupta, Bowman kapsülünün özellikle viseral yaprağında meydana gelen bozukluklar, kapsül lümenindeki ultrafiltratın da farklı

olacağını göstermektedir. Bu grupta hem kapillerlerin, hem de nefronun farklı bölgelerine ait bazal laminaların PAS reaksiyonunda bir azalma görülmektedir. Bu reaksiyonun azalması da, bazal laminanın hasara uğramış olduğunu açıkça göstermektedir. Böylece, glomerular filtrasyon hızının ve ultrafiltrat içeriğinin değişmesi kaçınılmaz olacaktır. Bunlara ek olarak STZ, doğrudan ya da dolaylı olarak, glomerular yumak ve Bowman kapsülü yanında, proksimal ve distal tübüllerde, hem yapısal hem de fonksiyonel bozukluklara neden olacaktır. Elektron mikroskobu incelemelerinde gözlenen, glomerular kapillerlere ait fenestralardaki düzensizlikler, filtrasyonda meydana gelebilecek değişiklikler ile ilgili olabilir. STZ' nin, proksimal tübüllerin apikal kısmında bulunan fırça kenarlarda belirgin bir hasara yol açtığı ve PAS reaksiyonunun azaldığının gösterilmesi, tübül hücrelerinin membranlarında bulunan taşıyıcıların membranın zarar görmesine bağlı olarak işlevinin bozulacağına ve bunun sonucu olarak da tübüllerin geri emilim fonksiyonlarını tam olarak yerine getiremeyeceklerini işaret etmektedir. Bu gruba ait elektron mikrograflarında, bazal katlanmaların genişlediği ve mitokondrilerin hasara uğramış olduğu görülmekteydi. Bazal membranların genişlemiş olması, hücre ile peritübül alan arasındaki iyon taşınmasında çok fazla değişiklik meydana geldiğini göstermektedir. Mitokondrilerde gözlenen bozulmalar ise, hücrede enerji için gerekli olan ATP sentezinin azalmaya başladığına işaret etmektedir.

Daha önceleri yapılan birçok çalışmada, diyabette meydana gelen histolojik değişikliklerin birçoğunun, bu süreçte artan iNO sentezine bağlı olduğu gösterilmiştir [119]. Çalışmamızda, dokudaki değişikliklerin yanında, NADPH-d yöntemi ile histokimyasal olarak NOS dağılımına baktığımızda, NADPH-d reaksiyonunun kontrol gruplarına göre fazla olması, diyabet sonucu NO' in arttığını, STZ' nin NO sentezini uyardığını göstermektedir. Böbrek tübüllerinde, özellikle proksimal tübülde, STZ ve sitokinlerin uyardığı iNO' in artması, gördüğümüz değişikliklerin NO ile ilgili olabileceğine işaret etmektedir. Diyabette artan NO' in meydana getirdiği değişiklikler hücresel düzeyde incelendiğinde, elektron mikroskobu bulgularımız da, ışık mikroskobu bulgularımızı desteklemektedir. Elektron mikrografları, endotel tabakasının ve bazal laminaların hasara uğradığını, devamlılığını kaybettiğini, kapiller lümenlerinin oldukça genişlediğini ve podositlerin uzantılarında düzensizliklerin olduğunu gösterdi. Bunlara ek olarak, peritübül alanlarda kan hücrelerinin varlığı tespit edildi. Melin ve diğerleri

[120], STZ ile diyabet oluşturdıkları hayvanlarda morfolojik değişiklikleri araştırmışlardır. Bu araştırmaların sonucunda, glomerular yumaktaki ve peritübül kapillerlerdeki endotel bozuklukları ile birlikte kan hücrelerinin kümelenildiğini görmeleri, bizim çalışmamızdaki sonuçlara benzemektedir. Bu araştırmacılar, STZ' nin yapısal bozukluklara neden olduğunu, glomerulus bazal membranında kalınlaşmanın meydana geldiğini belirlemişlerdir. Glomerular değişiklikler ile beraber, inflamasyonun, tübüllerarası fibrosisin, tübüllerde bozulmanın, tübül hücrelerinde vakuol oluşumunun meydana geldiğini göstermişler, ayrıca lökosit göçünün ve birikiminin arttığını da tespit etmişlerdir [120]. Bizim ışık ve elektron mikroskobu bulgularımızda, proksimal tübül fırça kenarlarında ve bazal katlanmalarda tespit ettiğimiz bozukluklar, tübüllerin geri emilim fonksiyonlarını tam olarak yerine getiremeyeceklerini doğrulamaktadır. Bütün bu araştırmacıların da gösterdiği gibi, bizim çalışmamızda da STZ enjeksiyonu sonrasında, proksimal tübül hücrelerinde otofajik vakuol ve lizozomların artmış olması, bu hücrelerin, dolayısıyla tübüllerin bozulmakta olduğunu göstermektedir. Raji ve Baylis [50], aşırı NO üretiminin çeşitli durumlarda patojenik olabileceğini bildirmişlerdir. Son deneysel çalışmalar, erken diyabet gelişiminin belirgin özelliği olan glomerular hiperfiltrasyonun bir kısmından, aşırı NO salınımının sorumlu olabileceğini göstermektedir. NO, glomerular kapiller kan basıncının, glomerular plazma akışının ve glomerular filtrasyon hızının fizyolojik düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. NO, mesangiyum boyunca, glomerular basıncın ve akımın hareketinde, makro ve mikromoleküler trafikte düzenleyici olabilir. Uzun süreli NO yetersizliği, hipertansiyon ve glomerular hasara neden olur. Diyabette artan NO üretimi, erken patojenik hemodinamik değişikliklerle ilgili olabilir. Glomerular inflamasyon süresince, glomerular hücreler veya makrofajlardan sentezlenen büyük miktardaki NO hasara yol açabilir [50].

Yukarıda bahsedilen hücresel değişikliklerin NO ile ilgili olup olmadığını anlamak amacıyla, dokuda NOS dağılımını histokimyasal olarak göstermeye çalıştığımızda, STZ uygulanan hayvanların böbrek korteksinde, özellikle proksimal tübüllerde NADPH-d reaksiyonunun daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgumuz, artan NO' in belirttiğimiz hücresel değişikliklerde önemli rolü olduğunu desteklemektedir. Kontrol hayvanlarında da NADPH-d reaksiyonunun görülmesi, normal koşullarda böbrek dokusunda da NOS' un varlığını açıkça göstermiştir. iNO sentezini inhibe ettiği bilinen

AG' nin STZ enjeksiyonundan sonra uygulanması ile, NADPH-d reaksiyonunun proksimal tübüllerde azalmış olması da, STZ' nin iNO sentezini uyararak, patofizyolojik değişiklikler meydana getirdiğini desteklemektedir.

STZ enjeksiyonundan hemen sonra başlanan ve 3 ay süresince her gün AG uygulanan hayvanlarda, glomerular yumakların bir kısmında kapiller düzensizliğinin devam etmesi, proksimal tübül hücrelerinde özellikle fırça kenarlardaki hasarın daha az olması, AG' nin, proksimal tübüllerdeki hasar oluşumunu bir dereceye kadar önlediğini göstermektedir. STZ ve AG uygulanan bu grupta, glomerular yumakların bir kısmı, STZ verilen gruba göre daha düzenliydi. Ayrıca, STZ ve AG verilen grupta PAS reaksiyonu incelendiği zaman, bazal laminaların ve fırça kenarların kontrol grubundaki bireylere benzer olması, iNO sentezinin durdurulmasının, STZ' nin neden olacağı patofizyolojik olayları kısmen engelleyebileceğine işaret etmekte ve diyabette iNO üretiminin önemini bir kez daha göstermektedir. Bu gruba ait elektron mikrograflarında, proksimal tübül hücrelerinde polizomların ve granüllü endoplazmik retikulum keselerinin kontrol grubuna göre artmış olması, bu hücrelerde protein sentezinin arttığına işaret etmektedir. Bu grupta mitokondrilerin de diyabetik gruptan daha yoğun görünmesi, hücrenin gerekli ATP enerjisini sağlayarak hasarı önlemeye çalışmasıyla ilgili olabilir.

Kontrol amaçlı olarak, sadece AG verdiğimiz gruptaki NADPH-d reaksiyonunun, bütün gruplardan daha az olması, kontrol gruplarında iNOS' un normal koşullarda da mevcut olduğunu göstermekle birlikte, reaksiyonun halen görülmesi, AG' nin iNOS' a özgü bir inhibitör olması ile açıklanabilir. Ayrıca, bu grupta iNOS ortadan kalktıktan sonra görülen reaksiyonun, proksimal tübülerde normal koşullarda sadece iNOS' un var olmadığını, diğer NOS enzimlerinin var olduğunu işaret etmesi ve bu histokimyasal yöntem ile her üç tip NOS' un da gösterilebilmesi ile ilgilidir. Çünkü NOS enziminin her 3 izoformu da, kofaktör olarak NADPH kullanmaktadır.

Pek çok araştırmacı, iNO üretiminin normal düzeyde olması ile diyabetin patofizyolojik etkilerinin ortadan kalkabileceğini düşünerek, diyabette çeşitli NOS inhibitörleri ile çalışmalarını sürdürmektedir. Bununla ilgili olarak, Sugimoto ve diğerleri [116], özgül iNOS inhibitörü olan AG kullanarak, STZ' nin böbreklerde meydana getirdiği

yaralanmaya karşı, AG' nin koruyucu bir rol oynadığını göstermişlerdir. Ayrıca, bizim çalışmamıza benzer şekilde, STZ uygulamasından sonra, plazmadaki nitrit ve nitrat seviyesinin arttığını da göstererek, STZ' nin neden olduğu NO üretiminin, peroksinitrit oluşumu ile oksidatif stresi arttırdığını, böylece böbrek korteksinde hasarın meydana geldiğini belirtmişlerdir [116]. İmmünohistokimya ve in situ hibridizasyon çalışmaları, diyabetik sıçanların glomerular yumaklarında, iNOS pozitif hücre sayısının arttığını göstermiştir. Bu artış, glomerul içi nitrit ve nitratın yükselmesiyle paralellik gösterir. Diyabetik sıçanlara AG uygulanması sonucunda, iNOS ve glomerul içi nitrit ve nitrat üretiminin azaldığı gösterilmiştir. Ling ve diğerleri [121], yaptıkları bir başka çalışmada, iNOS geninin olmadığı farelerden izole edilen proksimal tübüllerin, normal hayvanların proksimal tübüllerleri ile karşılaştırıldığında, meydana gelen hipoksiye daha dirençli olduğunu bulmuşlardır. Oysa nNOS ve eNOS genlerinin olmadığı farelerden izole edilen proksimal tübüllerin hipoksiye dirençli olmadığı gösterilmiştir. Bunun sonucu olarak da, mevcut çalışmalarla birlikte, farelerde iNO' in, hipoksinin neden olduğu proksimal tübül yaralanmalarında bir aracı olduğu, iNOS geninin olmaması sonucu hücrelerin bu değişikliklere karşı korunduğu gösterilmiştir [121]. Bu çalışmalara dayanarak, bizim ışık ve elektron mikroskobu ile yaptığımız incelemelerde, hücresel hasarların AG ile kısmen önlenildiğini görmemiz, iNOS inhibitörlerinin diyabette oluşan hasarın da ortadan kaldırılmasında önemli rolleri olabileceğine işaret etmektedir. STZ ile birlikte AG uygulanan hayvanlara ait böbrek kortekslerinin elektron mikroskobu incelemelerinde, mikrovillusların ve bazal katlanmaların kontrollere benzer olması, STZ' nin, dolayısıyla iNO' in meydana getirebileceği hücresel hasarı, AG' nin kısmen önleyebildiğini doğrulamaktadır.

Sadece AG verilen hayvanlarda gördüğümüz değişiklikler de oldukça dikkat çekicidir. Proksimal tübül fırça kenarlarının kontrollere nazaran daha belirgin ve düzenli olması, AG' nin proksimal tübüllerdeki iNO sentezini engellemesi ile fırça kenardaki glikokaliksin daha düzenli olduğunu, dolayısıyla AG' nin bazı hücre yüzü elemanlarının sentezini arttırabileceği düşüncesini doğurmaktadır. Ancak bu konu ile ilgili daha önceden yapılmış benzeri bir çalışmaya rastlanmamıştır. Sadece bağırsak epitel hücrelerinin çizgili kenarlarında AG uygulamasının PAS reaksiyonunu arttırdığı görülmüştür [122]. Bu da, AG' nin fırça kenarlarda, özellikle karbonhidrat bakiyelerinin

oluşmasında etkili olabileceğini böylece, sağlıklı bir emilim yüzeyi oluşturabildiğini ortaya koymaktadır.

Sadece AG uygulanan hayvanlarda, glomerular yumak ve kapillerin düzenli olması, peritübular alanlarda lökositlere fazla rastlanmaması, uzun süreli uygulanan AG' nin böbrek dokusunda toksik bir etki yapmadığını göstermiştir. Tek başına AG uygulamasının hücresel düzeyde etkisinin olup olmadığını gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, AG' nin diyabet çalışmalarında ve yaşlanmaya karşı antioksidan olarak kullanılması ile ilgili araştırmalar bulunmaktadır [95, 123]. Bu nedenle, uzun süreli AG uygulamasının hücresel düzeyde nasıl bir etki yapacağı araştırılmaya açık olarak kalmıştır.

Böbrek fonksiyonlarının yerine getirilmesinde, renin-angiotensin sisteminin rolü oldukça önemlidir. Bu nedenle diyabetin bu sistem üzerinde etkisinin olup olmadığını belirlemek için yaptığımız ışık mikroskobu çalışmasında, STZ' nin dolayısıyla iNO' in oldukça etkili olduğu da görülmüştür. Böbreklerde glomerular filtrasyon hızı, afferent ve efferent arteriyollerin çaplarında meydana gelen değişikliklerle kontrol edilmektedir. Ancak patolojik durumlarda, kontrol edilemeyen sitokinlerin neden olduğu NO artışından dolayı değişen kan basıncı, nefronun fonksiyonlarını yakından etkilemektedir [124]. Bu bakımdan, jukstaglomerular hücrelerin renin üretiminin kontrol edilebilmesi oldukça önemlidir. Kan basıncının çeşitli nedenlerle düşmesi, renin sentezi ve salınımını arttırmaktadır [124, 125]. Daha etkili uyarılmalar sonucunda ise kas hücreleri ve mesangiyal hücreler de değişikliğe uğrayarak daha fazla renin üretmektedirler [56]. Böylece, glomerular yumaktaki basıncı normal düzeyde tutmaya çalışmaktadırlar. STZ uyguladığımız grupta, afferent arteriyollerin duvarında yer alan JG hücrelerdeki renin granüllerinin kontrol gruptakilerden fazla olmaları, renin-angiotensin sistemini aktive ettiği için bu hücrelerin uyarılmış olduğunu göstermektedir. Birkaç çalışmada, STZ' nin plazmadaki renin aktivitesine olan etkisi araştırılmıştır ve bu çalışmaların birinde, diyabette, plazmadaki renin aktivitesinin ve plazma Ang II seviyesinin arttığı gösterilmiştir [125]. Bunlara dayanarak biz de, diyabette, damar çaplarını daraltmaya yönelik olarak, renin sentezinin arttığını düşünebiliriz. Bununla ilgili olarak, STZ uygulamasından sonra, AG verdiğimiz hayvanlarda JG hücrelerdeki renin granüllerinin kontrol hayvanlardakine benzer olması, ilginç bir bulgudur. Ancak çok daha ilgi çekici

olan, uzun süreli AG uygulamasının, renin granülleri üzerine arttırıcı bir etki göstermesidir. Daha önce yapılan bir çalışmada, AG uygulamasının, renin granüllerini azalttığı gösterilmiştir [126]. Bu veriler, renin sentez ve salınımında NO' in rolü olduğunu açıkça göstermektedir. Son 10 yıldır yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların birçoğunda, renin sentez ve salınımının kontrolünde NO' in fizyolojik rolü tanımlanmaya çalışılmıştır [56]. Bu çalışmalarla, farklı deneysel koşullar altında yürütülen çalışmalarda NO' in renin salınımının kontrolündeki rolü ile ilgili sonuçlar birbiri ile uyumluluk göstermemektedir [127]. Bu yüzden de, ne renin sentezi ve salınımı üzerindeki NO' in fizyolojik etkisi, ne de JG hücreler üzerine NO' in doğrudan etki mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Bunlarla birlikte, NO' in *in vivo* çalışmalarda renin sistemini uyardığı gösterilmiştir. Renin-angiotensin sisteminin uyarılmasında eksojen ya da endojen kaynaklı NO' in etkili olup olmadığı da tam olarak bilinmemektedir [127].

Bizim çalışmamızda diyabet durumunda, makula densa hücrelerinde sentezlenen NO ile JG hücreler arasında bir bağlantının olup olmadığını belirlemek amacıyla NADPH-d histokimyası uyguladığımız kesitlerde, JGA' da NOS varlığı gözlemlendi. Makula densa hücrelerindeki NOS dağılımında, deney grupları arasında bir fark olduğu görüldü ve reaksiyon STZ uygulanmış olan hayvanlarda diğerlerinden daha belirgindi. Bu da NO' in makula densa hücrelerinde artmış olduğunu, belki de bu yol ile JG hücrelerdeki renin sentezindeki artışı uyarmış olabileceğini düşündürür. Makula densa hücrelerinin iki esas fonksiyonunun olduğu bilinmektedir ki bunlardan biri, GFR' nin kontrol edilmesi, diğeri ise JG hücrelerden renin salınımına aracılık etmesidir [128]. Makula densadan salınan NO' in fonksiyonel rolü tam olarak belirlenememiştir. NO' in, afferent arteriyollerin TGF aracılı kasılmasını önlemede önemli bir role sahip olduğu, bu yüzden de glomerular kapiller basıncını kontrol ettiği gösterilmiştir [129]. Renin salınımı üzerine NO' in asıl etkisi hala tartışmalıdır. İlginç bir şekilde, son zamanlarda makula densada, 7-nitro indozol (7-NI) ile nNOS' un inhibe edilmesiyle renin salınımının etkilenmediği açıklanırken, makula densadan salınan NO' in renin üretiminin düzenleyicisi olmadığı sonucuna varılmıştır [128]. Diğer taraftan da, perfüze edilmiş böbrekten izole edilen JGA' da, renin salınımı üzerine yapılan çalışmalarda, NO' in renin salınımı üzerine hem uyarıcı hem de inhibe edici etkisinin olduğu gösterilmektedir [130, 131]. Greenberg ve diğerleri, perfüze edilmiş sıçanlarda, NO in renin salınımını

uyardığını göstermişlerdir ve izole edilen JGA çalışmalarında, makula densada bulunan NOS' un seçici inhibisyonunun, azalan luminal NaCl' e cevaben, makula densanın aracı olduğu renin salınımını inhibe ettiği [130, 131], ilginç bir şekilde sodyum nitroprussid (SNP)' in renin salınımını azalttığı [131, 132], diğer birçok çalışmada ise arttırdığı bulunmuştur [133]. NO inhibitörleri ve vericileri ile yapılan çalışmalarda, renin-angiotensin sistemi üzerinde NO' in uyarıcı ya da inhibe edici etkilerin varlığı halen tartışılmaktadır. Bütün bunların sonucunda, bizim çalışmamızda NOS dağılımı ve JG hücrelerdeki granül dağılımı birlikte ele alındığında, NO' in renin sentezini arttırdığı söylenebilir. Ancak, AG' nin renin granüllerini arttırıcı etkisi şaşırtıcıdır.

Sonuç olarak çalışmamızda, diyabette NOS izoformlarının, dolayısıyla iNOS' un arttığı ve böbrek korteksinde belirgin bir hasara neden olduğu, iNOS inhibitörü olan AG uygulanmasıyla bu değişikliklerin oluşumunun kısmen önlenebildiği belirlenmiştir. Ayrıca diyabette, JG hücrelerdeki renin granüllerinin arttığı, iNOS ortadan kaldırıldığında renin granüllerin dağılımının kontrole benzediği belirlenmiştir. Çalışmamızdaki en ilginç sonuçlar ise, sadece AG verdiğimiz grupta, NADPH-d reaksiyonunun kontrolden az olması, proksimal tübüllerde normal koşullarda da iNOS' un var olduğunu göstermesidir. PAS reaksiyonunun bu grupta kontrol hayvanlarınkinden fazla olması, AG' nin normal koşullarda varolan iNOS' un inhibisyonuyla ya da antioksidan etkisiyle, fırça kenarlardaki glikokaliksin artmasına neden olduğunu göstermiştir. Bu bulgulara ek olarak, renin granüllerinin kontrole göre daha fazla olması da, AG' nin 3 ay gibi uzun bir süre uygulanmasına veya iNOS' un inhibe edilmesiyle artan eNOS' un etkilerine bağlı olabilir.

6. KAYNAKLAR

1. MURAD, F., ARNOLD, W. P., MITTAL, C. K., and BRAUGHLER, J. M., 1979, Properties and regulation of guanylate cyclase and some proposed functions for cyclic GMP. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.*, 11:175-204.
2. FURCHGOTT, R. F., CHERRY, P. D., ZAWADZKI, J. V., and JOTHIANANDAN, D., 1984, Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 6(2):336-343.
3. FURCHGOTT, R. F., CARVALHO, M. H., KHAN, M. T., and MATSUNAGA, K., 1987, Evidence for endothelium-dependent vasodilation of resistance vessels by acetylcholine. *Blood Vessel*, 24(3):145-149.
4. PALMER, R. M., FERRIGE, A. G., and MONCADA, S., 1987, Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327(6122):524-526.
5. IGNARRO, L. J., BUGA, G. M., WOOD, K. S., BYRNS, R. E., and CHAUDHURI, G., 1987, Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 84(24):9265-9269.
6. BOGDAN, C., ROLLINGHOFF, M., and DIEFENBACH, A., 2000, The role of nitric oxide in innate immunity. *Immunol. Rev.*, 173:17-26.
7. NATHAN, C., 1992, Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J.*, 6:3051-3064.
8. MARIEB, E. N., 1998, *Human Anatomy and Physiology*, 4th ed., California, Benjamin/Cummings Science Publishing. 826-827.
9. WADA, J., ZHANG, H., TSUCHIYAMA, Y., HIRAGUSHI, K., HIDA, K., SHIKATA, K., KANWAR, Y. S., and MAKINO, H., 2001, Gene expression profile in streptozotocin-induced diabetic mice kidneys undergoing glomerulosclerosis. *Kidney International*, 59(4):1363.
10. BREDET, D. S., and SYNDER, S. H., 1994, Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Ann. Rev. Physiol.*, 63:174-195.
11. GROSS, S. S., and WOLIN, M. S., 1995, Nitric oxide: pathophysiologic mechanism. *Ann. Rev. Physiol.*, 57:737-769.
12. MARIN, J., and RODRIGUES-MARTINEZ, M. A., 1997, Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. *Pharmacology and Therapeutics*, 75:111-134.
13. MAXWELL, A. J., TSAO, P. S., and COOKE, J. P., 1998, Modulation of the nitric oxide synthase pathway in atherosclerosis. *Exp. Physiol.*, 83(5):573-584.

14. MADISON, D. V., 1993, Pass the nitric oxide. *Proct. Natl. Acad. Sci.*, 90:4329-4331.
15. LEE, K. H., BAEK, M. Y., MOON, K. Y., SONG, W. K., CHUNG, C. H., HA, D. B., and KANG, M. S., 1994, Nitric oxide as a messenger molecule for myoblast fusion. *J. Biol. Chem.*, 20; 269(20):14371-14374.
16. NATHAN, C., and XIE, Q. W., 1994, Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol. Chem.*, 13; 269(19):13725-13728.
17. FURCHGOTT, R. F., and VANHOUTTE, P., M., 1989, Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J.*, 3(9):2007-2018.
18. IGNARRO, L. J., 1991, Signal transduction mechanisms involving nitric oxide. *Biochem. Pharmacol.*, 15;41(4):485-490.
19. SMUTZER, G., 2001, Research tools for nitric oxide. A wide variety of reagent are available for nitric oxide research. *The Scientist*, 15(6):23-29.
20. BOGDAN, C., 2001, Nitric oxide and the immune response. *Nat. Immunol.*, 2(10):907-916.
21. SCHMIDT, H. H., LOHMANN, S. M., and WALTER, U., 1993, The nitric oxide and cGMP signal transduction system: regulation and mechanism of action. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1178;153-175.
22. LANE, P., and GROSS, S. S., 1999, Cell signaling by nitric oxide. *Semin. Nephrol.*, 19:215-229.
23. SZABO, C., CUZZOCREA, S., ZINGARELLI, B., O'CONNOR, M., and SALZMAN, A. L., 1997, Endothelial dysfunction in a rat model of endotoxic shock. Importance of the activation of poly (ADP-ribose) synthetase by peroxynitrite. *J. Clin. Invest.*, 100:723-735.
24. THIEMERMANN, C., 1997, Nitric oxide and septic shock. *Gen. Pharmacol.*, 29(2):159-166.
25. NATHAN, C., and XIE, Q. W., 1994, Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell*, 23;78(6):915-918.
26. GRIFFITH, T. M., EDWARDS, D. H., DAVIES, R. L., HARRISON, T. J., and EVANS, K. T., 1987, EDRF coordinates the behavior of vascular resistance vessels. *Nature*, 329:442-445.
27. DAVIES, M. G., FULTON, G. J., and HAGEN, P. O., 1995, Clinical biology of nitric oxide. *Br. J. Surg.*, 82:303-326.

28. CLANCY, R. M., LESZCZYNSKA-PIZIAK, L., and ABRAMSON, S. B., 1992, Nitric oxide: An endothelial cell relaxing factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the NADPH oxidase. *J. Clin. Invest.*, 90:1116-1121.
29. DE GROOTE, M. A., and FANG, F. C., 1995, NO inhibitions: Antimicrobial properties of nitric oxide. *Clin. Infect. Dis.*, 21(2):162-165.
30. ALDERTON, W. K., COOPER, C. E., and KNOWLES, R. G., 2001, Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.*, 1; 357 (Pt3):593-615.
31. MARLETTA, M. A., 1994, Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis. *Cell*, 23;78(6):927-930.
32. CHO, H. J., and XIE, O. W., 1992, Calmodulin is a subunit of nitric oxide synthase from macrophages. *J. Exp. Med.*, 176:599-604.
33. KONE, B. C., 2000, Protein-protein interactions controlling nitric oxide synthases. *Acta Physiol. Scand.*, 168:27-31.
34. NORIS, M., MORIGI, M., DONADELLI, R., AIELLO, S., FOPPOLO, M., TODESCHINI, M., ORISIO, S., REMUZZI, G., and REMUZZI, A., 1995, Nitric oxide synthesis by cultured endothelial cells is modulated by flow conditions. *Circ. Res.*, 76: 536-543.
35. NISHIDA, K., HARRISON, D. G., NAVAS, J. P., FISHER, A. A., DOCKERY, S. P., UEMATSU, M., NEREM, R. M., ALEXANDER, R. W., and MURPHY, T. J., 1992, Molecular cloning and characterization of the constitutive bovine aortic endothelial cell nitric oxide synthase. *J. Clin. Invest.*, 90:2092-2096.
36. NAVAR, L. G., ICHIHARA, A., CHIN, S. Y., and IMIG, J. D., 2000, Nitric oxide-angiotensin II interactions in angiotensin II-dependent hypertension. *Acta Physiol. Scand.*, 168:139-147.
37. FURCHGOTT, R. F., 1990, Studies on endothelium dependent vasodilation and the endothelium derived relaxing factor. *Acta Physiol. Scand.*, 139:257-270.
38. TERADA, Y., TOMITA, K., NONOGUCHI, H., and MARUMO, F., 1992, Polymerase chain reaction localization of constitutive nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase messenger RNAs in microdissected rat nephron segments. *J. Clin. Invest.*, 90:665-669.
39. AHN, K. Y., MOHAUPT, M. G., MADSEN, K. M., and KONE, B. C., 1994, In situ hybridization localization of mRNA encoding inducible nitric oxide synthase in rat kidney. *Am. J. Physiol.*, 267:F748-F757.
40. WILCOX, C. S., and WELCH, W. J., 1998, Macula densa nitric oxide synthase: Expression, regulation, and function. *Kidney Int.*, 54 (67): 53-57.

41. BACHMANN, S., BOSSE, H. M., and MUNDEL, P., 1995, Topography of nitric oxide synthesis by localizing constitutive NO synthases in mammalian kidney. *Am. J. Physiol.*, 268:F885-F898.
42. HARALD, H. H., SCHMIDT, W., and WALTER, U., 1994, NO at work. *Cell*, 78:919-925.
43. SNYDER, S. H., and BREDT, D. S., 1992, Biological roles of nitric oxide. *Sci. Am.*, 266:68-71.
44. KATSUYAMA, K., SHICHIRI, M., KATO, H., IMAI, T., MARUMO, F., and HIRATA, Y., 1999, Differential inhibitory actions by glucocorticoid and aspirin on cytokine-induced nitric oxide production in vascular smooth muscle cells. *Endocrinology*, 140(5):2183-2190.
45. McKEE, M., SCAVONE, C., and NATHANSON, J. A., 1994, Nitric oxide, cGMP, and hormone regulation of active sodium transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:12056-12060.
46. TOJO, A., WELCH, W. J., BREMER, V., KIMOTO, M., KIMURA, K., OMATA, M., OGAWA, T., VALLANCE, P., and WILCOX, C. S., 1997, Colocalization of demethylating enzymes and NOS and functional effects of methylarginines in rat kidney. *Kidney Int.*, 52(6):1593-1601.
47. UJIE, K., YUEN, J., HOGARTH, L., DANZIGER, R., and STAR, R. A., 1994, Localization and regulation of endothelial NO synthase mRNA expression in rat kidney. *Am. J. Physiol.*, 267:F296-F302.
48. MUNDEL, P., BACHMANN, S., BADER, M., FISCHER, A., KUMMER, W., MAYER, B., and KRIZ, W., 1992, Expression of nitric oxide synthase in kidney macula densa cells. *Kidney Int.*, 42(4):1017-1019.
49. FURUSU, A., MIYAZAKI, M., ABE, K., TSUKASAKI, S., SHIOSHITA, K., SASAKI, O., MIYAZAKI, K., OZONO, Y., KOJI, T., HARADA, T., SAKAI, H., and KOHNO, S., 1998, Expression of endothelial and inducible nitric oxide synthase in human glomerulonephritis. *Kidney Int.*, 53(6):1760-1768.
50. RAIJ, L., and BAYLIS, C., 1995, Glomerular actions of nitric oxide. *Kidney Int.*, 48(1):20-32.
51. RANDEMSKI, M. W., PALMER, R. M. J., and MONCADA, S., 1987, Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*, 2:1057-1058.
52. FORSTERMANN, U., CLOSS, E. L., POLLOCK, J. S., NAKANE, M., SCHWARZ, P., GATH, I., and KLEINERT, H., 1994, Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*, 23:1121-1131.

53. ITO, S., 1995, Nitric oxide in the kidney. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertension*, 4:23-30.
54. BARAJAS, L., 1979, Anatomy of the juxtaglomerular apparatus. *Am. J. Physiol.*, 237(5):F333-343. Review.
55. TAUGNER, R., BUHRLE, C. P., HACKENTHAL, E., MANNEK, E., and NOBILING, R., 1984, Morphology of the juxtaglomerular apparatus and secretory mechanisms. *Contrib. Nephrol.*, 43:76-101. Review.
56. SKØTT, O., and JENSEN, B. L., 2000, *Cellular and renal control of renin secretion* [online], Odense, Southern Denmark University, <http://www.uninet.edu/cin2000/conferences/oles/oles.html> [Ziyaret tarihi: 25 Aralık 2001].
57. TAUGNER, R., and HACKENTHAL, E., 1989, *The juxtaglomerular apparatus* (online), <http://bio.Hgy.es/cin2000/conferences/OleS/OleS.html> [Ziyaret tarihi: 25 Aralık 2001].
58. GUYTON, A. C., and HALL., 1996, *Textbook of Medical Physiology*. 9. Edition, Merk, Saunders, S:326-327.
59. CALDWELL, P. R., SEEGAL, B. C., HSU, K. C., DAS, M., and SOFFER, R. L., 1976, Angiotensin-converting enzyme: vascular endothelial localization. *Science.*, 12;191(4231):1050-1051.
60. MUSABAYANE, C. T., NDHLOVU, C. E., and BALMENT, R. J., 1995, Renal fluid and electrolyte handling in streptozotocin-diabetic rats. *Ren. Fail.*, 17(2):107-116.
61. TIGERSTEDT, R., and BERGMAN, P. G., 1998, Niere und Kreislauf. *Skand. Arch. Physiol.*, 1898;8:223-271.
62. DELLA BRUNA, R., KURTZ, A., and SCHRICKER, K., 1996, Regulation of renin synthesis in the juxtaglomerular cells. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 5:16-19.
63. HERR, R. R., EBLE, T. E., BERGY, M. E., and JAHNKE, H. K., 1960, Isolation and characterization of streptozotocin. *Antibiotics Annual.*, 7:236-240.
64. TOZZO, E., GNUDI, L., and KAHN, B. B., 1997, Amelioration of insulin resistance in streptozotocin diabetic mice by transgenic overexpression of GLUT4 driven by an adipose-specific promoter. *Endocrinology*, 138(4):1604-1611.
65. WADA, J., and KANWAR, Y. S., 1998, Characterization of mammalian translocase of inner mitochondrial membrane (Tim44) isolated from diabetic newborn mouse kidney. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 6; 95(1):144-149.
66. PAPACCIO, G., ESPOSITO, V., LATRONICO, M. V. G., and OISANTI, A., 1995, Administration of a nitric oxide synthase inhibitor does not suppress low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice. *Int. J. of Pancreatology*, 17(1):63-68.

67. GONZALEZ, C., CUVELLIER, S., HUE-BEAUVAIS, C., and LEVI-STRAUSS, M., 2003, Genetic control of non obese diabetic mice susceptibility to high-dose streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 46(9):1291-1295.
68. LANE, P. H., 2000, 5-thio-d-glucose elevates renal transforming growth factor β -1 at a dose that does not prevent streptozotocin diabetes in rats. *Endocrinology*, 141(9):3337-3342.
69. IMAEDA, A., KANEKO, T., AOKI, T., KONDO, Y., AND NAGASE, H., 2002, DNA damage and the effect of antioxidants in streptozotocin-treated mice. *Ood. Chem. Toxicol.*, 40(7):979-987.
70. HINZ, M., and PFEIFFER, E. F., 1974, The mechanism of streptozotocin action on mouse islets of Langerhans. *Diabetes*, 23(1):373.
71. SCHNEIDER, E., WOHLRAB, F., and COSSEL, L., 1984, Morphologic-histochemical characterization of inflammatory cells in insulinitis induced by multiple subdiabetogenic doses of streptozotocin in C57B1/KsJ mice. *Biomed. Biochim. Acta*, 43:683.
72. PAIK, G., BLUE, M. L., FLEISCHER, N, and SHIN, S., 1982, Diabetes susceptibility of BALB/cBOM mice treated with streptozotocin. Inhibition by lethal irradiation and restoration by splenic lymphocytes. *Diabetes*, 31(9):808-815.
73. DUHAULT, J., BURE, J., and BOULANGER, M., 1979. T cell dependency of streptozotocin induced diabetes. *Diabetes*, 28:379.
74. NAJI, A., SILVERS, W. K., BELLGRAU, D., ANDERSON, A. O., PLOTKIN, S., and BARKER, C. F., 1981, Prevention of diabetes in rats by bone marrow transplantation. *Ann. Surg.*, 194(3):328-338.
75. MANDRUP-POULSEN, T., HELQVIST, S., and MOLVIG, J., 1989, Cytokines as immune effector molecules in autoimmune endocrine diseases with special reference to insulin-dependent diabetes mellitus. *Autoimmunity*, 4: 191-218.
76. ÇELİK, S., and BAL, R., 2002. Köpek ve kedilerde diabetes mellitus: Böbrek fonksiyon bozuklukları ve idrar taşı oluşumu ile ilişkisi. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 21:43-48.
77. MAUER, S., STEFFES, M., ELLIS, E., SUTHERLAND, D., BROWN, D., and GOETZ, F., 1984, Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J. Clin. Invest.*, 74:1143-1155.
78. HOSTETTER, T. H., TROY, J. L., and BRENDER, B. M., 1981, Glomerular hemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int.*, 19:410-415.
79. LANE, P. H., STEFFES, M. W., FIORETTO, P., and MAUER, S. M., 1993, Renal interstitial expansion in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.*, 43:661-667.

80. FERRIS, S. A., 1964, Hepatic glucokinase activity in human diabetes and nondiabetes. *Metabolism*, 13:1478.
81. WOLF, G., and ZIYADEH, F. N., 1999, Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int.*, 56:393-405.
82. ROSSERT, J., TERRAZ-DURASNEL, C., and BRIDEAU, G., 2000, Growth factors, cytokines, and renal fibrosis during the course of diabetic nephropathy. *Diabetes Metab.*, 4:16-24.
83. BORDER, W. A., and NOBLE, N. A., 1994, Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N. Engl. J. Med.*, 331:1286-1292.
84. SHARMA, K., JIN, Y., GUO, J., and ZIYADEH, F. N., 1996, Neutralization of TGF-beta by anti-TGF-beta antibody attenuates kidney hypertrophy and the enhanced extracellular matrix gene expression in STZ-induced diabetic mice. *Diabetes*, 45:522-530.
85. THROCKMORTON, D. C., BRODGEN, A. P., MIN, B., RASMUSSEN, H., and KASHGARIAN, M., 1995, PDGF and TGF-beta mediate collagen production by mesangial cells exposed to advanced glycosylation end products. *Kidney Int.*, 48:111-117.
86. MOGENSEN, C. E., 1984, Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 9; 310(6):356-360.
87. RAVID, M., BROSH, D., LEVI, Z., BAR-DAYAN, Y., RAVID, D., and RACHMANI, R., 1998, Use of enalapril to attenuate decline in renal function in normotensive, normoalbuminuric patients with type 2 diabetes mellitus. A randomized, controlled trial. *Ann. Int. Med.*, 128:982-988.
88. DE VRIESE, A. S., STOENOIU, M. S., ELGER, M., DEVUYST, O., VANHOLDER, R., KRIZ, W., and LAMEIRE, N. H., 2001, Diabetes-induced microvascular dysfunction in the hydronephrotic kidney: role of nitric oxide. *Kidney Int.*, 60(1):202-210.
89. STEVENS, R. B., SUTHERLAND, D. E., ANSITE, J. D., SAXENA, M., ROSSINI, T. J., LEVAY-YOUNG, B. K., HERING, B. J., and MILLS, C. D., 1997, Insulin down-regulates the inducible nitric oxide synthase pathway: nitric oxide as cause and effect of diabetes? *J. Immunol.*, 1;159(112):5329-5335.
90. ITO, A., URIU, K., INADA, Y., QIE, Y. L., TAKAGI, I., IKEDA, M., HASHIMOTO, O., SUZUKA, K., ETO, S., TANAKA, Y., and KAIZU, K., 2001, Inhibition of neuronal nitric oxide synthase ameliorates renal hyperfiltration in streptozotocin-induced diabetic rat. *J. Lab. Clin. Med.*, 138:177-185.
91. CATANZARO, O. L., MARINA-PRENDES, M. G., HOPE, S. I., ZUCCOLLO, A., and DOMINGUEZ, A., 1994, Streptozotocin-induced hyperglycemia is decreased by nitric oxide inhibition. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 27(8):2043-2047.

92. SOULIS, T., SASTRA, S., THALLAS, V., MORTENSEN, S. B., WILKEN, M., CLAUSEN, J. T., BJERRUM, O. J., PETERSEN, H., LAU, J., JERUMS, G., BOEL, E., and COOPER, M. E., 1999, A novel inhibitor of advanced glycation end-product formation inhibits mesenteric vascular hypertrophy in experimental diabetes. *Diabetologia*, 42(4):472-479.
93. KERN, T. S., and ENGERMAN, R. L., 2001. Pharmacological inhibition of diabetic retinopathy: aminoguanidine and aspirin. *Diabetes*, 50(7):1636-1642.
94. ELLIS, E. N., and GOOD, B. H., 1991, Prevention of glomerular basement membrane thickening by aminoguanidine in experimental diabetes mellitus. *Metabolism*, 40(10):1016-1019.
95. OTURAI, P. S., RASCH, R., HASSELAGER, E., JOHANSEN, P. B., YOKOYAMA, H., THOMSEN, M. K., MYRUP, B., KOFOED-ENEVOLDSEN, A., and DECKERT, T., 1996, Effects of heparin and aminoguanidine on glomerular basement membrane thickening in diabetic rats. *APMIS*, 104:259-264.
96. BROWN, G. C., 1999, Nitric oxide and mitochondrial respiration. *Biochim. Biophys. Acta*, 5;1411(2-3):351-369.
97. HEIDLAND, A., SEBEKOVA, K., and SCHINZEL, R., 2001, Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *Am. J. Kidney Dis.*, 38(1):100-106.
98. PITCOCK, J. A., and HARTROFT, P. M., 1958, The juxtaglomerular cells in man and their relationship to the level of plasma sodium and to the zona glomerulosa of the adrenal cortex. *Am. J. Path.*, 34(5):863-864.
99. HOPE, B. T., MICHEAL, G. J., KNIGGE, K. M., and VINCENT, S. R., 1991, Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:2811-2814.
100. WATSON, M. L., 1958, Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4:475-478.
101. REYNOLDS, E. S., 1963, The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 17:208-212.
102. ORTIZ, P. A., and GARVIN, J. L., 2002, Role of nitric oxide in the regulation of nephron transport. *Am. J. Physiol.*, 282(5):F777-784.
103. LIANG, M., and KNOX, F. G., 2000, Production and functional roles of nitric oxide in the proximal tubule. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 278(5):R1117-1124.
104. ROCZNIAK, A., and BURNS, K. D., 1996, Nitric oxide stimulates guanylate cyclase and regulates sodium transport in rabbit proximal tubule. *Am. J. Physiol. Renal Fluid Electrolyte Physiol.*, 270:F106-F115.

105. GANDA, O. P., ROSSI, A., and LIKE, A. A., 1976, Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes*, 25:595-603.
106. KATSUMATA, K., KATSUMATA, K. Jr., and KATSUMATA, Y., 1992, Protective effect of diltiazem hydrochloride on the occurrence of alloxan-or-streptozotocin-induced diabetes in rats. *Horm. Metab. Res.*, 24:508-510.
107. WEST, E., SIMON, O. R., and MORRISON, E. Y., 1996, Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats. *West Indian Med. J.*, 45:60-62.
108. BEDOYA, F. J., SOLANO, F., and LUCAS, M., 1996, N-monomethyl-arginine and nicotinamide prevent streptozotocin-induced double strand DNA break formation in pancreatic rat islets. *Experientia*, 52:344-347.
109. BOLAFFI, J. L., NAGAMATSU, S., HARRIS, J., and GRODSKY, G. M., 1987, Protection by thymidine, an inhibitor of polyadenosine diphosphate ribosylation, of streptozotocin inhibition of insulin secretion. *Endocrinology*, 120:2117-2122.
110. NUKATSUKA, M., YOSHIMURA, Y., NISHIDA, M., and KAWADA, J., 1990b, Importance of the concentration of ATP in rat pancreatic beta cells in the mechanism of streptozotocin-induced cytotoxicity. *J. Endocrin.*, 127:161-165.
111. SCHNEDL, W. J., FERBER, S., JOHNSON, J. H., and NEWGARD, C. B., 1994, STZ transport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Diabetes*, 43:1326-1333.
112. THULESEN, J., ORSKOV, C., HOLST, J. J., and POULSEN, S. S., 1997, Short-term insulin treatment prevents the diabetogenic action of streptozotocin in rats. *Endocrinology*, 138:62-68.
113. KRÖNCKE, K. D., FEHSEL, K., SOMMER, A., RODRIGUEZ, M. L., and KOLB-BACHOFEN, V., 1995, Nitric oxide generation during cellular metabolism of the diabetogenic N-methyl-N-nitroso urea streptozotocin contributes to islet cell DNA damage. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 376:179-185.
114. MORGAN, N. G., CABLE, H. C., NEWCOMBE, N. R., and WILLIAMS, G. T., 1994, Treatment of cultured pancreatic B-cells with streptozotocin induces cell death by apoptosis. *Biosci. Rep.*, 14:243-250.
115. TURK, J., CORBETT, J. A., RAMANADHAM, S., BOHRER, A., and McDANIEL, M. L., 1993, Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 197:1458-1464.
116. SUGIMOTO, H., SHIKATA, K., WADA, J., HORIUCHI, S., and MAKINO, H., 1999, Advanced glycation end products-cytokine-nitric oxide sequence pathway in the development of diabetic nephropathy: aminoguanidine ameliorates the overexpression

of tumour necrosis factor-alpha and inducible nitric oxide synthase in diabetic rat glomeruli. *Diabetologia*, 42(7):878-886.

117. IGNARRO, L. J., 1996, Physiology and pathophysiology of nitric oxide. *Kidney Int. Suppl.*, 55:S2-5.

118. VEELKEN, R., HILGERS, K. F., HARTNER, A., HAAS, A., BÖHMER, K. P., and STERZEL, B., 2000, Nitric oxide synthase isoforms and glomerular hyperfiltration in early diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 11:71-79.

119. REDDY, S., KAILL, S., POOLE, C. A., and ROSS, J., 1997, Inducible nitric oxide synthase in pancreatic islets of the non-obese diabetic mouse: a light and confocal microscopical study of its ontogeny, co-localization and up-regulation following cytokine administration. *Histochemical Journal*, 29: 53-64.

120. MELIN, J., HELLBERG, O., AKÜYREK, M. L., KALLSKOG, Ö., LARSSON, E., and FELLSTRÖM, B., 1997, Ischemia causes rapidly progressive nephropathy in the diabetic rat. *Kidney Int.*, 52:985-991.

121. LING, H., GENGARO, P. E., EDELSTEIN, C. L., MARTIN, P. Y., WANGSIRIPAIAN, A., NEMENOFF, R., SCHRIER, R. W., 1998, Effect of hypoxia on proximal tubules isolated from nitric oxide synthase knockout mice. *Kidney Int.*, 53(6):1642-1646.

122. SAYAR, S. B., and DEMİRCİ, C., 2002, Mucus production of iNOS deficient mouse intestinal cells in endotoxemia (Abstracts of the 3rd International mouse symposium). *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 29(8): A91.

123. MICANS, P., 1998, *Aminoguanidine: AGE inhibitor* [online]. Britain, <http://smart-drugs.net/ias-aminoguanidine>: URL [10 Ekim 2002].

124. WAGNER, C., JENSEN, B. L., KRAMER, B. K., and KURTZ, A., 1998, Control of the renin system by local factors. *Kidney Int., Suppl.*, 67:S78-83.

125. BUCHER, M., ITTNER, K. P., HOBHHAHN, J., TAEGER, K., and KURTZ, A., 2001, Downregulation of angiotensin II type 1 receptors during sepsis. *Hypertension*, 38(2):177-182.

126. KANDİL, A., 2002, *Lipopolisakkarid uygulanan albino farelerin (Balb/c) böbreklerdeki nitrik oksit sentaz aktivitesi ile jukstaglomerular aygıt arasındaki ilişki*, Tez (Y. L.), İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.

127. KURTZ, A., and WAGNER, C., 1998, Role of nitric oxide in the control of renin secretion. *Am. J. Physiol.*, 275(6 Pt 2):F849-862.

128. THORUP, C., ERIK, A., AND PERSSON, G., 1996, Macula densa derived nitric oxide in regulation of glomerular capillary pressure. *Kidney Int.*, 49:430-436.

129. ITO, S., CARRETERO, O. A., AND ABE, K., 1996, Nitric oxide in the juxtaglomerular apparatus. *Kidney Int. Suppl.*, 55:S6-8.
130. GREENBERG, S. G., HE, X. R., SCHNERMANN, J. B., and BRIGGS, J. P., 1995, Effect of nitric oxide on renin secretion. I. Studies in isolated juxtaglomerular granular cells. *Am. J. Physiol.*, 268(5 Pt 2):F948-952.
131. HE, X. R., GREENBERG, S. G., BRIGGS, J. P., and SCHNERMANN, J. B., 1995, Effect of nitric oxide on renin secretion. II. Studies in the perfused juxtaglomerular apparatus. *Am. J. Physiol.*, 268 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 37):F953-959.
132. BOSSE, H. M., BOHM, R., RESCH, S., and BACHMANN, S., 1995, Parallel regulation of constitutive NO synthase and renin at JGA of rat kidney under various stimuli. *Am. J. Physiol.*, 269(6 Pt 2):F:793-805.
133. KURTZ, A., GOTZ, K. H., HAMANN, M., KIENINGER, M., and WAGNER, C., 1998, Stimulation of renin secretion by NO donors is related to the cAMP pathway. *Am. J. Physiol.*, 274(4 Pt 2):F:709-717.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Ebru GÜREL

Uyruğu: T.C.

Doğum Yeri ve Tarihi: Edirne, 12.05.1978

Medeni Durumu: Bekar

Mesleği: Biyolog

Eğitim Durumu:

Yüksek Lisans: (Eylül 2001-.....) İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Üniversite: 2001, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (Fen Fakültesi Birinciliği ile Mezuniyet)

Lise: 1996, Edirne Anadolu Öğretmen Lisesi

Ortaokul: 1992, Edirne Atatürk Ortaokulu (Birincilik ile Mezuniyet)

İlkokul: 1989, Edirne Kurtuluş İlkokulu

Adresi :

İş adresi: İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı, 34459 Vezneciler-İstanbul

Tel: 0212 455 57 00/15081

Fax: 0212 528 05 27 (Bölüm)

Ev adresi: Öğretmenler Sokak, Yeşil Yuvam Sitesi 2, A /131 Blok, Papatya Apt. No:20 D:18 Kozyatağı/İSTANBUL

e-posta: ebrugurel@email.com

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim ve Öğretimde Aldığı Görevler:

Araştırma görevlisi olarak, lisans öğrencilerine verilmekte olan Genel Biyoloji, Genel Zooloji, Histoloji ve Hayvan Fizyolojisi derslerinin laboratuvarlarında görev almaktayım.

Katıldığı Kurslar

“21. Yüzyılın Bilimi Biyoloji’deki Son Gelişmeler III (Evrin), 24-25 Eylül 2001, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü-İSTANBUL

“Deney Hayvanı Kullanımı ve Etik Yaklaşım”, 24 Ekim 2002, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarı-İSTANBUL

Katıldığı Kongreler

UYANER, İ., ATUKEREN, P., HÜRDAĞ, C., GÜREL, E., UTKUSAVAŞ, A., Alfa Lipoik Asit’ in Streptozotosin İle Diyabet Oluşturulmuş Sıçanların Akciğerlerinde Nitrik Oksit Sentaz (NOS) Dağılımı Üzerine Etkisi. 28 Nisan-01 Mayıs 2004, Belek-ANTALYA, Toraks 7. Yıllık Kongresi Özet Kitabı, S:102.

GÜREL, E., DEMİRCİ, C., Böbrek Dokusundaki Nitrik Oksit İle Renin Ve Glikokaliks Arasındaki İlişki. 01-05 Eylül 2003, GATA-ANKARA, Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 29. Ulusal Fizyoloji Kongresi Özet Kitapçığı, S: 86.

GÜREL, E., KANDİL, A., KAPTAN, E., DEMİRCİ, C., Bağırsaktaki Nitrik Oksit' in Mitotik Aktivitedeki Ve Mukus Üretimindeki Rolü. 01-05 Eylül 2003, GATA-ANKARA, Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 29. Ulusal Fizyoloji Kongresi Özet Kitapçığı, S: 87.

GÜREL, E., GÜNEBAKAN, S., KOLUSAYIN-OZAR, M. Ö., UTKUSAVAŞ, A., ORTA, T., Mikronükleus Tekniğinin Sigara Tüketen Bireylerdeki Akciğer Kanserine Yakalanma Olasılığını Tespit Etmedeki Gücü. 23-27 Nisan 2003, Kemer-ANTALYA, XV. Ulusal Kanser Kongresi Program ve Bildiri Özet Kitabı, S:189.

Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, 28. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 24-27 Eylül 2002, İZMİR.

XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi, 04-07 Eylül 2002, MALATYA.

VII. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 04-06 Ekim 2000, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Öğrenci Biyolojik Araştırmalar Laboratuvarı (BAL) Kulübü-İSTANBUL.

VI. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 28-30 Eylül 1999, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Öğrenci Biyolojik Araştırmalar Laboratuvarı (BAL) Kulübü-İSTANBUL.

V. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 30 Eylül-02 Ekim 1998, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Öğrenci Biyolojik Araştırmalar Laboratuvarı (BAL) Kulübü-İSTANBUL.