

T.C

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KURKUMİN UYGULANAN DİYABETİK RATLARIN AKCİĞER
DOKUSUNDA KATALAZ LOKALİZASYONUNUN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Sadettin EKİNCİ

Danışman

Doç. Dr. Serap KORAL TAŞCI

HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARS-2019

T. C
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KURKUMİN UYGULANAN DİYABETİK RATLARIN AKCİĞER
DOKUSUNDA KATALAZ LOKALİZASYONUNUN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

Sadettin EKİNCİ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Doç. Dr. Serap KORAL TAŞÇI

HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARS-2019

T.C
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Tez Programı çerçevesinde Sadettin EKİNCİ tarafından hazırlanmış olan “**Kurkumin Uygulanan Diyabetik Ratların Akciğer Dokusunda Katalaz Lokalizasyonunun İmmünohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmenliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21/06/2019

Adı Soyadı:

Başkan: Prof. Dr. Şahin ASLAN

Üye: Prof. Dr. Elif İlkay ARMUTAK

Üye: Doç. Dr. Serap KORAL TAŞÇI

İmza

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	iii
TABLOLAR DİZİNİ.....	v
RESİMLER DİZİNİ.....	vi
ÖNSÖZ.....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Diyabetes Mellitus	3
2.2. Streptozotosin (STZ)	6
2.3. Akciğer	7
2.3.1. Akciğer Embriyolojisi	7
2.3.2. Akciğer Histolojisi	8
2.4. Kurkumin (Turmeric).....	9
2.5. Katalaz.....	10
2.6. Diyabette Akciğerin Kurkumin ve Antioksidanlarla İlişkisi	11
3. MATERYAL ve METOT.....	13
3.1. Deney Hayvanı Materyalinin Temini ve Barındırılması	13
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	13
3.3. Streptozosin ile Diyabet Oluşturulması.....	14
3.4. Kurkumin Uygulaması.....	15
3.5. Ağırlık Ölçümlerinin Yapılması.....	15
3.6. Kan Şekeri Seviyesinin Belirlenmesi	15

3.7. Doku Örneklerinin Alınması.....	15
3.8. Histolojik İncelemeler İçin Doku Hazırlanması	16
3.9. İmmünohistokimyasal Metod.....	16
3.10. İstatistiksel Yöntemler	17
4. BULGULAR.....	18
4.1. İstatistiksel Bulgular	18
4.1.1. Ratların Canlı Ağırlıklarının Günlere Göre İstatistiksel Değerlendirilmesi	18
4.1.2. Ratların Akciğer Ağırlıklarının İstatistiksel Değerlendirilmesi	19
4.2. Histolojik Bulgular	19
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	26
5. TARTIŞMA.....	34
5.1. Deneysel Diyabet Oluşturulması	34
5.2. Canlı Ağırlığın Değerlendirilmesi	35
5.3. Histolojik Değerlendirme.....	35
5.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	37
5.5. Kurkumin - Katalaz İlişkisinin Değerlendirilmesi.....	38
6. SONUÇ.....	40
7. KAYNAKLAR.....	41
8. ÖZGEÇMİŞ.....	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABC: Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleks

BALT: Bronchus Associated Lymphoid Tissue

DAB: Diaminobenzidin

DM: Diyabetes Mellitus

GDM: Gestasyonel Diyabetes Mellitus

GnRH: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon

GSH: Glutasyon

H&E: Hematoksilen ve Eozin

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu

i.p. : İntraperitoneal

İNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

M: Molarite

MDA: Metan Dikarboksilik Aldehit

mg: Miligram

ml: Mililitre

MnSOD: Manganez SOD

mRNA: Mesajcı RNA

MPO: Myeloperoksidaz

NF-κB: Nükleer faktör kappa-B

OH: Hidroksil

PAS: Periyodik Asit Schiff

PBS: Fosfat Buffer Salin

SD: Standart Sapma

SOD: Superoksit Dismutaz

STZ: Streptozosin

µm: Mikrometre



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Deney grupları ve Yapılan Uygulamalar.....	13
Tablo 2. Katalaz İmmünreaktivitesini Derecelendirme.....	17
Tablo 3. Ratların Canlı Ağırlıklarının Günlere Göre İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	18
Tablo 4. Ratların Akciğer Ağırlıklarının İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	19
Tablo 5. Katalaz İmmünoreaktivitesi Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	33

RESİMLER DİZİNİ**Sayfa No**

Resim 1: Kontrol grubu akciğer dokusunun genel histolojik görünümü. Triple boyama.....	20
Resim 2: Kontrol grubu akciğer dokusunun genel histolojik görünümü. Triple boyama.....	20
Resim 3: Kontrol grubu akciğer dokusunun genel histolojik görünümü. Triple boyama.	21
Resim 4: Sham grubu akciğer dokusunun histolojik görünümü. Triple boyama.	22
Resim 5: Sham grubu akciğer dokusunun histolojik görünümü. Triple boyama.	22
Resim 6: Diyabet grubu akciğer dokusunun histolojik görünümü. Triple boyama.	23
Resim 7: Diyabet grubu akciğer dokusunun genel histolojik görünümü. Triple boyama.....	24
Resim 8: Diyabet grubu akciğer dokusunun histolojik görünümü. Triple boyama.	24
Resim 9: Diyabet+Kurkumin grubu akciğer dokusunun histolojik görünümü. Triple boyama.....	25
Resim 10: Diyabet+Kurkumin grubu akciğer dokusunun histolojik görünümü. Triple boyama.....	26
Resim 11: Kontrol grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi.....	27

Resim 12: Kontrol grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi.....	28
Resim 13: Sham grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi.	28
Resim 14: Sham grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi.	29
Resim 15: Sham grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi.	29
Resim 16: Diyabet grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi.	30
Resim 17: Diyabet grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi.	30
Resim 18: Diyabet+Kurkumin grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi.	31
Resim 19: Diyabet+Kurkumin grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi.	31
Resim 20: Diyabet+Kurkumin grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi.	32
Resim 21: Negatif kontrol.....	32

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın amacı kurkumin uygulanan diyabetik ratların akciğer dokusunda katalaz lokalizasyonunun immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmesidir.

Yüksek Lisans eğitimim sürecinde, eğitimime büyük katkıları olan başta tez danışmanım Doç. Dr. Serap KORAL TAŞÇI olmak üzere, eğitimim ve araştırmam süresince benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Şahin ASLAN'a, Doç. Dr. Turgay DEPREM'e, Doç. Dr. Seyit Ali BİNGÖL'e ve Doç. Dr. Sevda ELİŞ YILDIZ'a istatistik çalışmalarındaki katkılarından dolayı Öğretim Görevlisi Tuncer YILMAZ'a, her zaman olduğu gibi yüksek lisans eğitimim süresince de desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme ve son olarak tez dönemim boyunca bana destek olan Serap İLHAN'a, Ayşe AYDOĞAN'a, Çağla ÖZSOY'a, Arş. Gör. Berna AKTAŞ'a sevgili eşim Aybuke EKİNCİ' ye teşekkür ederim.

ÖZET

Bu çalışma, kurkumin uygulanan diyabetik ratların akciğer dokusunda katalaz lokalizasyonunun immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmesi amacıyla yapıldı. Çalışma için deney hayvanı olarak 24 adet Spraque Dawley türü erkek sıçan kullanıldı. Deney grupları; Kontrol, Sham, Diyabet ve Diyabet+Kirkumin gruplarından oluşturuldu. Diyabet ve Diyabet+Kirkumin gruplarına i.p. yolla STZ enjeksiyonu yapılarak diyabet oluşturuldu. Sitrat tamponu (0.1 M, pH: 4.5) içerisinde çözdürülen STZ, 50 mg/kg dozda tek seferde uygulandı. Ardından Diyabet+Kirkumin grubuna 100 mg/kg dozda kurkumin uygulandı. Sham grubuna, serum fizyolojik ve ethanol i.p. olarak uygulandı. Kontrol grubuna hiçbir deneysel uygulama yapılmadı. Kirkumin uygulamasına 21 gün boyunca devam edildi. Deney sürecinin bitiminde, eter anestezi altında servikal dislokasyon yapılarak ratların akciğer dokuları alındı. Alınan akciğer dokuları rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafinde bloklanıp kesitler alındı. Alınan kesitlere, histolojik olarak incelenmek üzere Crossman'ın üçlü boyama uygulaması yapıldı. Katalaz'ın immünoaktivitesini tespit etmek için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleks (ABC) yöntemi uygulandı.

Histolojik incelemelerde, akciğer dokusunda bronş, bronşçuk ve alveollerin bulunduğu görüldü. Sadece diyabet grubunda, bu yapıların epitel katmanlarında yer yer dejenerasyonların olduğu tespit edildi. Alveolleri oluşturan pnömosit I ve pnömosit II'lerin hücresel görünümünde tüm gruplarda belirgin bir bozukluğa rastlanmadı. Katalaz immünoaktivitesinin lokalizasyonu ve yoğunluğu incelendiğinde, tüm gruplarda en fazla tip I pnömositlerde, alveolar makrofajda son olarak ise tip II pnömositlerde görüldüğü tespit edildi. Clara ve endotel hücrelerinde ise genel olarak immünoaktivite görülmedi.

Sonuç olarak; kurkuminin diyabetten kaynaklanan akciğer hasarını azalttığı görüldü. Bir antioksidan olan katalazın immünoaktivitesinin diyabetli grupta azaldığı, ancak kurkumin verilen diyabetli ratlarda kontrol grubuna benzer şekilde arttığı görüldü.

Anahtar Sözcükler: Akciğer, Kirkumin, Diyabet, İmmünohistokimya ve Katalaz

SUMMARY

This study, diabetic rats treated with curcumin were conducted to investigate the effect on catalase localization in lung tissue with immunohistochemical methods. For the study, 24 male Sprague Dawley rats were used as experimental animals. Experimental groups; Control, Sham, Diabetes and Diabetes+Curcumin groups were performed. Diabetes and Diabetes+ Curcumin groups were performed diabetes by i.p. STZ injection. STZ dissolved in 0.1 M citrate buffer, pH 4.5, was administered in a single dose of 50 mg/kg. Then, curcumin was administered to the Diabetes+Curcumin group at a dose of 100 mg/kg. Sham group was treated as saline and ethanol i.p. The control group didn't receive any experimental applications. Curcumin application was continued for 21 days. At the end of the assay procedure, lung tissues of the rats were taken by cervical dislocation under ether anesthesia. Chosen lung tissues were subjected to routine histological procedures, and sections were accompanied by blocking with paraffin. Triple staining application of Hematoxylin-Eosin and Crosmann were applied to examine histologically taken parts. Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) method was used to determine the immunoreactivity of catalase.

On histologic examination, bronchus, bronchus, and alveoli, which are the basic structures of the tissue were discovered. Only the diabetic group, some degenerations were found in the epithelial layers of these structures. The cellular appearance of the pneumocytes I and pneumocytes II forming alveoli wasn't evidence of significant impairment in all groups. The maximum intensity of immunoreactivity was observed in type I pneumocytes and it was found that alveolar macrophage was seen the most common type II pneumocytes. Generally, immunoreactivity wasn't observed in Clara and endothelial cells.

Consequently; curcumin has been shown to reduce lung damage caused by diabetes. Immunoreactivity of catalase that is an antioxidant decreased in the diabetic group, but the diabetic rats given curcumin increased similarly to the control group.

Keywords: Lung, Curcumin, Diabetes, Immunohistochemistry and Catalase.

1. GİRİŞ

Diyabetes Mellitus (DM); insülin salgılanmasında ya da aktivitesinde, bazende her iki fonksiyonda birden etki mekanizmasının bozulması veya azalması sonucu oluşan hiperglisemi ile karakterize bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Akdemir ve Birol 2005, Buğdacı 2008). Hiperglisemi özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları gibi farklı organlarda uzun vadede hasar ve işlev bozukluklarına neden olarak yaşam kalitesini düşürmekte ve sağlık harcamalarının artmasına neden olmaktadır (American Diabetes Association 2013, Khan ve ark. 2019).

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre DM'nindünya çapında prevalansı 2015 yılında % 8.8'dir. Bu oran 2040 yılında % 10.4'e ulaşarak dünya çapında 642 milyon kişiyi etkileyeceği düşünülmektedir. Ülkemiz için ise 2017'de % 12.8 olan DM prevalansının 2045 yılında % 16.5'e yükseleceği tahmin edilmektedir (Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) Diyabet Atlası, <https://reports.instantatlas.com/report/view/704ee0e6475b4af885051bcec15f0e2c/TUR>, <http://www.diabetcemiyeti.org/c/diyabet-istatistikleri>, Erişim Tarihi: 31.05.2019).

Curcuma longa (zerdeçal) bitkisinin, rizomlarından alınan ve doğal bir polifenolözelliği taşıyan kurkumin; antiinflamatuvar, antikanserojen, antioksidan etkilerine sahiptir (Dance Barnes ve ark. 2009, Sun ve ark. 2009, Mirzaei ve ark. 2016, Pulido Moran ve ark. 2016). Ayrıca kurkumin, çoklu sinyal moleküllerini hedef alıp, çoklu yarar sağlamak amacıyla hücresele düzeyde etki gösterir (Hewlings ve Kalman 2017). Kurkuminin; anoreksia, diyabet, sinüzit, safra, metabolik sendrom, romatizma, alzheimer ve karaciğer hastalıklarına karşı güçlü bir ajan olduğu da belirlenmiştir (Zhang ve ark. 2013, Pulido Moran ve ark. 2016, Hewlings ve Kalman 2017).

Katalaz; hidrojen peroksiti (H_2O_2) su ve oksijene bozma kabiliyeti ile bilinen, tekstil, biyosensör sistemleri gibi endüstrinin birçok alanında kullanılan bir redoks enzimidir (Demirbaş ve Nas 2016). Diyabet, dislipidemi, ateroskleroz gibi oksidatif

strese bağlı hastalıklarda katalaz aktivitesinin azalma gösterdiği bilinmektedir (Oh ve ark. 2007).

Bu çalışmada; kurkumin uygulanmış diyabetik ratların akciğer dokusunun histolojik yapısının incelenmesi ve katalaz lokalizasyonunun immünohistokimyasal yöntemlerle belirlenmesi hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetes Mellitus

Yunanca “akıp gitmek” anlamındaki diyabetes ve “bal kadar tatlı” anlamını taşıyan mellitus sözcüğünden türetilen DM'nin tarihi antik çağlara dayanmaktadır (Malek 2010, Koç 2016). Diyabet kelimesi ilk olarak milattan sonra 2. yüzyılda Kapadokya'da Aretaeus tarafından kullanılmış, Aretaeus diyabeti aşırı idrar yapma, aşırı susama ve kilo kaybetme bulgularıyla karakterize etmiştir (Koç 2016). 5. yüzyılda ünlü Hint Doktor Sushruta; Samhita ismini verdiği kitabında bal benzeri idrar tanımını ifade ederek idrarın sadece tadının değil aynı zamanda kıvamının da yapışkan şeklinde olduğunu belirtmiştir (Karamanou ve ark. 2016). Sushruta ayrıca diyabetin pirinç, tahıl gevrekler ve tatlılar gibi gıdaların aşırı tüketimiyle ilgili olduğunu ifade etmiştir (Karamanou ve ark. 2016). Ayrıca 1674'te Londralı Doktor Thomas Willis diyabet hastaların idrarının tadına bakarak idrarların şekerli olduğunu tespit etmiştir (Lakhtakia 2013).

1886 yılında von Mering, bir glukozit olan florizinin geçici glikoz üriye neden olabileceğini keşfetmiş, 1889 yılında ise Minkowski köpekler üzerinde yaptığı çalışmasında pankreatektomi operasyonu yapılan köpeklerde DM'nin geliştiğini tespit etmiştir (Karamanou ve ark. 2016). Best ve Banting 1922 yılında köpek pankreasından parça alıp bunu pankreası alınan köpeğe uygulayarak kan glikoz seviyesinde iki saat içinde önemli düşüşler deneyimlemişlerdir (Karamanou ve ark. 2016).

DM; insülinin yetersiz salınımının veya etkisinin yetersiz olması sonucunda plazmada yüksek glikoz seviyeleri ile devam eden kronik metabolik bir hastalıktır (Buğdacı 2008, Khan ve ark. 2019). Amerikan Diyabet Derneği tarafından, açlık kan glikoz düzeyinin 100 mg / dl - 125 mg/ dl aralığında normal olduğu kabul edilmekte, 126 mg/dl ve üzerinde olması ve 2-3 aylık kan glikoz seviyesini gösteren HbA1c'nin 6.5 üzeri olması durumunda ise DM tanısı konulmaktadır (American Diabetes Association 2013).

DM kişiyi sağlık komplikasyonlarına daha yatkın hale getirerek yaşam kalitesini düşürmekte ve sağlık harcamalarının artmasına neden olmaktadır (Khan ve ark. 2019). DM yaygınlığı son 20 yılda şiddetli bir şekilde artış göstermiştir. 2030 yılına kadar DM'den etkilenenlerin sayısının yaklaşık 400 milyon kişiyi aşacağı ve en büyük ölüm nedenlerinden yedincisi olacağı tahmin edilmektedir (Sánchez ve ark. 2019). Türkiye'de 1998–1999 yıllarında yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması (TURDEP- I)'nın ilkinde diyabet prevalansı % 7.7 olarak tespit edilmiş, bu oranın 2010 yılında gerçekleştirilen TURDEP II çalışmasında ise %13.7'ye ulaştığı bildirilmiştir (Satman ve ark. 2013).

DM'nin patofizyolojisi incelendiğinde, çeşitli süreçlerle karşılaşılmaktadır. Bunlar, pankreastaki beta hücrelerinin otoimmün yıkımı sonucu oluşan insülin eksikliği ve insülin etkisine direnç ile sonuçlanan anormalliklerdir (American Diabetes Association 2013).

2.1.1. Diyabetes Mellitus'un Sınıflandırılması

DM'nin yaygın olarak kabul gören ilk sınıflandırması, Amerikan Ulusal Diyabet Veri Grubu tarafından 1979 yılında yapılmış ve Dünya Sağlık Örgütü'nün sınıflandırmasının temeli oluşturmuştur (Malek 2010). DM'nin sınıflandırılması önceden tedavi ve patogeneze göre yapılmış olsa da yeni sınıflandırma diyabetin etiolojisine göre yapılmış ve DM dört ana gruba ayrılmıştır. Bunlar; tip-1, tip-2, gestasyonel diyabetes mellitus ve diğer spesifik DM türleridir (Akdemir ve Birol 2005, Adinortey 2017).

2.1.1.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus

Önceleri 'insüline bağımlı diyabet' ya da 'çocuklukta başlayan diyabet' şeklinde adlandırılan tip 1 diyabetes mellitusta pankreastaki beta hücreleri genetik, çevresel ve otoimmün nedenlere bağlı olarak yıkıma uğrar ve insülin hormonu ya hiç üretilmez ya da çok az üretilir. Bunun sonucunda da hiperglisemi gelişir (Akdemir ve Birol 2005, Buğdacı 2008, Köseoğlu 2015, Katsarou ve ark. 2017). Tip 1 DM genellikle çocukluk veya ergenlik döneminde başlamasına rağmen, semptomlar bazen daha sonra da gelişebilir (Katsarou ve ark. 2017). Geçmişten günümüze en çok sanayileşmiş ülkelerde artış gösteren Tip 1 DM dünya çapında salgın boyutlara ulaşarak tüm DM vakalarının %10-15'ini temsil eder hale

gelmiştir (Knip ve Siljander 2016, Pociot ve Lernmark 2016). Yaygınlık oranlarının bu denli artış göstermesi yalnız genetik faktörlerle değil humoral- hücrel bağışıklık, viral enfeksiyonlar, beslenme ve yaşam tarzındaki değişikliklerle de ilgili olduğu bildirilmektedir (Zaccardi ve ark. 2015, Knip ve Siljander 2016). Genetik yatkınlığı olan bireylerde membran antijenlerinden oluşan insan lökosit antijeni (HLA)- D3 ve (HLA)- D4'ün önemli etken olduğu düşünülmektedir (Akdemir ve Birol 2005, Katsarou ve ark. 2017). Tüm bu etiyolojik faktörler beta hücrelerini harabiyete uğratarak, glikozun kontrolsüz üretimine bağlı hiperglisemiye neden olmaktadır (Akdemir ve Birol 2005).

2.1.1.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus

Tip 2 DM genellikle orta ve ileri yaşlarda ortaya çıkar. Kişide ya insülin salınımında bozulmalar mevcuttur ya da salınan insüline karşı bir direnç gelişerek her iki durum birlikte görülür (Akdemir ve Birol 2005, Fronzo ve ark. 2015). Her ne kadar genetik yatkınlık rol oynasa da sağlıksız diyet, hareketsiz yaşam tarzı, erken gelişimsel faktörler (intrauterin maruziyetler gibi) de Tip 2 DM gelişmesinde etkili olur (Zheng ve ark. 2018). Diğer DM türlerine göre daha yaygın olarak görülen Tip 2 DM'de, Tip 1 DM'den farklı olarak hastaların genellikle obez oldukları görülmektedir (Buğdacı 2008, Fronzo ve ark. 2015).

2.1.1.3. Gestasyonel Diyabetes Mellitus

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM), gebelikte en sık görülen metabolik bozuklukluktur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2013 yılında hamilelik sırasında ilk kez tespit edilen hipergliseminin ya 'hamilelikte 'DM' ya da 'GDM' olarak sınıflandırılmasını önermiştir (Alfhadhli 2015). Gebeliğin ikinci ve üçüncü trimesterinde gelişen ve başlangıçta değişken şiddette hiperglisemiye neden olan bir glikoz intoleransı olarak tanımlanır (Alfhadhli 2015, Baz ve ark. 2016, Chiefari ve ark. 2017). Gebelik, bazı kadınlarda diyabet gelişimine neden olabilecek, insülin direnci ve hiperinsülinemi ile ilişkilendirilmiştir (Alfhadhli 2015). GDM'un bir başka nedeni de plasentadan salınan hormonlardır (Akdemir ve Birol 2005).

GDM tedavi edilmezse, preeklampsi, preterm doğum, fetüsün aşırı büyümesi, doğumda laserasyon gibi hem anne hem de çocuklar için doğum öncesi, sırası ve sonrasında yaşamı tehdit eden komplikasyonlara neden olur (Damm ve ark. 2016). Gestasyonel dönemde DM olan kadınlarda hamilelikten sonra Tip 2 DM ile birlikte

çeşitli kardiyovasküler hastalıkların oluşma ihtimali oldukça yüksektir (Chiefari ve ark. 2017).

2.1.1.4. Diğer Spesifik Tipler

Bu grupta olan bozukluklar Tip 1 ve Tip 2 DM ile ilişkilendirilemeyen, sekonder olarak DM gelişimine neden olan çeşitli sebeplerle ortaya çıkarlar. Bunlar; beta hücre ve insülin fonksiyonunda genetik bozukluklar, ilaçlar, endokrin ve hormonal hastalıklar, enfeksiyonlar olarak sıralanabilir (Akdemir ve Birol 2005, Malek 2010).

2.1.3. Diyabetes Mellitus Komplikasyonları

DM'de akut ve kronik olmak üzere 2 tür komplikasyon görülmektedir. Akut komplikasyonlar arasında hipoglisemi, diyabetik ketoasidoz, hiperglisemik hiperosmolar non ketolik sendrom, laktik asidoz sayılabilir (Akdemir ve Birol 2005, Buğdacı 2008). Bunlar arasında en sık görüleni hipoglisemidir. Özellikle insülin tedavisi alan hastalarda taşikardi, terleme, çarpıntı, konfüzyon gibi belirtilerle kendini gösterir (Buğdacı 2008). Kronik komplikasyonlar ise hiperglisemi nedeniyle gelişen retinopati, nefropati, koroner arter hastalığı, nöropati vb. bozukluklardır (Akdemir ve Birol 2005, Buğdacı 2008).

2.2. Streptozotosin (STZ)

Streptomyces griseus mantarının küfünden yapılan STZ, deney hayvanlarında tıbbi araştırma yapılırken DM'nin induksiyonu için en yaygın tercih edilen ve etkisini pankreastaki beta hücrelerini yok ederek gösteren bir ajandır (Lenzen 2007, Attia 2009, Bayır 2014). STZ, pankreatik beta hücreleri içine GLUT2 glikoz taşıyıcı protein aracılığı ile alınır. Hedefi bu hücrelerin DNA'sıdır (Lenzen 2007, Kurçer ve Karaoğlu 2012). Fonksiyonel beta hücreleri bozulduktan sonra gen ekspresyonu ve protein üretimi açısından eksiklikler, hem glikoz taşınması hem de metabolizmanın bozulmasına neden olur (Attia 2009). Glikoz taşıyıcı proteini eksprese etmeyen insülin üreten hücreler STZ'lere karşı dirençlidir (Lenzen 2007). STZ'nin ayrıca, neden olduğu diyabetin ilerlemesi sırasında sıçan karaciğerinde ve pankreasta oksidatif stresi arttırdığı tespit edilmiştir (Attia 2009). İntravenöz, intramüsküler, intraperitoneal ve subdermal formlarda STZ uygulanan, aç bırakılmış sıçanlarda uygulamadan 2 saat sonra kan glikoz düzeyinin arttığı ve 6 saat sonrada kan insülin seviyesinin artışına bağlı hipoglisemi geliştiği, son aşamada ise insülin seviyesinin

azalmasına bağlı olarak hipergliseminin geliştiği belirlenmiştir (Kuręer ve Karaoğlu 2012, Bayır 2014). Yetişkin sıçanlarda Tip 1 DM oluşturmak için genellikle intravenöz olarak 40-60 mg/kg tek doz olarak tercih edilir. Ayrıca intraperitoneal yoldan 40 mg/kg'ın altındaki enjeksiyonların diyabetojenik etkiye neden olmadığı bildirilmiştir (Kuręer ve Karaoğlu 2012).

2.3. Akciğer

2.3.1. Akciğer Embriyolojisi

Akciğer, periferik bronşlar ve trakea laringotrakeal oluktan gelişim gsterir (Warburton ve ark. 2008). Laringotrakeal bir oluk, yaklaşık 28. gebelik haftasında sağ ve sol akciğer tomurcuklarına bölünerek, farenksin ventral duvarından gelişir. Akciğer gelişimi, ön bağırsağın ventral duvarından gebeliğin 4. haftasının sonrasında başlar (Gupta ve ark. 2017). Akciğer gelişimi; intrauterin ve postnatal olarak iki evrede tamamlanır. İnauterin dönem; embriyonik dönem, psöodoglandüler dönem, kanalikuler dönem ve terminal kese dönemi olmak üzere dört gelişim evresinden oluşur (Uzun ve ark. 1997, Schittny 2017).

Akciğer organogenezisi embriyonal dönemin bir parçasıdır. Fetal akciğer gelişimi psöodoglandüler, kanaliküler ve sakküler evreleri oluştururken, postnatal akciğer gelişimi klasik ve sürekli alveolarizasyonun yanı sıra mikrovasküler olgunlaşma aşamalarını da iğerir (Schittny 2017).

Embriyonik dönemde; her iki akciğer tomurcukları uzamaya başlar, çevresindeki mezenkim ve dallanma tekrarlayan bir büyüme çemberi başlatır. Psöodoglandüler dönemde masif epitel filizleri trakea ve bronşların duvarlarında oluşmaya başlar ve mezenşimi bronş ağacının terminal tomurcuğunun büyümesine benzer şekilde istila eder, bu filizler insanlarda gelecekteki mukoza bezlerini oluşturur (Schittny 2017).

Kanaliküler evre, solunum yolları arasındaki morfolojik ayrımı mümkün kılan epitel farklılaşmasını ve respiratuar bronşiyollerin dallanmasını iğerir. Son evre terminal kese döneminde ise çok sayıda gelişen terminal keselerin epiteli incelerek respiratuar bronşiyolleri meydana getirir (Schittny 2017, Akkuş 2019).

2.3.2. Akciğer Histolojisi ve Diyabette Oluşan Histopatolojik Durumlar

Trakea akciğer dokusuna girmeden önce dallanmalar göstererek sağ ve sol primer bronkusları meydana getirir (Esmer 2019). Primer bronkuslar bölünerek sekonder bronkusları, sekonder bronkuslarda bölünerek tersiyer bronkusları şekillendirir (Esmer 2019). Tersiyer bronkuslar dallanmalar oluşturarak terminal bronşiyoller, respiratuar bronşiyoller ve duktus alveolarisleri geliştirir. Gelişen duktus alveolarislerden devam eden hava yollarında sakkulus alveolarisler (alveol keseleri) oluşur (Yüksek 2015, Esmer 2019).

Alveollara açılan alveolar duktusların epitel hücreleri tek katlı yassı yapıdadır. Alveolar kanallar genişleyerek yoğun kollajen lif ve düz kas içeren sakkulus alveolarisi oluşturmaktadır (Moore 2009).

Alveoller gaz değişiminin olduğu yerlerdir ve her bir akciğerde 150-200 milyon tane bulunmaktadır. Bu yapılar 200-250 µm çapa sahiptir. İç yüzü tek katlı yassı epitel hücreleri ile döşenmiştir. Alveollerde iki tür alveol hücresi bulunmaktadır. Bu hücreler; % 60 civarında bulunan ve çok ince yassı hücreler olan tip I alveol hücreleridir. Diğeri ise alveolde % 40 kadar bulunan vakuoler sitoplazmalı olan yuvarlak veya küboid şekilli tip II alveol hücreleridir. Tip II alveol hücreleri pulmoner sürfaktanı oluşturmaktadır. Pulmoner sürfaktan ise alveolun gaz değişimini sağlayacak kadar genişlemesini sağlamaktadır (Moore 2009, Sadler 2011).

DM' nin akciğerde neden olduğu; alveolar epitel kalınlaşması, alveolar duvar hacim oranında artış (Kida ve ark. 1983), akciğerin bağ dokusunda kollajen ipliklerde artış (Sandler 1990) gibi patolojik durumlar ortaya çıkmaktadır.

STZ uygulamasıyla gelişen deneysel Tip 1 ve 2 diyabette; pnömositler, lamina epitelyalis hücreleri ve bağ doku hücrelerinde dejenerasyon geliştiği bilinmektedir. Ayrıca diyabet ile birlikte akciğer dokularının arteriol ve kapillerlerin duvarlarında kalınlaşmalar görülmektedir. Akciğerdeki damarların endotellerinde yapısal değişikliklerle birlikte inflamatuvar süreci açıklayan kapillerlerden dokuya makrofaj göçü de görülmektedir (Popov ve Simionescu 1997). Yine diyabetli hastalarda monosit ve makrofaj aktivitesinin arttığı da bilinmektedir (Devaraj ve ark. 2006).

2.4. Kurkumin (Turmeric)

Kurkumin, zerdeçal olarak bilinen *Curcuma Longa*'nın köklerinden elde edilen, sarı renkli, toz haline getirilmiş izole bir pigmenttir (Kasi ve ark. 2016, Panda ve ark. 2017). Yaklaşık 100 cm yüksekliğe kadar büyüeyebilen kısa saplı bir bitki olan zerdeçal, kurkuminoidleri (kurkumin, demethoksikurkumin ve bisdemethoksikurkumin), uçucu yağları, proteinleri, şekerleri ve reçineleri içeren bir bileşiktir (He ve ark. 2015, Panda ve ark. 2017).

Kurkumin'in çeşitli hastalık endikasyonları için kullanımı, temelde aktif biyolojik fonksiyonlarından yani anti-enflamatuar, antioksidan, anti-mikrobiyal, anti-alzheimer, anti-tümör, anti-diyabetik ve anti-romatizma aktivitelerinden kaynaklanmaktadır (He ve ark. 2015, Yallapu ve ark. 2015). Ayrıca kurkumin hipoglisemik, hepatoprotektif, nefroprotektif, kardiyoprotektif ve nöroprotektif bir moleküldür ve trombozu baskılayarak miyokard enfarktüsüne karşı koruma sağladığı bildirilmektedir (Yallapu ve ark. 2015).

Kurkumin; Asya ülkelerinde 2000 yıldan beri geleneksel olarak tüketilmekte olup Hindistan Yarımadası boyunca ve özellikle Güney Doğu Asya olmak üzere tropikal ülkelerde doğal olarak yetişir (Kasi ve ark. 2016, Panda ve ark. 2017).

Kurkuminin çok düşük konsantrasyonlarda anti-bakteriyel aktivitesinin ilk bilimsel kanıtı 1949'da, "Nature" dergisinde rapor edilmiştir (Yallapu ve ark. 2015). Kurkuminin biyolojik uyumunu belirlemek için yapılan ilk çalışma ise, 1978'de Wahlstrom ve Blennow tarafından kurkumin Sprague-Dawley sıçanlarına 1 g / kg dozunda uygulanarak yapılmıştır (Yallapu ve ark. 2015, Pulido Moran ve ark. 2016). Bununla birlikte kapsamlı araştırmalar ancak 1994'ten sonra başlamıştır (Yallapu ve ark. 2015).

Sağlığa yarar sağlamak için dünya çapında birçok farklı biçimde tanınan ve kullanılan kurkumin; Hindistan'da kurkumin içeren körilerde, Japonya'da çay, Tayland'da kozmetik, Çin'de renklendirici, Malezya'da antiseptik, Pakistan'da anti-enflamatuar ajan ve Amerika Birleşik Devletleri'nde hardal sosu, peynir, tereyağı ve cipslerde, koruyucu ve renklendirici olarak kullanılmaktadır (Hewlings ve Kalman 2017).

Ratlarla yapılan çeşitli çalışmalarda, kurkuminin oral biyoyararlanımının yaklaşık % 1 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bu sebeple herhangi bir faydalı etki oluşturmak için çok yüksek dozlarda (3600 ila 12000 miligram) kurkumin kullanımının gerekli olduğu bildirilmektedir (Pulido Moran ve ark. 2016).

2.5. Katalaz

Organizmada meydana gelen redüksiyon ve oksidasyon olarak adlandırılan olaylar oksidoredüktazlar isimli enzimler tarafından katalizlenir. Bu enzim grubunu; oksidazlar, dehidrojenazlar, hidroperoksidazlar ve oksijenazlar oluşturmaktadır. Katalazın da dâhil olduğu grup olan hidroperoksidazlar substrat olarak hidrojen peroksit kullanan oksidoredüktazlardır (Zamocky ve ark. 2008, Yüzügüllü ve Ögel 2013, Altınışik 2019).

İlk olarak 1901 yılında Loew tarafından tanımlanan katalaz; hidrojen peroksiti (H_2O_2) su ve oksijene bozma kabiliyeti ile bilinen ve tekstil, biyosensör sistemleri gibi endüstrinin birçok alanında kullanılan bir redoks enzimidir (Demirbaş ve Nas 2016). Kanda, kemik iliğinde, mukoz membranlarda, böbrek ve karaciğerde bulunan katalazın, peroksizomdaki flavin içeren oksidazlar tarafından üretilen hidrojen peroksiti parçalayarak hücreleri koruduğu ve böylece bu reaktif oksijen ara ürününün toksik seviyelerde birikmesini önlediği ileri sürülmüştür (Vetrano ve ark. 2005, Altınışik 2019).

Katalazlar; hem grubuna sahip katalazlar, katalaz peroksidazlar, hem (demir) grubu içermeyip Mn içeren katalazlar ve düşük derecede katalaz aktivitesine sahip çeşitli proteinler olmak üzere dört grupta sınıflandırılmıştır. Hem grubu içeren monofonksiyonel katalazlar bu grubun en yaygın üyesidir (Yüzügüllü ve Ögel 2013).

Katalaz aktivitesinin azaldığı bireylerde, ateroskleroz, diyabet, lipid bozukluğu ve nörodejeneratif bozukluklar gibi oksidatif strese bağlı sorunların daha çok görüldüğü belirlenmiştir (Oh ve ark. 2007).

2.6. Diyabette Akciğerin Kurkumin ve Antioksidanlarla İlişkisi

Diyabet sistemik bir metabolik hastalıktır ve kalıcı hiperglisemiye neden olabilir. Diyabetik nefropati, retinopati, hipertansiyon ve diyabetik ayak gibi birçok kronik veya akut komplikasyonu bulunmaktadır (Brownlee 2001). Diyabetik akciğer hasarı diyabetin başlıca komplikasyonu olmasada son yıllarda artan ilgi ile diyabetin önemli komplikasyonlarından biri durumundadır. Kurkumin, anti-inflamatuar (Jurenka 2009), antioksidan (Magro ve ark. 2014) ve antitümör (Lopez-Lazaro 2008) gibi birçok farmakolojik etkiye sahiptir.

Kurkuminin, birçok faktörün neden olduğu akciğer hasarını azalttığı (Xu ve ark. 2013), sisplatin, arsenik veya diğer kemoterapötik ajanların neden olduğu karaciğer hasarını hafiflettiği ve adjuvan tedavide önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (Xu ve ark. 2015).

Kurkuminin, diyabet tedavisinde kan şekeri ve kan lipit seviyelerini düşürerek diyabetin çeşitli komplikasyonlarını azalttığı belirtilmiştir (Zhang ve ark. 2013). Yaygın kimyasal ilaçlardan farklı olarak kurkumin, gıdadan elde edildiği için, daha az yan etkisi ve daha az toksik etkisi vardır. Bu nedenle, kurkuminin diyabetik hastalarda uzun süreli kullanım için daha uygun olduğu düşünülmektedir.

Kurkuminin diyabetik sıçanların akciğerlerinde nükleer faktör-kappa B (NF-KB)'nin aktivasyonunu inhibe ettiği, oksidatif stres seviyesini düşürdüğü, iNOS ve COX-2 ekspresyonlarını inhibe ettiği bilinmektedir. Kurkuminin bu etkilerinin anlaşılmasıyla diyabetik sıçanlarda akciğer hasarını hafiflettiği ileri sürülmüştür (Aydın ve ark. 2014).

Kurkumin diyabet tedavisinde genel olarak yararlı etkiler göstermekle birlikte, çeşitli faktörlerden kaynaklanan, akciğerin de içerisinde olduğu birçok dokuda meydana gelen diyabetik doku hasarını azalttığı da bilinmektedir (Zhang ve ark. 2015).

Diyabet, hiperglisemiyle karakterize edilen bir hastalıktır ve hiperglisemiye, yüksek trigliserit ve kolesterol seviyeleride eşlik eder. Sıçanlarda yapılan deneysel diyabette kurkuminin, sıçan diyabet modelinde kanda glukoz, trigliserit ve kolesterol seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir (Zhang ve ark. 2013).

Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların akciğer dokularında tümör nekrotik faktör-a, interlökin 1b ve interlökin 6 seviyelerinin ELİSA yöntemi ile tespit edildiği bir çalışmada bu parametrelerin diyabet grubunda yüksek seviyelerde bulunduğu, kurkumin tedavisinden sonra ise düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (Sun ve ark 2009). Bu moleküllerin azalması ile diyabetli grupta inflamasyona verilen yanıtın gecikmesinin önlenildiği bildirilmiştir. Kurkumin uygulamalarının moleküler düzeyde de etkili olduğu bazı genlerin ekspresyonunu etkilediği de belirtilmiştir (Pan ve ark. 2013).

Kurkumin, diyabetik sıçanların akciğer dokularında oksidatif stresi azaltmaktadır. Akciğer dokularındaki metan dikarboksilik aldehit (MDA) ve myeloperoksidaz (MPO) seviyeleri oksidatif stres derecesini belirleyen parametrelerdir. Superoksitdismutaz (SOD) ve glutatyon (GSH) gibi antioksidanlar vücuttaki serbest radikalleri temizlemekte ve bunların seviyeleri, antioksidan sistemin gücünü etkilemektedir. Diyabetli sıçanların akciğer dokularında daha yüksek MDA ve MPO seviyeleri ve düşük SOD ve GSH seviyeleri bulunduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte, kurkumin uygulanan diyabetik gruplarda, MDA ve MPO içeriklerinin belirgin bir şekilde azaldığı, SOD ve GSH içeriklerinin ise diyabetli hayvanlara göre belirgin bir şekilde arttığı literatürde yer almaktadır (Waseem ve ark. 2014). Bu bilgiler kurkuminin antioksidan kapasiteyi geliştirebileceğini, oksidatif stresi azaltabileceğini ve böylece diyabetin neden olduğu akciğer hasarını azaltacağını göstermektedir (Yue ve ark. 2014).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Deney Hayvanı Materyalinin Temini ve Barındırılması

Deneyisel çalışma yapabilmek için Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan (KAÜ-HADYEK) 26.03.2019 tarihinde 2019/45 sayılı etik kurulu numarası ile onay alındı.

Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneyisel Uygulama ve Araştırma Merkezinden uygun koşullarda getirilen deney hayvanları ile çalışma yapıldı. Çalışmada deney hayvanı olarak, 3 aylık, 24 adet *Sprague-Dawley* erkek rat kullanıldı. Her kafeste 6 hayvan olmak üzere ratlar rastgele ayrıldı. Çalışma dört grup esas alınarak yürütüldü. Bu gruplar sham, kontrol, diyabet ve diyabet+kurkuminden oluştu. Hayvanlar 25 ± 2 sıcaklıkta ve $\% 50 \pm 5$ nem koşullarında barındırıldı. Hayvanlar pelet yemlerle ve çeşme suyu verilerek beslendi. Beslenmede kullanılan standart fare yemi Erzurum Bayramoğlu Yem Fabrikasından temin edildi. Yemler özel çelik kaplarda, su ise çelik bilyeli suluklarda verildi.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Hayvanlar temin edildikten sonraki iki hafta hiç bir uygulamaya tabi tutulmadan adaptasyonları sağlandı. Adaptasyon sonrası denekler Tablo 1' de gösterildiği gibi gruplara ayrıldı.

Tablo 1.Deney grupları ve Yapılan Uygulamalar

Deney Grupları	Denek Sayısı	Yapılan Deneyisel Uygulamalar
Kontrol	(n=6)	Uygulama yapılmadı.
Sham	(n=6)	Sodyum sitrat çözeltisi i.p. olarak uygulandı. Üç gün sonrasında ise diyabet + kurkumin grubuna uygulanan oranda etanol ve izotonik

		sodyum klorür çözeltisi 21 gün boyunca her gün aynı saatte i.p. olarak uygulandı. (pH : 4.5)
Diyabet	(n=6)	Sitrat tamponu (0.1 M, pH: 4.5) içerisinde çözdürülmüş STZ 50 mg/kg dozda i.p. yolla, tek dozda uygulandı.
Diyabet+Kurkumin	(n=6)	Sitrat tamponu (0.1 M, pH: 4.5) içerisinde çözdürülmüş STZ 50 mg/kg dozda i.p. yolla, tek dozda uygulandı. Üç gün sonra kurkumin (100 mg/kg) etanolde çözdürülüp izotonik sodyum klorür çözeltisi ile sulandırılarak 21 gün boyunca her gün aynı saatte i.p. yolla uygulandı.

3.3. Streptozosin ile Diyabet Oluşturulması

6 saat önceden aç bırakılan diyabet ve diyabet+kurkumin grubundaki ratların kan şekeri (vital plus marka ölçüm cihazı ile) ve ağırlıkları hassas dijital terazi (precisa XB-220A) ile ölçüldü. Daha sonra STZ (Sigma-Aldrich), pH' ı 4.5 olan 0.1M sodyum sitrat tamponunda çözdürülerek ratların ağırlıklarına göre 50 mg/kg oranında insülin enjektörü ile i.p. olarak uygulandı. Sham grubunda yer alan ratlarda aynı şekilde 6 saat aç bırakılarak kan şekeri ve ağırlık ölçümleri yapıldı. Sonrasında ise;ratların ağırlıklarına göre 0.1M sodyum sitrat çözeltisi i.p. olarak uygulandı. Kontrol grubundaki ratların ise 6 saat açlık sonrasikan şekeri ve canlı ağırlık ölçümü yapıldı. Ancak bu ratlar herhangi bir uygulamaya tabi tutulmadı.

3.4. Kurkumin Uygulaması

STZ uygulandıktan sonra 72. saatte açlık kan şekeri değeri 200 mg/dL'nin üstünde olan hayvanların diyabetik olduğunakarar verildi, diyabet+kurkumin grubuna kurkumin (Sigma-Aldrich) uygulamasına başlandı.

Kurkumin çözeltisi hazırlamak için, gerekli olan kurkumin (Sigma-Aldrich) tartıldıktan sonra üzerine kurkumini çözecek miktarda etanol eklendi. Daha sonra üzerine izotonik sodyum klorür eklenerek çözelti sulandırıldı. Kurkumin çözeltisi her gün taze olarak hazırlandı ve diyabet+kurkumin grubundaki ratlara 21 gün boyunca hergün aynı saatte 100 mg/kg dozda i.p. olarak enjeksiyonu yapıldı.

Sham grubundaki ratlara ise, kurkumin olmadan sadece etanol ve izotonik sodyum klorür karışımı hazırlandı ve 21 gün boyunca i.p. olarak enjekte edildi.

3.5. Ağırlık Ölçümlerinin Yapılması

Ratların canlı ağırlıkları STZ uygulamasından hemen önce (0. gün) ve 3. 7. 14. ve 21. günlerde hassas dijital terazi (Precisa-XB220A) ile tartılarak kaydedildi.

3.6. Kan Şekeri Seviyesinin Belirlenmesi

Bütün ratların kan glikoz seviyeleri 6 saat aç bırakıldıktan sonra ve STZ uygulamasına geçilmeden önce kuyruk venlerinden alınan birer damla kanla 0. 3. 7. 14. ve 21. günlerde glukometre cihazı (vital plus)kullanılarak ölçüldü. STZ uygulamasından 72 saat sonra ratlar tekrar 6 saat aç bırakılarak, açlık kan glikoz değerleri yine aynı yöntemle belirlendi. STZ uygulandıktan sonra72. saatte açlık kan şekeri değeri 200 mg/dL'nin üstünde olan hayvanların diyabetik olduğunakarar verildi (American Diabetes Association 2013).

3.7. Doku Örneklerinin Alınması

Deneyisel çalışmanın bitiminde (STZ uygulandıktan 24 gün sonra), bütün gruplardaki ratlar 6 saat aç bırakıldıktan sonra kan şekeri ve canlı ağırlıkları ölçüldü.

Daha sonra eter anestezi uygulanarak, servikal dislokasyon sonrasında ratların akciğer doku örnekleri alındı.

Akciğer dokularının ağırlıkları hassas terazide ölçüldü. Alınan akciğer dokuları immünohistokimyal ve histolojik çalışmalarda kullanılmak üzere rutin histolojik işlemlerden geçirildi.

3.8. Histolojik İncelemeler İçin Doku Hazırlanması

Alınan Akciğer dokuları histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmek üzere %10'luk formol solüsyonu ile tespit edildi. Ardından doku takibi için dereceli alkoller ve ksilol serilerinden geçirilerek dokular parafinde bloklandı. Hazırlanan bloklardan krom alum jelatin ile kaplanan lamlara 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitlerin bir kısmı rutin histolojik incelemeler için geriye kalanı ise katalaz'ın akciğer dokusunda immünohistokimyasal lokalizasyonunu incelemek amacıyla kullanıldı. Histolojik olarak akciğer dokusunu incelemek için Crossman'ın modifiye üçlü boyama (triple boyama) tekniği uygulandı. Entellan ile kapatılan prepratlar değerlendirilmek üzere ışık mikroskopunda (Olympus Bx51, Japan) incelenip fotoğraflandı.

3.9. İmmünohistokimyasal Metod

Akciğer dokusunda katalazın immunohistokimyasal lokalizasyonu Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleks (ABC) tekniği kullanılarak belirlendi. Doku kesitlerine öncelikle deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemleri uygulandı. Ardından endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için %3'lük hidrojen peroksitte (H₂O₂) 15 dk inkübasyona bırakıldı. Bundan sonra kesitler 0.1M PBS (fosfat buffer saline, pH: 7.2) ile yıkandıktan sonra antijenleri açığa çıkarmak amacıyla mikrodalga fırında sodyum sitrat (pH: 6.0) solüsyonu içerisinde ısı uygulaması yapıldı (10 dk, 600 watt). Mikrodalgadan çıkarılan kesitler 3-5 dk boyunca PBS ile yıkanıp ardından spesifik olmayan bağlanmaları önlemek amacıyla sekonder antikora uygun UV serumda (Thermo scientific, TA-125-UB) 10 dk inkube edildi ve tekrar PBS ile yıkandı. Daha sonra kesitler üzerine anti-CAT (abcam: 1877(1:500 dilüsyon oranında)) uygulandı

ve oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakıldı. Primer antikorun inkübasyonundan sonra tekrar PBS ile yıkanan dokulara biotinlenmiş sekonder antikor (Thermo Scientific TA-125-BN) uygulandı ve 30 dk oda sıcaklığında bırakıldı. Örnekler tekrar PBS ile yıkandıktan sonra streptavidin peroksidaz (Thermo Scientific TS-125-HR) ile oda sıcaklığında ve nemli ortamda 15 dk inkübe edildi. PBS ile yıkanan kesitlere reaksiyonun görülebilir olması için Diaminobenzidin (DAB, Thermo TA-125-HD) uygulandı.

İmmünoreaktivitenin açığa çıkmasıyla distile su ile yıkanan kesitler zıt boyama için Mayer's hemotoksilenle boyandı. Ardından dokular dereceli alkoller ve ksilolden geçirildikten sonra entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı. Oluşan katalaz immünoreaktivitesinin spesifik olup olmadığını değerlendirmek amacıyla yapılan negatif kontrol için alınan kesitlere primer antikor uygulanmadan diğer aşamalar aynı şekilde uygulandı. Katalaz immünoreaktivitenin değerlendirilmesi için semikantitatif analiz yapıldı. Bunun için her kesitte rastgele 20 alan (40X büyütmede) reaksiyonun lokalizasyonu ve yoğunluğuna göre derecelendirildi (Tablo 2).

Tablo 2. Katalaz İmmünoreaktivitesinin Derecelendirilmesi

Dokudaki Reaksiyon Derecesi	Kullanılan Simgeler
Yoğun reaksiyon	+++ (3)
Orta derecede reaksiyon	++ (2)
Hafif reaksiyon	+ (1)
Reaksiyon yok	- (0)

3.10. İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel analiz için SPSS programının 16.0 versiyonu kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar için, One-way ANOVA ve Duncan testi kullanıldı. Gruplar arasındaki anlamlılık değeri $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. İstatiksel Bulgular

4.1.1. Ratların Canlı Ağırlıklarının Günlere Göre İstatistiksel Değerlendirilmesi

Tablo 3.Ratların Canlı Ağırlıklarının Günlere Göre İstatistiksel Değerlendirilmesi

Gruplar	N	0. gün	3.gün	7.gün	14.gün	21.gün
Kontrol	6	209 ± 21,4 ^a	197,3 ± 20,5 ^a	237,5 ± 31,8 ^a	248,3 ± 39,3 ^a	291 ± 33,6 ^b
Diyabet	6	261,6 ± 19,9 ^a	234,3 ± 34,8 ^a	247,8 ± 40,4 ^a	259,5 ± 49,8 ^a	281,8 ± 43,2 ^a
Diy+Kur	6	359,6 ± 59,9 ^a	341,3 ± 59 ^a	305,5 ± 45 ^a	307,6 ± 47,7 ^a	323,8 ± 25,8 ^a
Sham	6	269,1 ± 53,1 ^a	295,5 ± 45,8 ^a	294,6 ± 44 ^a	297,3 ± 49,7 ^a	311,1 ± 48,6 ^a

a,b: Aynı satırda aynı üst karakter taşıyan günler arasında benzerlik vardır, farklı üst karakter taşıyan günler arasında istatistiksel düzeyde anlamlı fark vardır (P<0.05) .

Grupların kendi içerisindeki canlı ağırlık değerlerinin günlere göre göstermiş olduğu farklılıklara bakıldığında, kontrol grubunun günlere göre canlı ağırlıkları 0. gün, 3. gün, 7. gün ve 14. günlerde istatistiksel açıdan anlamlı herhangi bir farklılık görülmezken, 21. günde diğer günlere göre istatistiksel açıdan anlamlı bir artış olduğu görüldü.

Diyabet grubunu değerlendirdiğimizde, canlı ağırlıklarında, günlere göre istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Diyabet+Kurkumin grubunun canlı ağırlık değerlerine baktığımızda da, canlı ağırlıklarda günlere göre istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Sham grubunda da canlı ağırlık değerlerine baktığımızda, günlere göre istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı belirlendi.

4.1.2. Ratların Akciğer Ağırlıklarının İstatistiksel Değerlendirilmesi

Tablo 4.Ratların Akciğer Ağırlıklarının İstatistiksel Değerlendirilmesi

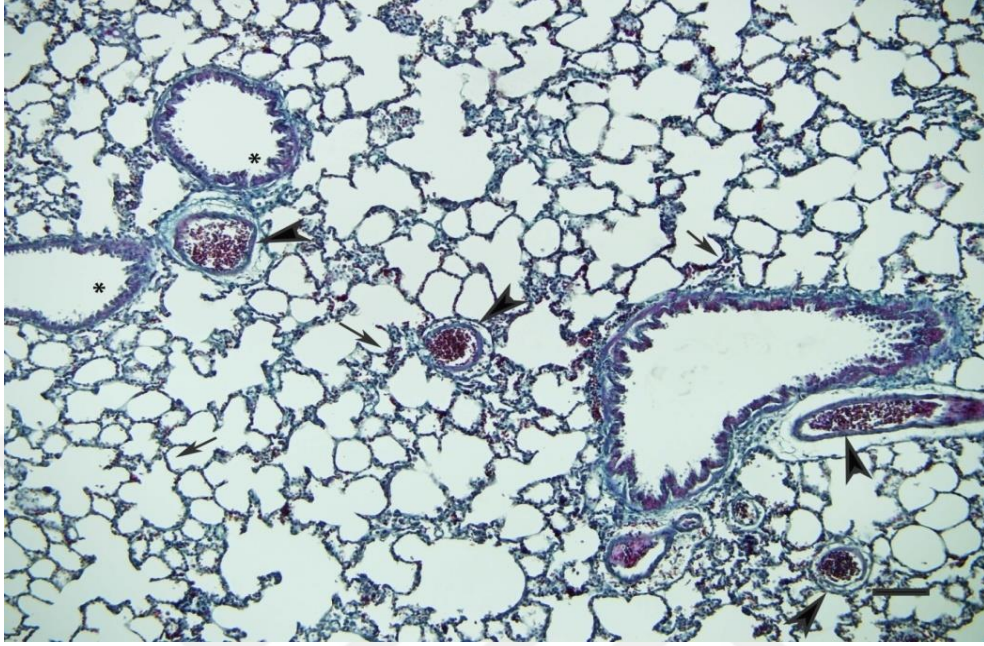
Gruplar	N	Mean \pm SD	P
Kontrol	6	1,92 \pm 0,237	0,48
Diyabet	6	2,30 \pm 0,190	
Diyabet+Kurkumin	6	2,16 \pm 0,291	
Sham	6	2,11 \pm 0,116	

Tüm gruplardaki ratlar, akciğer ağırlığı yönünden değerlendirildiğinde, Kontrol, Diyabet, Diyabet+Kurkumin ve Sham gruplarındaki ratların akciğer ağırlıkları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

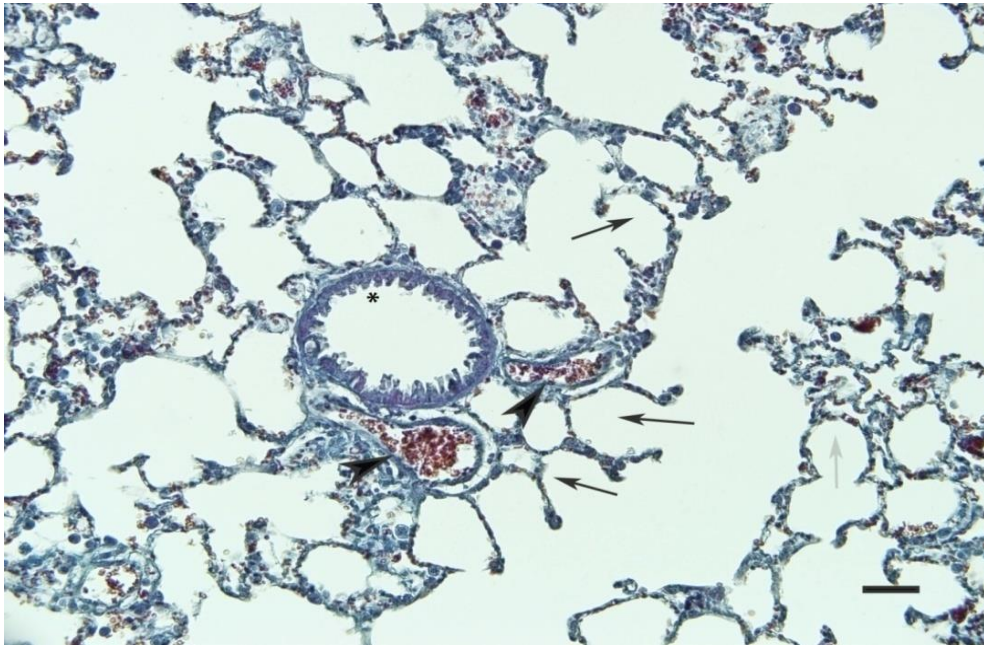
4.2. Histolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait olan akciğer doku örneklerinin histolojik incelemesinde, genel olarak havayı ileten yapılar olan bronş ve bronşçuklar ile respiratorik doku alanları görüldü. Bronşlara ait duvar yapısı, etraflarında parçalı hiyalin kıkırdak yapılarının bulunması ve epitel yapısının yalancı çok katlı prizmatik özellikte olması, aynı zamanda da submukozada bezlerin bulunmasıyla bronşçuklardan ayırt edildi. Bronşların etrafında yer yer BALT (Bronchus Associated Lymphoid Tissue) dokusu görüldü. Bronşçuklarda ise kıkırdak ve bez yapılarına rastlanmadı. Epitel yapısının ise tek katlı prizmatik özellikte olduğu ve epitel hücrelerinin arasında Clara hücrelerinin bulunduğu belirlendi. Bronş ve bronşçuklara ait yapılar normal görünümündeydi. Kesitlerdeki respiratorik doku alanları incelendiğinde ise normal yapıyla uyumlu şekilde alveoller ve bunların oluşturduğu keseler olan sakkulus alveolarisler görüldü. Alveol duvarını oluşturan hücreler olan pnömosit I ve pnömosit II'ler normal yapılarında görüldü. Yer yer alveolar makrofajlara da rastlandı. İnteralveoler ve intersakkuler septumlarda ince kollagen ipliklerin olduğu

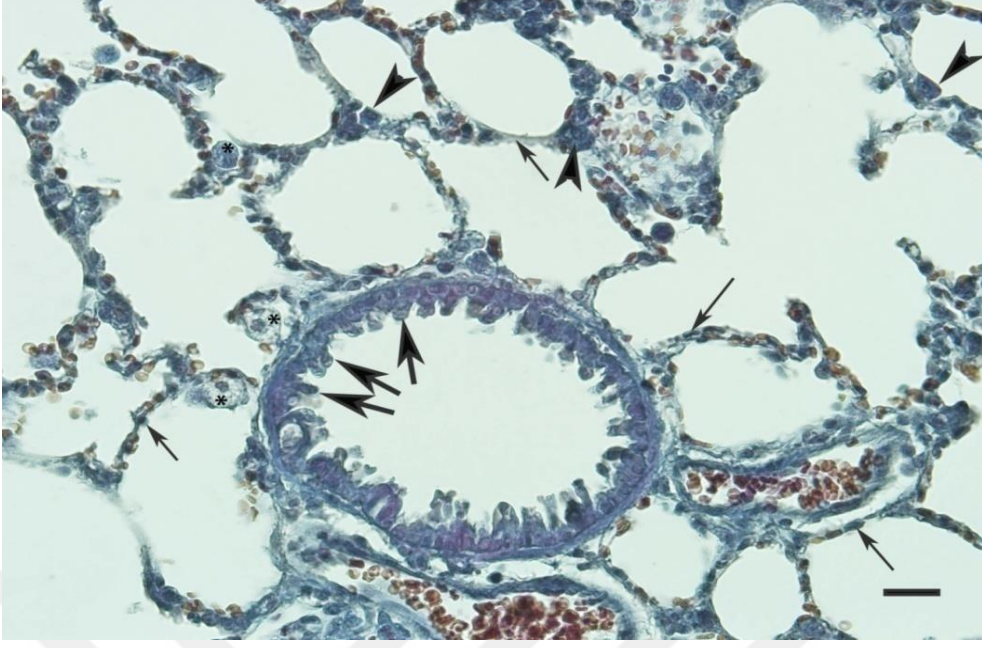
görüldü. Doku içerisinde bol miktarda ve farklı büyüklüklerde kan damarları görüldü (Resim1,2,3).



Resim 1: Kontrol grubu akciğer dokusunun genel histolojik görünümü. Triple boyama. **Oklar:** alveoller, **ok başları:** kan damarları, *: bronşçuk, Bar 200 μ m.

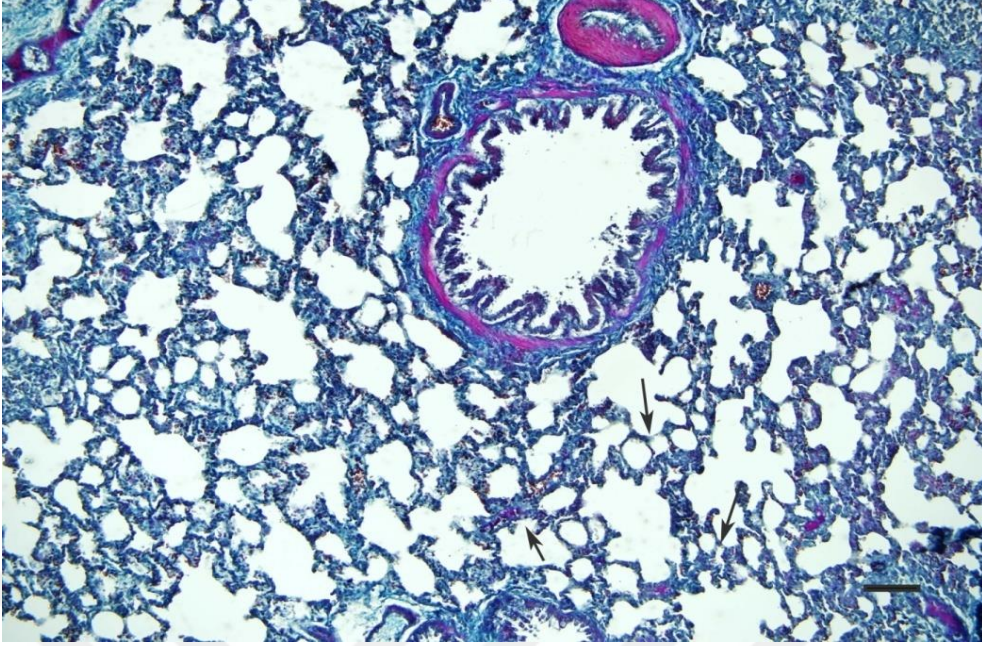


Resim 2: Kontrol grubu akciğer dokusunun genel histolojik görünümü. Triple boyama. **Oklar:** alveol, **ok başları:** kan damarları *: bronşçuk, Bar 100 μ m.

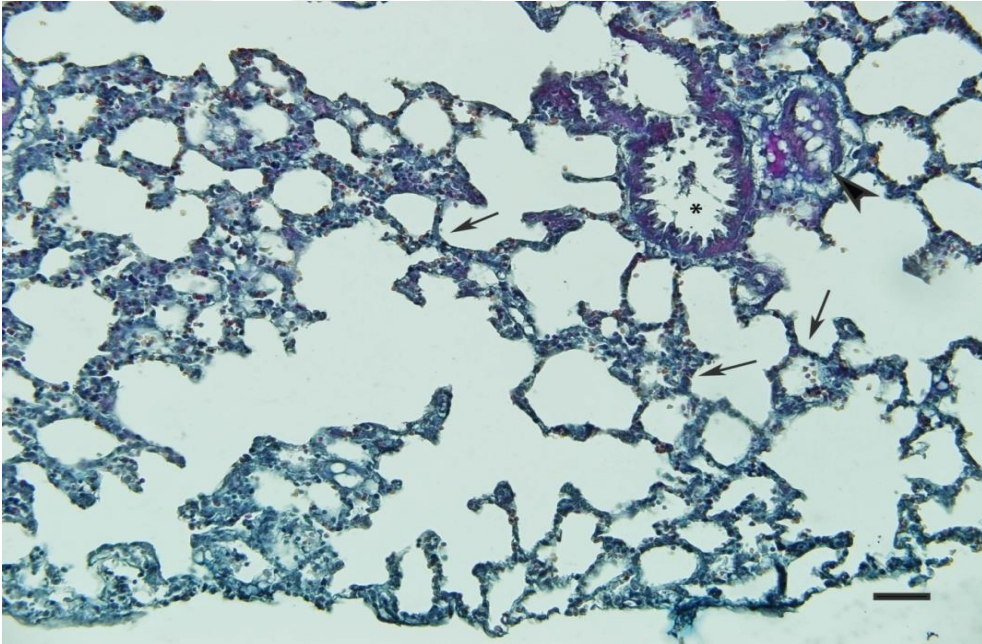


Resim 3: Kontrol grubu akciğer dokusunun genel histolojik görünümü. Triple boyama. **İnce Oklar:** Tip I pnömosit, **ok başları:** Tip II pnömosit, **kalin oklar:** Clara hücreleri, Bar 50 μ m.

Sham grubuna ait akciğer dokularının histolojik incelemesinde de kontrol grubunda olduğu gibi havayı ileten borulara ait kesitler ile respiratorik doku alanları görüldü. Havayı ileten bronş ve bronşçuk yapılarının normal yapıda ve kontrol grubuna benzer olduğu görüldü. Respiratorik doku alanlarında alveol yapıları ile sakkulus alveolaris yapıları normal yapıda izlendi. Alveol duvarında bulunan pnömosit I ve pnömosit II'lerde herhangi bir bozukluğa rastlanmadı. İnteralveoler ve intersakkuler septumlarda az sayıdaki bazı alanlarda hafif kollagen birikimleri gözlene de genel yapının normal olduğu ve kontrol grubuna benzer olduğu görüldü (Resim 4,5).

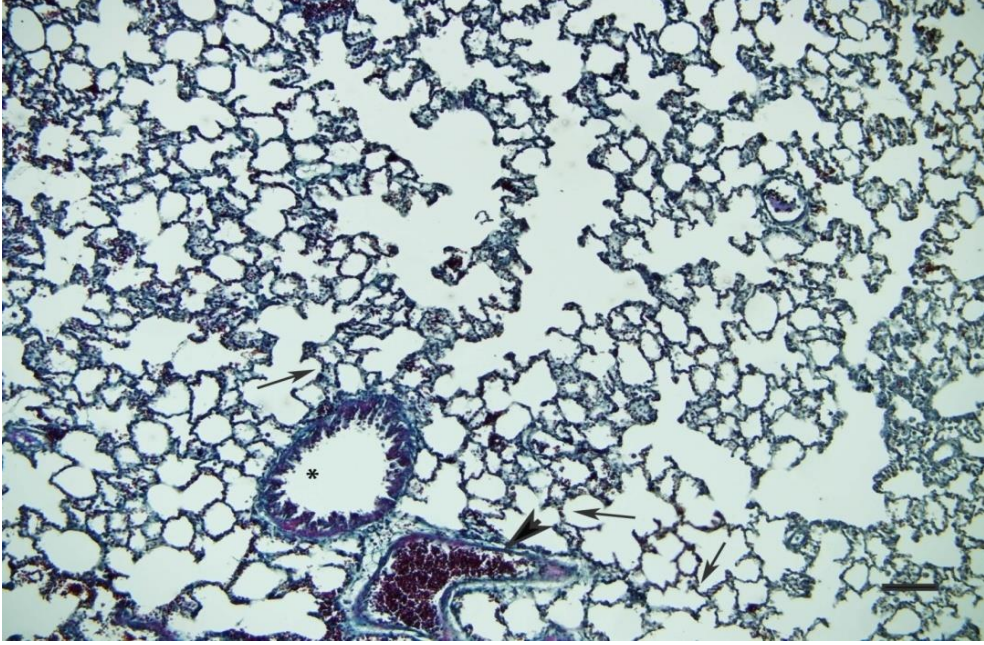


Resim 4: Akciğer dokusunun histolojik görünümü (Sham grubu). Triple boyama. **Oklar:** alveoller, Bar 200 μm .

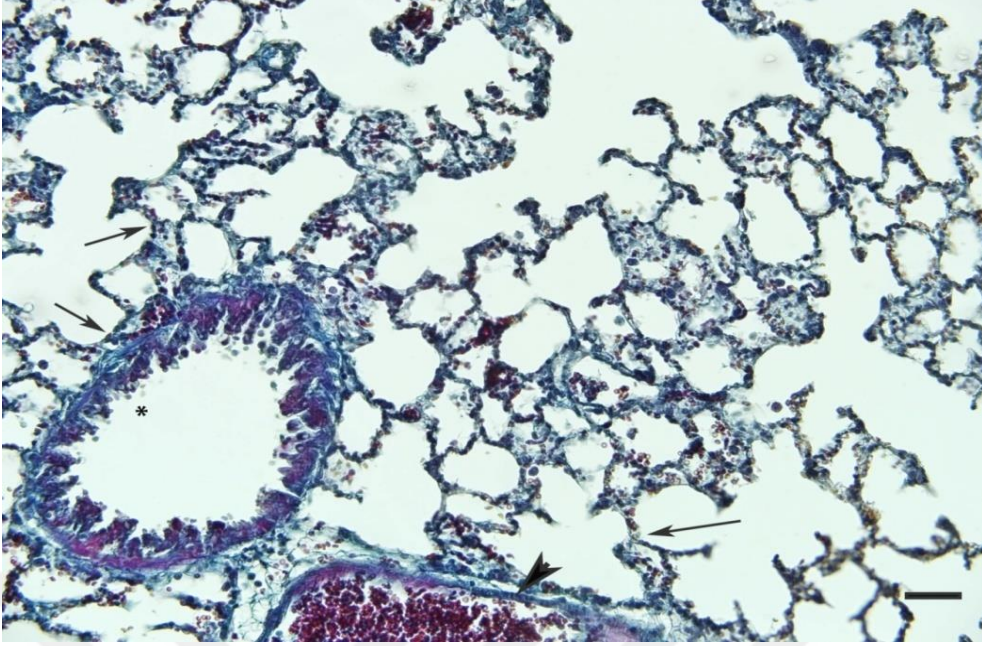


Resim 5: Sham grubu akciğer dokusunun histolojik görünümü. Triple boyama. **Oklar:** alveol, **ok başları:** kan damarları ***: bronşçuk**, Bar 100 μm .

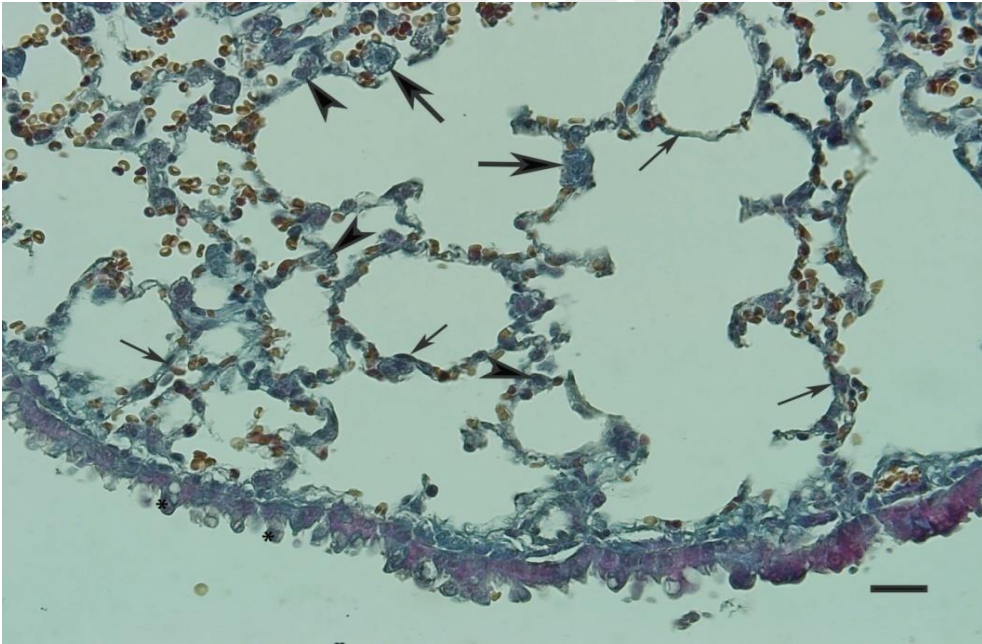
Diyabet grubuna ait akciğer doku örneklerinin histolojik incelemesinde, dokuyu oluşturan temel yapılar olan bronş, bronşçuk ve alveollerin bulunduğu görüldü. Ancak bu yapıların epitel katmanlarında yer yer dejenerasyonların olduğu belirlendi. Diyabet grubunda respiratorik doku alanları incelendiğinde alveol duvarında, interalveoler ve intersakkuler septumlarda kalınlaşma olduğu dikkati çekti. Bu alanlarda artmış kollagen birikimleri görüldü. Doku içerisinde yer yer lenfosit infiltrasyonlarına rastlandı. Doku genelinde dikkati çeken bu farklılıklara karşın alveollerini oluşturan pnömosit I ve pnömosit II'lerin hücresel görünümünde belirgin bir bozukluğa rastlanmadı. Doku içerisinde sık sık alveolar makrofajlara ve kan damarlarına rastlandı (Resim 6,7,8).



Resim 6: Diyabet grubu akciğer dokusunun histolojik görünümü. Triple boyama. **Oklar:** alveoller, **ok başları:** kan damarları *****: bronşçuk, Bar 200 µm.

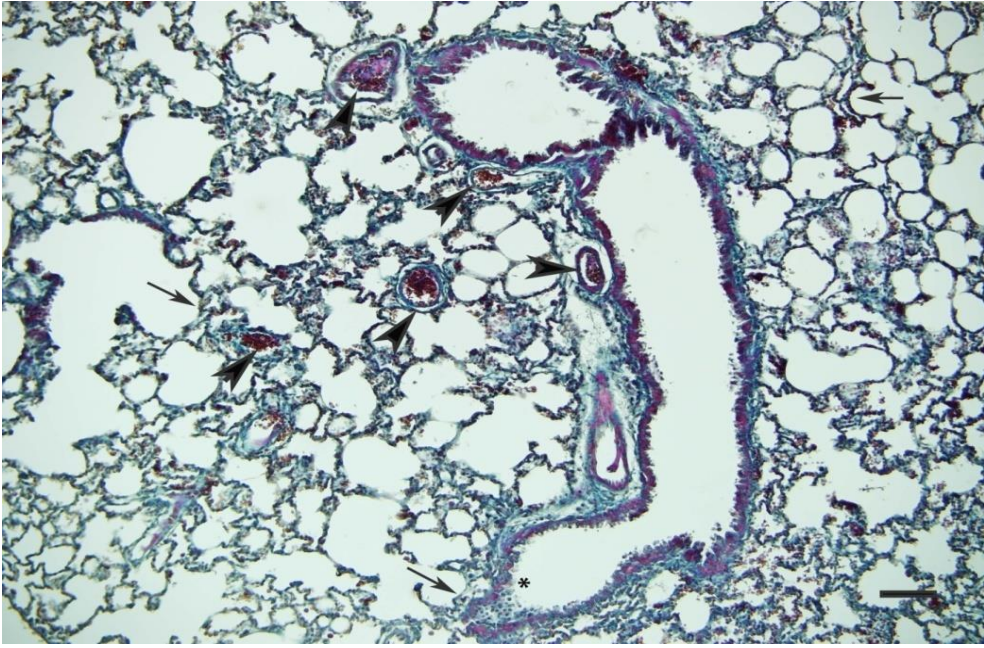


Resim 7: Diyabet grubu akciğer dokusunun genel histolojik görünümü. Triple boyama. **Oklar:** alveoller, **ok başları:** kan damarları ***: bronşçuk**, Bar 100 µm.

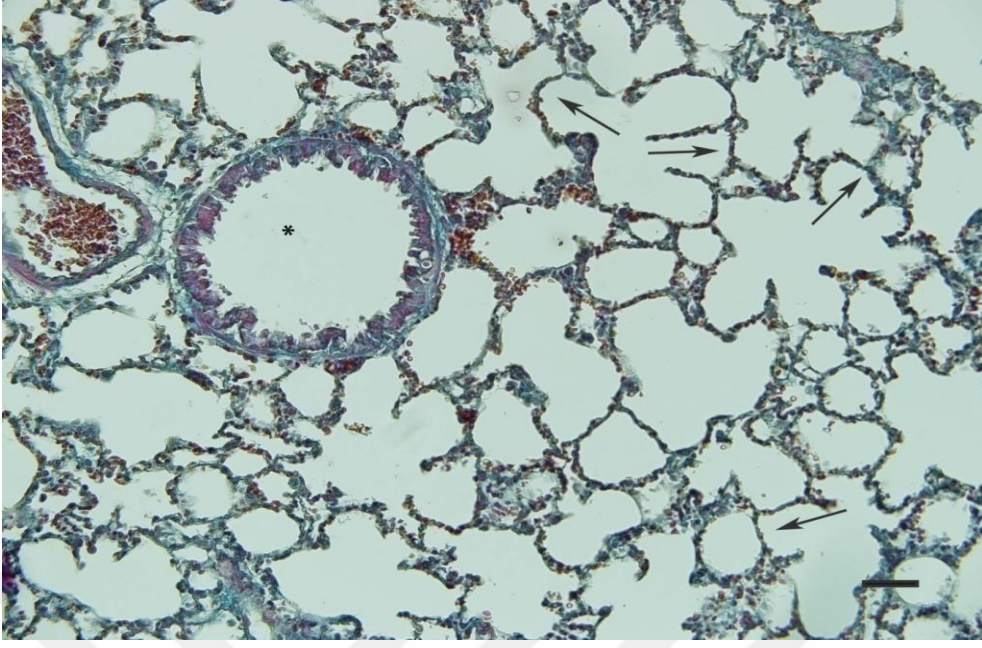


Resim 8: Diyabet grubu akciğer dokusunun histolojik görünümü. Triple boyama. **İnce oklar:** Tip I pnömosit, **okbaşları:** Tip II pnömosit, **kalin ok:** alveolar makrofaj ***: Clara hücreleri**, Bar:50µm.

Kurkumin uygulanan diyabetik grupta yapılan histolojik incelemelerde ise yine diğer gruplarda olduğu gibi bronş, bronşçuk ve alveol yapıları görüldü. Epitel yapılarında belirgin bir dejenerasyon dikkati çekmedi. Respiratorik dokuda alveoller ve bunları oluşturan hücreler normal görünümündeydi. İnteralveoler ve intersakkuler alanlarda yer yer az miktarda kollagen birikimi görülse de, bunlar diyabetik grupta olduğu kadar yoğun değildi. Doku içerisinde bol miktarda kan damarına rastlandı (Resim 9,10).



Resim 9: Diyabet + Kurkumin grubu akciğer dokusunun genel histolojik görünümü. Triple boyama. **Oklar:** alveoller, **ok başları:** kan damarları *****: bronşçuk, Bar 200 μ m.



Resim 10: Diyabet + Kurkumin grubu akciğer dokusunun histolojik görünümü. Triple boyama. **Oklar:** alveoller, *: bronşçuk, Bar 100 μ m.

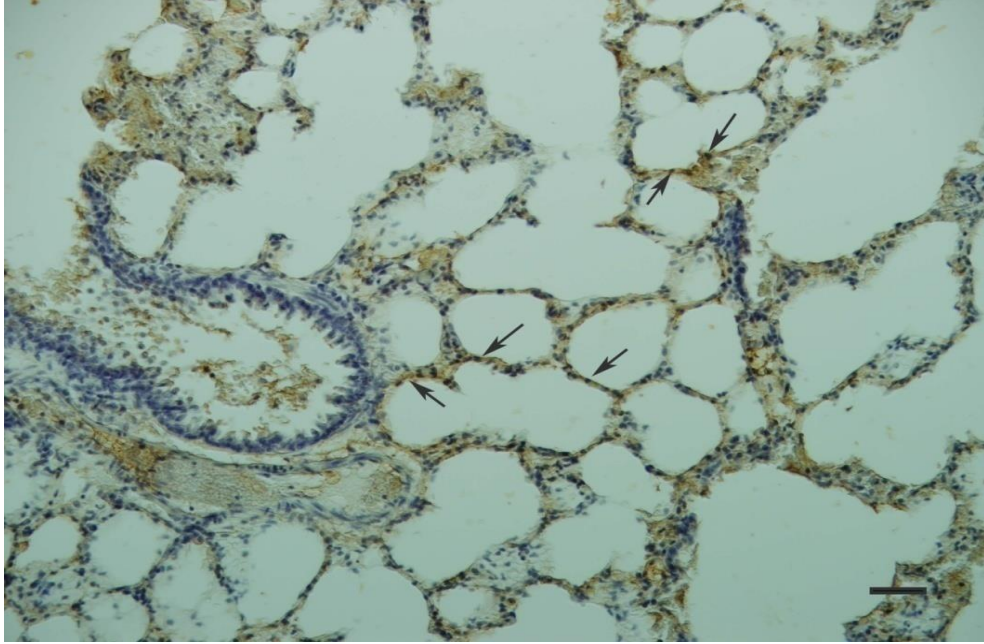
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol, sham, diyabet ve diyabet+kurkumin gruplarına ait akciğer doku örnekleri katalazın immünohistokimyasal lokalizasyonu yönünden incelendi (Resim11,13,16,19). Yapılan incelemelerde immünoreaktivitenin genel olarak en yaygın tip I pnömositlerde olduğu görüldü. Tip I pnömositlerde görülen bu reaksiyonun yoğunluğunun hücreden hücreye farklılık gösterdiği belirlendi (Resim14,15,17,18,20). Bu hücrelerde görülen reaksiyonun sitoplazmik tarzda olduğu belirlendi. Tip II pnömositlerde de katalaz immünoreaktivitesi tespit edildi. Bu hücrelerde de reaksiyonun sitoplazmik tarzda olduğu görüldü (Resim 17,18,20). Ancak tip II pnömositlerde görülen katalaz immünoreaktivitesi tip I pnömositlerde görülen reaksiyon kadar yaygın ve yoğun değildi. Akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi görülen bir başka hücre türünün de alveolar makrofajlar olduğu görüldü. Alveolar makrofajlarda genel olarak orta dereceli ve sitoplazmik tarzda görülen katalaz immünoreaktivitesinin yer yer çok yoğun olarak bulunduğu da belirlendi (Resim 12,15). Akciğer dokusu içerisinde yer alan bronşların epitelinde

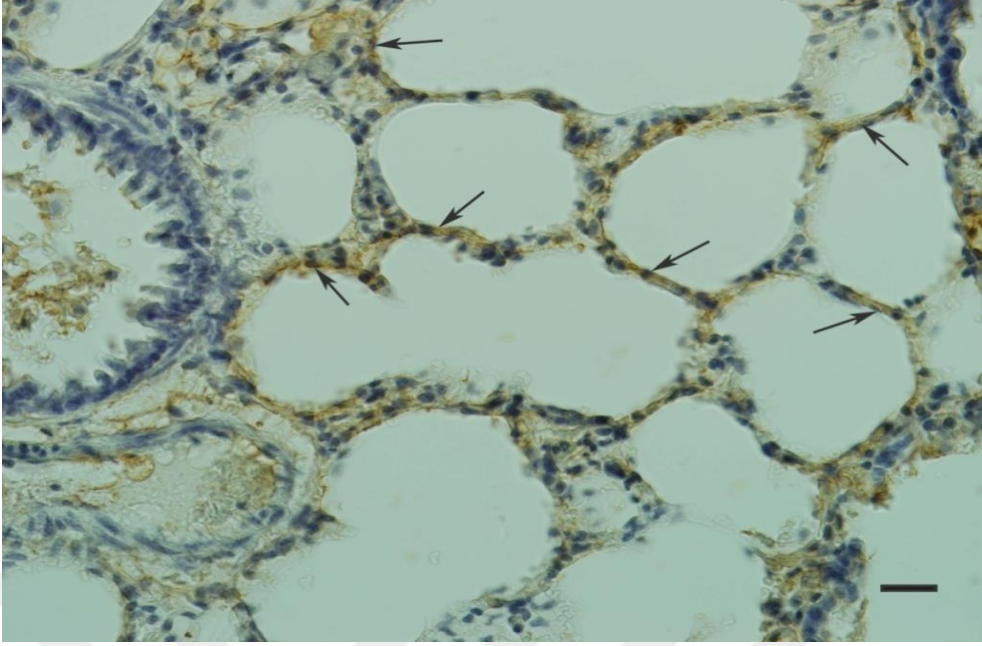
immünohistokimyasal reaksiyona rastlanmadı. Bronşçuk epitel hücreleri ile bu hücrelerin arasında bulunan Clara hücrelerin de ise genel olarak immünoreaktivite görülmezken, yer yer bazı hücrelerin apikal sitoplazmalarında immünoreaktivitenin varlığı belirlendi.

Doku içerisinde yer alan damarlara ait endotel hücrelerinde immünoreaktivite görülmedi.

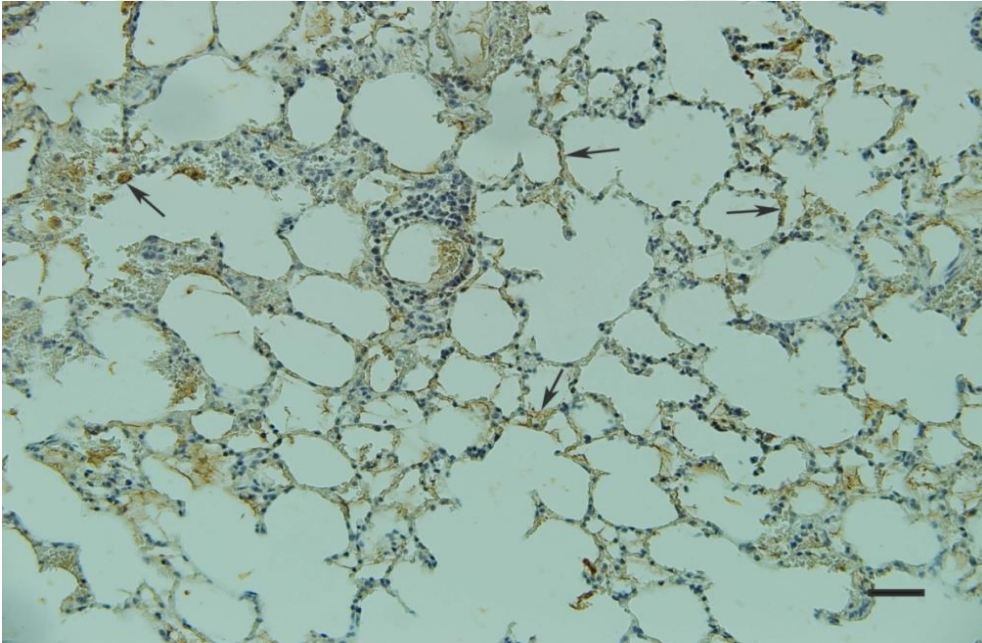
Yapılan negatif kontrollerde immünohistokimyasal reaksiyona rastlanmadı (Resim 21).



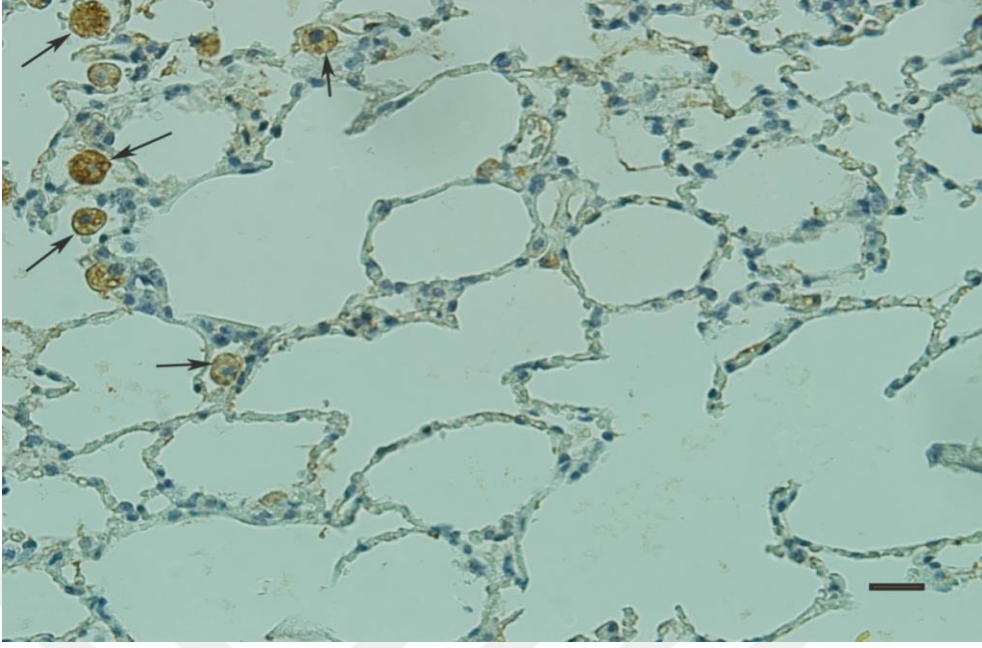
Resim 11: Kontrol grubu akciğer dokusu. **Oklar:** Katalaz immünoreaktivitesi, Bar: 100 μ m.



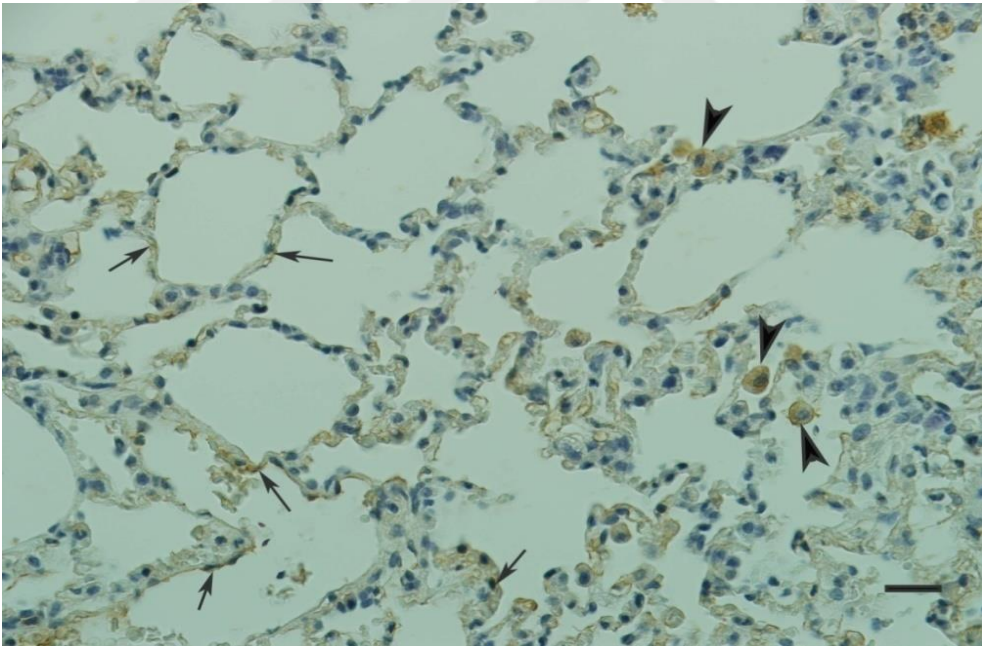
Resim 12: Kontrol grubu akciğer dokusu. **Oklar:** Tip I pnömositlerde katalaz immünoreaktivitesi, Bar: 50 μ m.



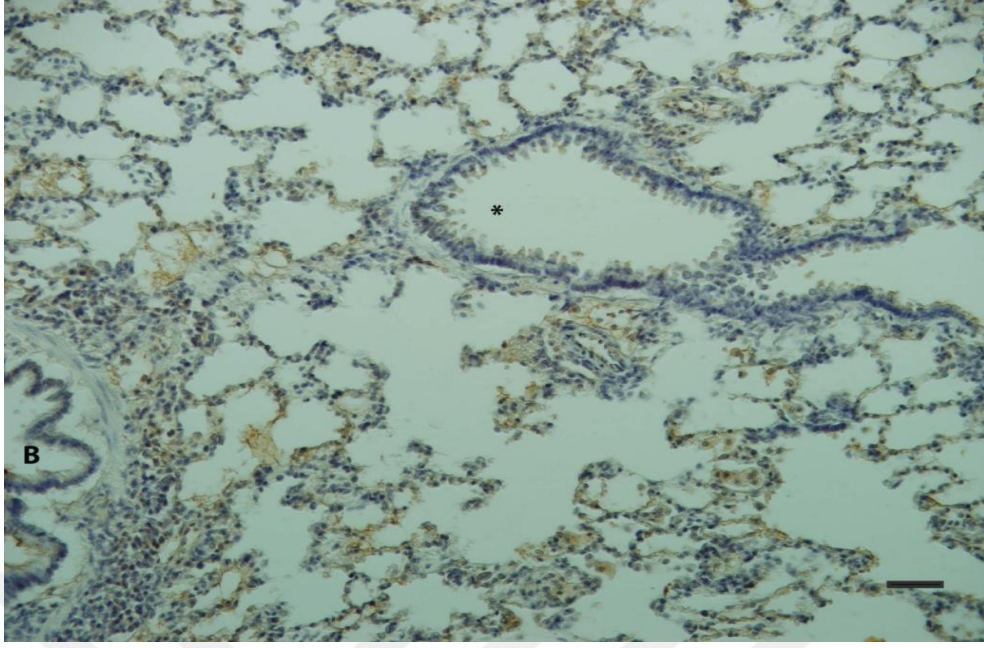
Resim 13: Sham grubu akciğer dokusu. **Oklar:** Katalaz immünoreaktivitesi, Bar:100 μ m.



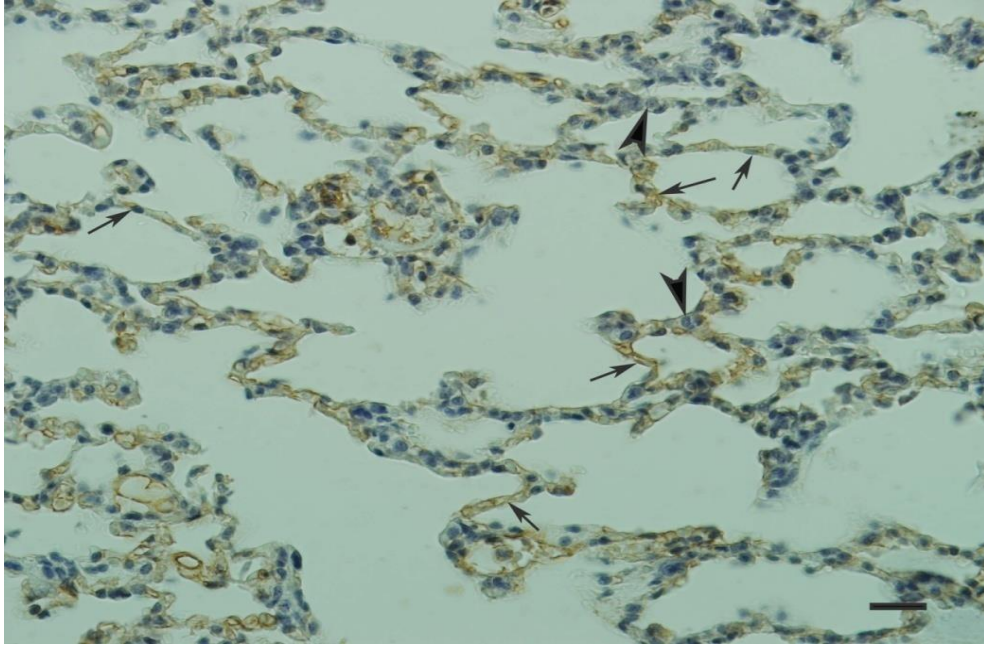
Resim 14: Sham grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi. **Oklar:** alveolar makrofaj, Bar: 50 μ m.



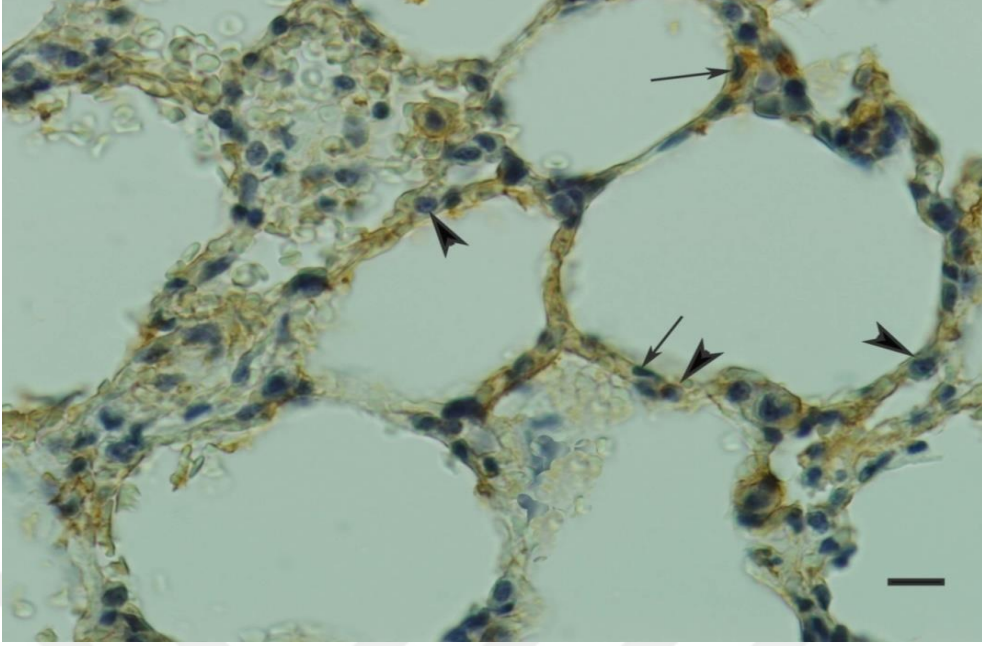
Resim 15: Sham grubu akciğer dokusu katalaz immünoreaktivitesi. **Oklar:** Tip I pnömosit, **ok başları:** alveolar makrofaj, Bar: 50 μ m.



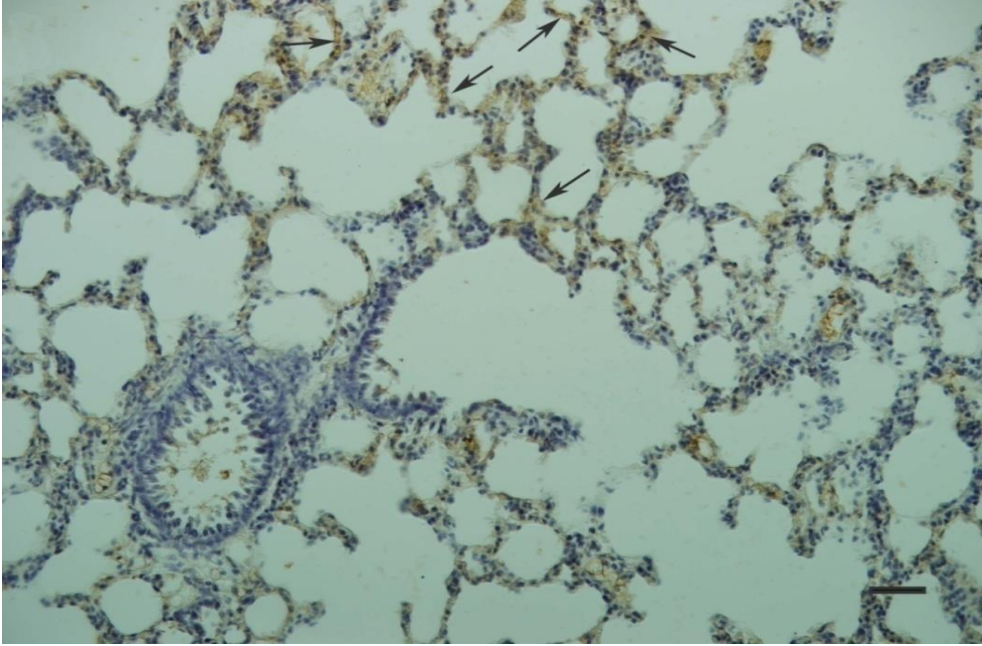
Resim 16: Diyabet grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi. **B:** Bronş, *****: bronşçuk, Bar: 100 µm.



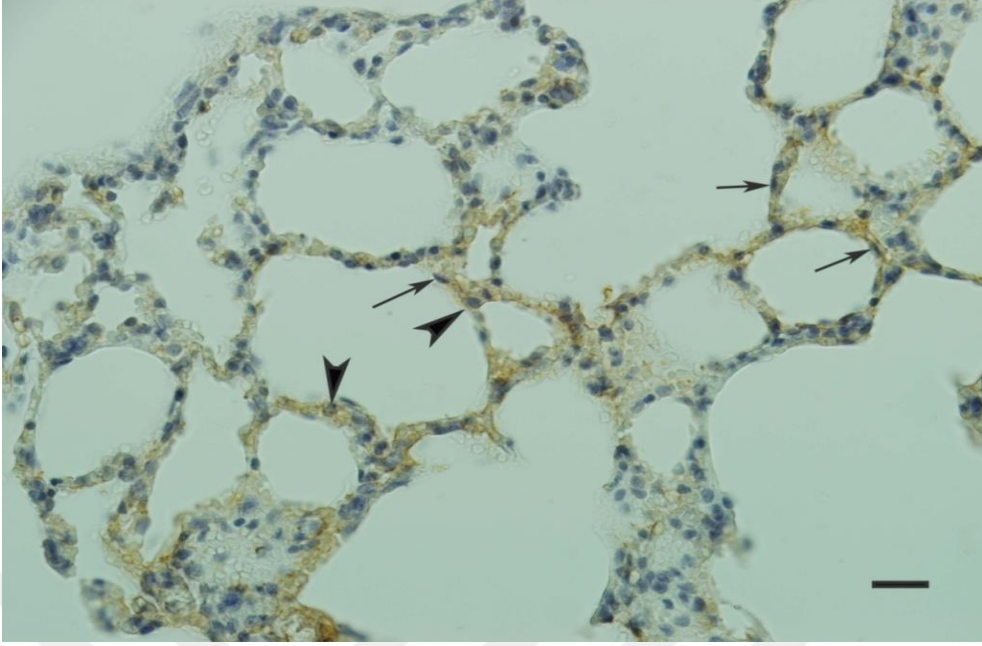
Resim 17: Diyabet grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi. **Oklar:** Tip I pnömosit, **ok başı:** Tip II pnömosit (negatif reaksiyon), Bar: 50 µm.



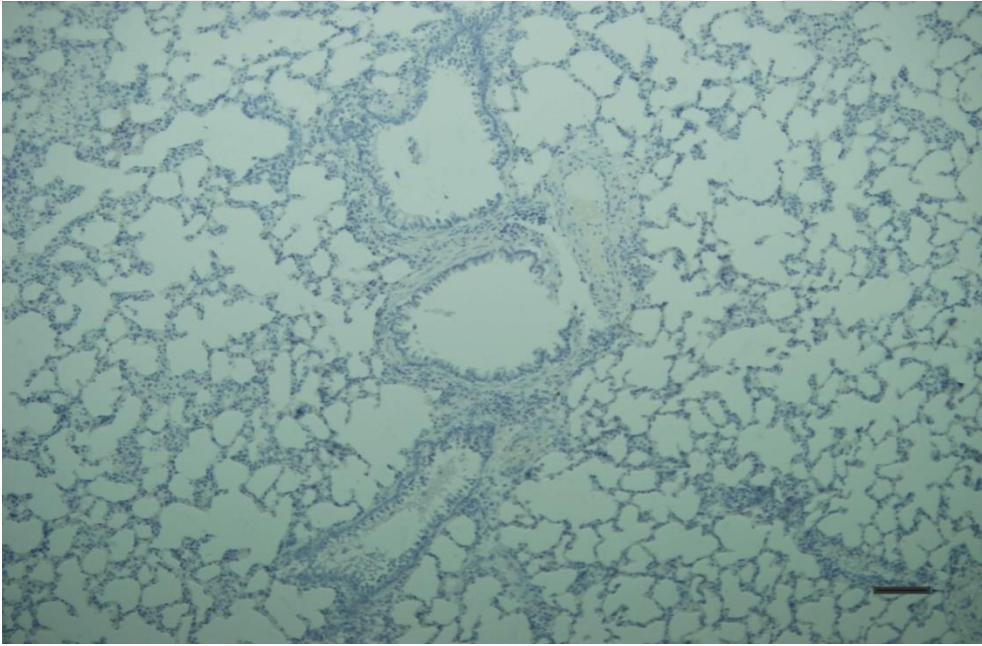
Resim 18: Diyabet + Kurkumin grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi. **Oklar:** Tip I pnömosit, **ok başları:** Tip II pnömosit, Bar: 25 µm.



Resim 19: Diyabet + Kurkumin grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi. **Oklar:** pozitif reaksiyon, Bar: 100 µm.



Resim 20: Diyabet + Kurkumin grubu akciğer dokusunda katalaz immünoreaktivitesi. **Oklar:** Tip I pnömosit, **ok başları:** Tip II pnömosit, Bar: 50 μ m.



Resim 21: Negatif kontrol, Bar: 200 μ m.

Tablo 5.Katalaz İmmünoreaktivitesi Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirilmesi

Akciğer Hücreleri	N	Kontrol	Diyabet	Diyabet+Kur	Sham
Pnömosit I	120	1,0 ± 0,57 ^{aA}	0,65 ± 0,66 ^{bA}	0,75 ± 0,69 ^{bA}	0,59 ± 0,57 ^{bA}
Pnömosit II	120	0,42 ± 0,52 ^{aB}	0,35 ± 0,54 ^{aB}	0,37 ± 0,56 ^{aB}	0,28 ± 0,47 ^{aB}
Alveolar Makrofaj	120	0,50 ± 0,71 ^{aB}	0,27 ± 0,59 ^{bB}	0,35 ± 0,69 ^{abB}	0,17 ± 0,40 ^{bB}

a,b: Aynı satırda aynı üst karakteri taşıyan gruplar arasında benzerlik vardır, farklı üst karakter taşıyan gruplar arasında istatistiksel düzeyde anlamlı fark vardır (P<0.05) .

A,B: Aynı sütunda aynı üst karakteri taşıyan gruplar arasında benzerlik vardır, farklı üst karakter taşıyan gruplar arasında istatistiksel düzeyde anlamlı fark vardır (P<0.05).

Katalaz immünoreaktivitesinin istatistiksel sonuçlarını incelediğimizde tüm gruplarda en yoğun katalaz immünoreaktivitesinin Pnömosit I hücrelerinde olduğu belirlendi. Pnömosit II ve alveolar makrofajlarda görülen immünoreaktivitenin ise tüm gruplarda istatistiksel açıdan benzer oldukları görüldü (Tablo 5).

Pnömosit I hücrelerinde görülen katalaz immünoreaktivitesi sonuçlarının gruplararası istatistiksel sonuçlarına baktığımızda, en yüksek immunoreaktivitenin kontrol grubunda olduğu belirlendi. Diyabet, diyabet+kurkumin ve sham grupları arasındaki pnömosit I hücrelerindeki katalaz immunoreaktivitesinin benzer olduğu ve yoğunluğunun kontrol grubuna göre daha az olduğu belirlendi. Ancak, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubuna en yakın katalaz immunoreaktivitesinin diyabet+kurkumin grubunda olduğu görüldü.

Pnömosit II hücrelerinde görülen katalaz immünoreaktivitesinin istatistiksel yönden tüm gruplarda benzer olduğu aralarında anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi.

Alveolar makrofajlarda görülen katalaz immunoreaktivitesinin istatistiksel olarak en yoğun kontrol grubunda olduğu belirlendi. Alveolar makrofajlardaki katalaz immunoreaktivitesi açısından diyabet+kurkumin grubu ile kontrol, diyabet ve sham grupları arasında istatistiksel olarak benzerlik bulunurken, kontrol ile diyabet ve sham grupları arasında istatistiksel düzeyde anlamlı fark görüldü. Buna göre alveolar makrofajlardaki katalaz immunoreaktivitesinin kontrol grubuna en yakın diyabet+kurkumin grubunda olduğu belirlendi.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada kurkumin uygulanan diyabetik ratlarda akciğer dokusundaki katalaz lokalizasyonu immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmiştir.

Deneysel Diyabet Oluşturulması

Deneysel diyabet oluşturularak yapılan çalışmalarda sıklıkla streptozotosin (STZ) kullanılmaktadır. Streptozotosin, pankreastaki beta hücrelerinde harabiyete yol açmak suretiyle diyabet oluşumuna sebep olmaktadır (Kurçer ve Karaoğlu 2012). STZ'nin dozu deney hayvanının türüne göre farklılık göstermektedir. Genel olarak yapılan çalışmalarda ratlarda daha düşük dozda STZ ile deneysel diyabet oluşturulurken, farelerde diyabet oluşumu için gerekli doz daha yüksektir. Farelerde yapılan deneysel çalışmalarda diyabet oluşumu için kullanılan STZ, 100 mg/kg (Göçmen ve ark. 2000, Kanitkar ve Bhonde 2004, Bingöl ve Kocamış 2009, Aydoğan ve Bingöl 2018), 150 mg/kg (Yotsumota 1997, Grover ve ark. 2001, Yang ve Wright 2002) ve 200 mg/kg (Wada ve ark. 2001) olmak üzere farklı dozlarda uygulanmıştır. Ratlarda ise deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan STZ dozu daha düşük olup genellikle kullanılan doz 50-55 mg/kg'dır (Deprem ve ark. 2014, Mukherjee ve ark. 1998). Yaptığımız bu çalışmada Deprem ve ark. (2014)'nın yaptıkları çalışma ile uyumlu olarak ratlara ip yolla 50 mg/kg dozda STZ enjekte edilerek deneysel diyabet oluşturuldu.

Young ve Wright (2002), STZ uygulaması sonucu kan glikoz seviyesi 200 mg/dl olan hayvanlarda deneysel diyabetin gerçekleştiğini kabul ettiklerini belirtmişlerdir. Buna paralel olarak Kanitkar ve Bhonde (2004), Bingöl ve Kocamış (2009), Deprem ve Gülmez (2014) de kan glikoz düzeyi 200mg/dl hayvanları yine diyabetik olarak kabul etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer olarak açlık kan şekeri değeri 200 mg/dl ve üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edildi.

Canlı Ağırlığın Değerlendirilmesi

Diyabetin canlı ağırlıkta meydana getirdiği değişiklik ile ilgili farklı çalışmalar bulunmaktadır. Göçmen ve ark. (2000), Wada ve ark. (2001), Nayan ve ark. (2004) diyabet oluşturulup düzenli olarak takip edilen hayvanlarda kilo kaybı görüldüğünü belirtmişlerdir. Yine Kim ve ark. (2006), deneysel diyabet oluşturdukları ratlarda canlı ağırlık yönünden kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark olduğunu gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Bingöl ve Kocamış (2009), Deprem ve Gülmez (2014), Aydoğan ve Bingöl (2018) diyabetin canlı ağırlıkta azalmaya neden olduğunu bildirirken, bu çalışmaların aksine Grover ve ark. (2001), İmeade ve ark. (2002), Haan ve ark. (2005) deneysel diyabetin canlı ağırlığında azalmaya neden olmadığını bildirmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada da Grover ve ark. (2001), İmeade ve ark. (2002), Haan ve ark. (2005)'nin çalışmalarına benzer şekilde deneysel diyabetin canlı ağırlıkta istatistiksel düzeyde anlamlı bir değişiklik yapmadığı görüldü. Kurkumin uygulanan diyabetik grupta da diyabet grubuna benzer şekilde canlı ağırlıkta istatistiksel düzeyde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi. Ancak, diyabet grubunda günlere göre canlı ağırlıklar incelendiğinde 3. günde 0. güne göre hafif bir canlı ağırlık azalmasının olmasına karşın 7., 14., ve 21. günlerde kademeli olarak canlı ağırlıkta artışın olduğu, fakat bu artışın istatistiksel düzeyde anlamlı olmadığı görüldü. Buna karşılık kurkumin uygulanan diyabetik grupta ise günlere göre genel olarak bir azalmanın olduğu yine bu durumun da istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülme de, diyabet grubunun aksine kurkumin uygulanan diyabet grubunda meydana gelen bu canlı ağırlık azalışının kurkuminin bazal metabolizma hızını arttırması nedeniyle (Ergün ve Urhan 2019) meydana geldiği düşünülmektedir.

Histolojik Değerlendirme

Diyabet pek çok dokuda farklı sebeplerden dolayı bir takım bozukluklar meydana getirmektedir. Kaparianos ve ark.(2008), STZ ile oluşturdukları diyabet modelinde akciğer dokusunda bulunan Tip 1 ve 2 pnömositler ile epitel hücrelerinde dejenerasyonlar görüldüğünü ve diyabetik akciğerin bağ doku hücrelerinde de dejenerasyonların olduğunu belirtmişlerdir. Yine benzer şekilde Ofuwe ve ark (1988) tarafından sıçanlarda diyabetik akciğerin bağ doku yapısında dejeneratif değişiklikler

olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalara paralel olarak, bronş ve bronşçuklarda lamina epiteliyalise ait hücrelerde dejenerasyonların olduğu belirlenmiştir.

Deneysel diyabetin akciğer dokusunda inflamasyon meydana getirdiğini bildiren çalışmalar (Xiong ve ark. 2012, Parlak 2018) mevcuttur. Xiong ve ark. (2012), deneysel diyabet oluşturdukları farelerin akciğer dokularında inflamasyon meydana geldiğini belirtmişlerdir. Aynı zamanda diyabetik akciğer dokusunda alveolar makrofaj sayısının kontrol grubuna göre arttığını bildiren çalışmalar (Mo ve ark. 2009, Sunahara ve Martins 2012, Parlak 2018) da bulunmaktadır. Alireza ve ark. (2013), STZ ile deneysel diyabet oluşturulan gruplarda akciğer dokularında polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu geliştiğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da istatistiksel olarak değerlendirilmese de diyabetik gruplarda diğer gruplara nazaran daha yoğun alveolar makrofaj bulunduğu görüldü. Yine yaptığımız çalışmada diyabetik grupta yer yer lenfosit infiltrasyonlarının görülmesi deneysel diyabetin akciğer dokusunda inflamasyona sebep olabileceği düşüncelerini (Xiong ve ark. 2012, Parlak 2018) destekler niteliktedir.

Zhang ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada deneysel diyabette kurkuminin, NF-KB sinyal yolunun aktivasyonunu inhibe ettiğini, oksidatif stres seviyesini azalttığını, diyabet kaynaklı akciğerlerdeki hasarı azalttığını belirtmişlerdir. Kontrol ve kurkumin grubundaki sıçanların ince alveoler duvarları ile normal akciğer yapıları gösterdiği ve dolayısıyla kurkuminin akciğer hasarına engel olduğu bildirilmiştir. Diyabet grubundaki sıçanların akciğer dokularının, alveoler duvar kalınlığında artış görüldüğünü belirtmişlerdir. Ayrıca kurkuminin inflamasyonu azalttığı da belirtilmiştir (Zhang ve ark. 2015). Sun ve ark. (2009), STZ ile oluşturdukları deneysel diyabette yüksek seviyelerde TNF-a, IL-1b ve IL-6 bulunduğunu, kurkumin uygulamasından sonra TNF-a, IL-1b ve IL-6 düzeylerinin önemli oranda azaldığını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, bu moleküllerin azalmasının diyabetli grupta inflamasyona verilen yanıtın gecikmesini önlediği bildirilmiştir.

Popov ve Simionescu (1997), STZ ile oluşturulan deneysel diyabet grubunda, akciğer dokusunun kollajen ipliklerinin miktarında artış olduğunu bildirmişlerdir. Parlak (2018) yaptığı çalışmada deneysel diyabetin akciğer dokusunda kollajen

birikimlerine ve interalveolar septumlarda kalınlaşmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Kida ve ark.(1983)'nın yaptıkları bir çalışmada diyabetik akciğerlerde alveol duvarının kalınlığında %24 oranında artış olduğu belirlenmiştir. Alireza ve ark. (2013) da Kida ve ark.(1983)'nin yaptıkları çalışmaya benzer şekilde diyabetik akciğer dokularında pulmoner fibrozis ve alveolar septum kalınlığında artış olduğunu belirlemişlerdir.

Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara (Kida 1983, Parlak 2018) benzer şekilde deneysel diyabet oluşturulan grupta doku içerisinde kollagen artışının olduğu, interalveoler ve intersakkuler septumlarda kalınlaşmanın olduğu belirlendi. Kurkumin uygulanan diyabetik grupta ise bu bulguların daha az düzeyde olduğu belirlendi. Bu durum, kurkuminin doku düzeyinde diyabetin olumsuz etkilerinin azaltılması konusunda etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Alireza ve ark. (2013) nin, STZ ile deneysel diyabet oluşturdukları grupta, deneklerin akciğer dokularında vasküler değişiklikler olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmaya benzer şekilde Popov ve Simionescu (1997) da diyabet oluşturulmuş akciğer dokularında, kapillar ve venüllerin endotelyumlarında yapısal değişikliklerin geliştiğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise damar duvarlarında herhangi bir yapısal değişiklik dikkati çekmemiştir.

İmmunohistokimyasal Değerlendirme

Akciğer dokusunda katalazın immunohistokimyasal lokalizasyonuna baktığımızda, genel olarak pnömositlerde, makrofajlarda ve bazı kaynaklarda (Bargagli ve ark. 2009) fibroblastlarda yer aldığı bildirilmektedir.

Lakari ve ark. (2000)'nin insanlarda yaptıkları bir çalışmada katalazın akciğer dokusunda alveolar bölgede pnömositler II 'ler ile alveolar makrofajlarda bulunduğunu ve bu enzimin başka bir antioksidan enzim olan MnSOD ile birlikte çeşitli akciğer hastalıklarının ilerlemesine karşı koruyucu bir işleve sahip olduklarını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Betsuyaku ve ark. (2012) farelerin akciğer dokusunda bronşçuk epitelinde katalaz ekspresyonunu belirlemişlerdir. Odajima ve ark. (2010) pulmoner fibrozisde katalazın rolünü inceledikleri çalışmalarında, kontrol grubunda bronşçuk epiteli, tip II epitel hücreleri ile alveolar makrofajlarda katalaz

lokalizasyonunu belirlemişlerdir. Farioli-Vecchioli ve ark. (2003)'nın yaptıkları çalışmada rat akciğerinde katalazın immunohistokimyasal lokalizasyonunun pnömosit II hücreleri ile bronşçuk epitel hücrelerinin sitoplazmalarında olduğunu, pnömosit I hücreleri ile endotel hücrelerinde ise immunoreaktivitenin olmadığını bildirmişlerdir. Magliozi ve ark. (2003) ise yeni doğan ratların akciğer dokusunda katalaz lokalizasyonunun sadece pnömosit II hücrelerinde olduğunu, diğer hücre tiplerinin hiçbirinde katalaz lokalizasyonunun olmadığını bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada, tüm gruplarda akciğer dokusunda katalaz lokalizasyonu incelendiğinde, belirtilen literatürlerden farklı olarak en yaygın katalaz lokalizasyonun pnömosit I hücrelerinde olduğu görüldü. Bunun dışında Lakari ve ark. (2000), Odajima ve ark. (2010), Farioli-Vecchioli ve ark. (2003) ve Magliozi ve ark. (2003)'nin yaptıkları çalışmalarla uyumlu olarak pnömosit II hücrelerinde de katalaz lokalizasyonu belirlendi. Yine Lakari ve ark. (2000) ile Odajima ve ark. (2010)'nın çalışmalarıyla uyumlu, Magliozi ve ark. (2003)'nin çalışmalarıyla uyumsuz olarak alveolar makrofajlarda da katalaz immunoreaktivitesi belirlendi. Betsuyaku ve ark. (2012), Odajima ve ark. (2010) ve Farioli-Vecchioli ve ark. (2003)'nin çalışmalarında belirlediği bronşçuk epitelindeki katalaz lokalizasyonu çalışmamızda belirlenmedi. Yaptığımız çalışmada, Farioli-Vecchioli ve ark. (2003)'nin çalışmaları ile uyumlu olarak endotel hücrelerinde katalaz immunoreaktivitesine rastlanmadı.

Kurkumin - Katalaz İlişkisinin Değerlendirilmesi

Dokulardaki metan dikarboksilik aldehit (MDA) ve myeloperoksidaz (MPO) seviyeleri oksidatif stres derecesini belirler. Superoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (Gpx) ve glutatyon (GSH) organizmada bulunan antioksidanlardır. Antioksidanlar vücuttaki serbest radikalleri temizlemekte ve bunların seviyeleri, antioksidan sistemin gücünü belirlemektedir. Zhang ve ark. (2015) STZ ile oluşturdukları deneysel diyabet grubundaki sıçanların akciğer dokularında kontrol grubuna oranla daha yüksek MDA ve MPO seviyeleri ve düşük SOD ve GSH seviyeleri gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada (Zhang ve ark. 2015), kurkumin uyguladıkları diyabetli sıçanlarda ise MDA ve MPO seviyelerinin belirgin bir şekilde azaldığını, SOD ve GSH içeriklerinin ise, diyabet

grubuyla karşılaştırıldığında belirgin şekilde arttığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlara göre Zhang ve ark (2015) kurkuminin antioksidan kapasiteyi geliştirdiğini, oksidatif stresi azalttığını ve böylece diyabetin neden olduğu akciğer hasarını azalttığını ileri sürmüşlerdir. Waseem ve ark. (2014) da Zhang ve ark (2015)'nin çalışmalarına benzer şekilde, yaptıkları çalışmada akciğer dokularında MDA, MPO, SOD ve GSH içeriklerinin ölçümü sonucu diyabetik sıçanların akciğer dokusunda yüksek düzeyde oksidatif stres görüldüğünü bildirmişlerdir. Kurkumin uygulamasının ise diyabetik hayvanlarda oluşan oksidatif stresi azalttığını ve antioksidan sistemi geliştirdiğini aynı çalışmada bildirmişlerdir. Yine Aydın ve ark. (2014) yaptığı çalışmada kurkuminin diyabetik sıçanların akciğerlerinde stres seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada antioksidan bir enzim olan katalazın pnömosit I hücreleri ve alveolar makrofajlardaki immünoreaktivitesinin kontrol grubuna kıyasla diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi. Bu durum diyabette akciğer dokusunda oksidatif stresin arttığını bildiren çalışmaları (Waseem ve ark. 2014, Zhang ve ark 2015) destekler niteliktedir. Aynı zamanda sham grubunda görülen katalaz immnoreaktivitesindeki azalmanın ise enjeksiyona bağlı oluşan stresten kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Kurkumin uygulanan diyabetik gruptaki katalaz immunoreaktivitesinin diyabet grubuna göre yüksek olmasına karşın aradaki farkın istatistiksel düzeyde anlamlı olmadığı görüldü. Bu durum, kurkuminin antioksidan etkisinin olduğu ancak beklenen düzeyde etki göstermediği düşüncesi ile birlikte bireyler arası farklılıklardan da kaynaklı olabileceği düşüncelerini akla getirmiştir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda kurkumin uygulamasının akciğer dokusuna histolojik etkisi ile akciğer dokusunda katalazın immunohistokimyasal lokalizasyonu incelenmesi amaçlandı. Yapılan histolojik incelemelerde kontrol, sham ve diyabet + kurkumin grupları arasında histolojik yönden çok belirgin farklılıkların görülmediği, ancak diyabet grubunda histolojik olarak çeşitli dejenereasyonların olduğu gözlemlendi.

İmmünohistokimyasal incelemeler sonucunda katalaz immünoreaktivitesinin tüm gruplarda pnömosit I, pnömosit II ve alveolar makrofajlarda olduğu belirlendi. Pnömosit I ve alveolar makrofajlardaki en yüksek katalaz immünoreaktivitesinin kontrol grubunda olduğu, diğer gruplardaki katalaz immünoreaktivitesinin ise istatistiksel açıdan benzer olduğu görüldü. İstatistiksel açıdan anlamlı olmasa da kurkumin uygulanan gruptaki immünoreaktivitenin diyabet grubundan daha yüksek olduğu görüldü.

Sonuç olarak yaptığımız çalışmada, kurkuminin histolojik olarak akciğer dokusunda diyabet kaynaklı hasarları azalttığı ve antioksidan enzimlerin ekspresyonlarına kısmen etki ederek antioksidan savunma sistemine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Tüm bu bilgiler ışığında, kurkuminin antioksidan mekanizmayı etkilemesi ayrıca diyabet kaynaklı doku hasarları üzerinde olumlu etki göstermesi nedeniyle diyabet tedavilerinde kullanılabileceği öngörülmektedir. Ayrıca daha az yan etki göstermesi göz önünde bulundurulduğunda, ilaçlardan daha az toksik etkiye maruz kalınacağından diyabet hastalarının tedavilerinde kullanılmasının umut vaat edici olduğu düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

Adinortey MB: Biochemicophysiological mechanisms underlying signs and symptoms associated with Diabetes Mellitus. *Advances in Biological Research*, 11(6): 382–390, 2017.

Akdemir N, Birol L (Eds): İç Hastalıkları ve Hemşirelik Bakımı. s. 707-725. Sistem Ofset Baskı, Ankara, 2005.

Akkuş M: Solunum Sistemi Gelişimi, <https://www.dicle.edu.tr/Contents/8200a0f2-70fb-466c-8287-f0c491cb372e.pdf>. Erişim Tarihi: 03.06.2019.

Alfadhli EM: Gestational Diabetes Mellitus. *Saudi Medical Journal*, 36(4): 399-406, 2015.

Alireza S, Leila N, Siamak S, Mohammad-Hasan KA, Behrouz I: Effects of vitamin E on pathological changes induced by diyabetes in rat lungs. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 185:593-599, 2013.

Altınışık M: Hücre Enerji Metabolizması. <https://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-20.pdf> Erişim tarihi: 02.06.2019.

American Diabetes Association: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 36 (Supplement 1): s. 67-74, 2013.

Attia AA: Histological and Electron Microscopic Studies of the Effect of β -Carotene on the Pancreas of Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetic Rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12(4): 301-314, 2009.

Aydin MS, Caliskan A, Kocarslan A et al. Intraperitoneal curcumin decreased lung, renal and heart injury in abdominal aorta ischemia/ reperfusion model in rat. *Int. J. Surg.* 12: 601–5, 2014.

Aydoğan A, Bingöl S.A: Examination of the immunohistochemical localization and gene expression by RT-PCR of the oxytocin receptor in diyabetik and non-diyabetik mouse testes. *Iranian Journal Of Basic Medical Sciences*. 21(7):695, 2018.

Bargagli E, Olivieri C, Bennett D, Prasse A, Muller-Quernheim J, Rottoli P: Oxidative stress in the pathogenesis of diffuse lung diseases: a review. *Respir Med*, 103(9):1245-56, 2009.

Bayır S: Streptozotosin ile Oluşturulmuş Diyabetik Sıçanlarda Beta Glukanın Antioksidan ve İmmunoprotektif Etkisi. *Trakya Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Edirne*, 2014.

Baz B, Riveline JP, Gautier JF: Endocrinology of Pregnancy: Gestational Diabetes Mellitus: Definition, aetiological and clinical aspects. *European Journal of Endocrinology*, 174(2): 43-51, 2016.

Betsuyaku T, Fuke S, Inomata T, Kaga K, Morikawa T, Odajima N, Kirk AT, Nishimura M: Bronchiolar epithelial catalase is diminished in smokers with mild COPD, *European Respiratory Journal*. 42 (1): October 2012.

Bingöl S.A ve Kocamış H: Sağlıklı ve Diyabet Oluşturulmuş Farelerin Akciğer Dokusunda Katalaz Enziminin RT-PCR ile Gen ve İmmunohistokimyasal Olarak Protein Ekspresyonu. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16(5): 825-834, 2009.

Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diyabetic complications. *Nature* 414: 813–20, 2001.

Buğdacı MS: Dahiliye. s.399-476. *Klinisyen, İstanbul*, 2008.

Chiefari E, Arcidiacono B, Foti D, Brunetti A: Gestational Diabetes Mellitus: An updated overview. *Journal of Endocrinological Investigation*, 40(9): 899-909,2017.

Damm P, Houshmand-Oeregaard A, Kelstrup L, Lauenborg J, Mathiesen ER, Clausen TD: Gestational Diabetes Mellitus and long-term consequences for mother and offspring: A view from Denmark. *Diabetologia*, 59(7): 1396-1399, 2016.

Dance-Barnes ST, Kock ND, Moore JE, Lin EY, Mosley LJ, D'Agostino Jr RB, Thomas PM, Ajan JT, Miller MS: Lung tumor promotion by curcumin. *Carcinogenesis*, 30(6): 1016-1023, 2009.

Demirbaş Ö, Nas MS: Adsorption and electrokinetic properties of catalase onto perlite samples. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, 13(2): 1-14, 2016.

Deprem T, Gülmez N: İmmünohistochemical localization of glutathione peroxidase 1 enzyme and its gene expression by RT-PCR in the liver tissue of healthy and diyabetic mice. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 38: 363-369, 2014.

Devaraj S, Glaser N, Griffen S, Wang-Polagruto J, Miguelino E, Jialal I: Increased monocytic activity and biomarkers of inflammation in patients with type 1 diyabetes. *Diyabetes*, 55: 774-779, 2006.

Ergün C, Urhan M: Kurkuminin Metabolik Sendrom Bileşenleri Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci*, 31(1):52-62, 2019.

Esmer H: Solunum Yolları ve Akciğerler, <https://huseyinesmer.com/solunum-yollari-ve-akcig%CC%86erler-histoloji-ve-embriyoloji-ders-notu-tip-fakultesi-donem-2/>. Erişim Tarihi: 04.06.2019.

Farioli-Vecchioli S, Nardacci R, Falciatori I, Stefanini S: Catalase immunocytochemistry allows automatic detection of lung type II alveolar cells. *Histochem Cell Biol*, 115(4):333-9, 2003.

Fronzo AR, Ferrannini E, Groop L, Henry R, Herman WH, Holst JJ, Hu FB, Kahn CR, Raz I, Shulman GI, Simonson DC, Testa MA, Weiss R: Type 2 Diabetes Mellitus. *Nature Reviews Disease Primers* 1:2015, doi: 15019.

Göçmen C, Seçilmiş A, Kumcu EK, Ertuğ PU, Önder S, Dikmen A: Effect of vitamin E and sodium selenate on neurogenic and the lialrelaxion of corpuscavenosumint the diyabetic Mouse. *European Journal of Pharmacology*. 398:93-98,2000.

Grover JK, Vats V, Rathi S, Dawar R: Traditional indian antidiabetic plants attenuate progression of renal damage in steptozotocin induce diyabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 76:233-238,2001.

Gupta K, Taneja D, Aggarwal M, Gupta R: Left upper lobar agenesis of lung: A rare case report. *Lung India: official organ of Indian Chest Society*, 34(3): 302-304, 2017.

Haan JB, Stefanovic N, Paterson DN, Scurr LL, Croft KD, Mori TA: Kidney expression of glutathione peroxidase-1 is not protective a gain ststreptozotosin induced diyabetic nephropathy. *Am .,J. PhysiolRenal Physiol*, 289:544-551,2005.

He Y, Yue Y, Zheng X, Zhang K, Chen S, Du Z: Curcumin, inflammation, and chronic diseases: How are they linked?. *Molecules*, 20(5): 9183-9213, 2015.

Hewlings S, Kalman D: Curcumin: a review of its' effects on human health. *Foods*, 6(10): 92-103, 2017.

Imaeda A, Kaneko T, Aoki T, Konko Y, Negase H: DNA damage and the effect of antioxidants in streptozotosin-treated mice. *Food and Chemical Toxicology*, 40:979-987,2002.

- Jurenka JS. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: A review of preclinical and clinical research. *Altern. Med. Rev.* 14: 141–53, 2009.
- Kanitkar M, Bhonde R: Existence of islet generating factors with in the pancreas. *The Review of Diabetic Studies*, 1(4):185, 2004.
- Kaparianos A, Argyropoulou E, Sampsonas F, Karkoulas K, Tsiamita M, Spiropoulos K: Pulmonary complications in diabetes mellitus. *Chronic respiratory disease*, 5:101-108, 2008.
- Karamanou M, Protogerou A, Tsoucalas G, Androutsos G, Poulakou-Rebelakou E: Milestones in the history of Diabetes Mellitus: The main contributors. *World Journal of Diabetes*, 7(1): 2016, doi: 104239.
- Kasi PD, Tamilselvam R, Skalicka-Woźniak K, Nabavi SF, Daglia M, Bishayee A, Toroudi HP, Nabavi, S. M: Molecular targets of curcumin for cancer therapy: An updated review. *Tumor Biology*, 37(10): 13017-13028, 2016.
- Katsarou A, Gudbjörnsdóttir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, Jacobsen ML, Lernmark Å: Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 3: 2017, doi: 17016.
- Khan P, Qayyum N, Malik F, Khan T, Khan M, Tahir A: Incidence of anxiety and depression among patients with Type 2 Diabetes and the predicting factors. *Cureus*, 11(3): 2019, doi:107759.
- Kida K, Utsuyama M, Takizawa T, Thurlbeck WM: Changes in lung morphologic feature and elasticity caused by streptozotocin-induced diabetes mellitus in growing rats. *American Review of Respiratory Disease*, 128:125-131, 1983.
- Kim NK, Stankovic M, Cushman TT, Goldstein I, Munarriz R, Traish AM: Streptozotocin-induced diabetes in the rat is associated with changes in vaginal hemodynamics, Morphology and Biochemical Markers. *BMC Physiology*, 6(4):1-9, 2006.
- Knip M, Siljander H: The role of the intestinal microbiota in Type 1 Diabetes Mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 12(3): 154-167, 2016.
- Koç B: Tip 1 Diyabetli Çocuk ve Adölesanların Beslenme Örüntülerinin Metabolik Profilleri Üzerine Etkileri. *Acıbadem Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul*, 2016.
- Köseoğlu Ö: Tip 2 Diyabetik Bireylerde Beslenme Eğitiminin Diyabet Durumu ve Beslenme Alışkanlıklarına Etkisi. *Başkent Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara*, 2015.
- Kurçer Z, Karaoğlu D: Deneysel diyabet modellerinde Alloksan ve Streptozotocin kullanımı. *Turkish Journal of Endocrinology & Metabolism*, 16(2): 34-40, 2012.
- Lakari E, Paakko P, Pietarinen RP, Kinnula LV: Manganese Superoxide Dismutase and Catalase Are Coordinately Expressed in the Alveolar Region in Chronic Interstitial Pneumonias and Granulomatous Diseases of the Lung. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 161. Pp. 615–621, 2000.
- Lakhtakia R: The history of Diabetes Mellitus. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 13(3): 368-370, 2013.
- Lenzen S: The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2): 216-226, 2007.
- Lopez-Lazaro M. Anticancer and carcinogenic properties of curcumin: Considerations for its clinical development as a cancer chemo preventive and chemotherapeutic agent. *Mol. Nutr. Food Res.* 52 (Suppl. 1): S103–27, 2008.

- Magliozzi R, Nardacci R, Scarsella G, Carlo DV, Stefanini S: Effects of the plasticiser DEHP on lung of newborn rats: catalase immunocytochemistry and morphometric analysis, *Histochem Cell Biol*, 120:41–49,2003.
- Magro M, Campos R, Baratella D et al. A magnetically drivable nanovehiclef or curcumin with antioxidant capacity and MRI relaxation properties. *Chemistry*; 20: 11913–20, 2014.
- Malek M: Tip 2 Diyabetli Hastalara Verilen Beslenme Eğitiminin Beslenme Bilgi ve Alışkanlıkları Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Ankara Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2010.
- Mirzaei H, Naseri G, Rezaee R, Mohammadi M, Banikazemi Z, Mirzaei HR, Salehi H, Peyvandi M, Pawelek JM, Sahebkar, A: Curcumin: A new candidate for melanoma therapy?. *International Journal of Cancer*, 139(8): 1683-1695, 2016.
- Mo Y, Wan R,Wang J, Chien S, Tollerud DJ, Zhang Q: Diyabetes is associated with increased sensitivity of alveolar macrophages to urban particulate matter exposure. *Toxicology*, 262: 130-137, 2009.
- Moore KL, Persaud TVN, Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Dalçık H, Yıldırım M. (Çeviren). Ankara: Nobel Tıp Kitabevi. 2009.
- Mukherjee B, Anbazhagan S, Roy A, Ghosh R: Novel implications of the potential role of selenium on antioxidant status in streptozotocin-induced diyabetic mice. *Biomedand Pharmacother*, 52:89-95,1998.
- Nayon T, Yalçinkaya AS, Şekeroğlu MR, Dülger H, Balaharoğlu R: Antioxidant effect of pentoxifylline and melatonin in the alloxane induced diyabetic mice. *Türk Biyokimya Dergisi*.20(4):268-272,2004.
- Odajima N, Betsuyaku T, Nagai K, Moriyama C, Wang DH, Takigawa T, Ogino K, Nishimura M: The Role of Catalase in Pulmonary Fibrosis, Odajima et al. *Respiratory Research* .11:183, 2010.
- Ofuwe AF, Kida K, Thurlbeck WM: Experimental diyabetes and the lung. *Am Rev Respir Dis*, 137: 162-166, 1988.
- Oh B, Kim SY, Kim DJ, Lee JY, Lee JK, Kimm K, Park BL, Shin HD, Kim TH, Park EK, Koh JM, Kim GS. Associations of catalase gene polymorphismswith bone mineral densityand bone turnover markers in postmenopausalwomen. *JM ed Genet*.44(1):1-6. 2007.
- Panda AK, Chakraborty D, Sarkar I, Khan T, Sa G: New insights into therapeutic activity and anticancer properties of curcumin. *Journal of Experimental Pharmacology*, 9: 31-45, 2017.
- Parlak SN: Deneysel Tip I Diyabet Oluşturulan Fare Akciğer Dokularında Görülen Histopatolojik Değişimler ve Endoplazmik Retikulum Stresinin İmmunohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi. Kafkas Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kars, 2018.
- Pociot F, Lernmark Å: Genetic risk factors for Type 1 Diabetes. *The Lancet*, 387(10035): 2331-2339,2016.
- Popov D, Simionescu M: Alterations of lung structure in experimental diyabetes,and diyabetes associated with hyperlipidaemia in hamsters. *European Respiratory Journal*, 10: 1850-1858, 1997.
- Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, Ramirez-Tortosa C, Ramirez-Tortosa M: Curcumin and health. *Molecules*, 21(3): 264, 2016.
- Sadler T.W. Langman's Medikal Embriyoloji 11. Baskı, A.C.Başaklar (Çeviren). Ankara: Palme Yayıncılık, 2011.

Sánchez MP, Prieto C, Mujica E, Vergara K, Valencia E, Villalobos E, Medina M, Parra M, D'Addosio R, Hoedebecke K, Rodríguez JE, Bermudez V: Association between +45T>G adiponectin polymorphism gene and Type 2 Diabetes Mellitus and Metabolic Syndrome in a Venezuelan population. *F1000 Research*, 8 (292): 2019, doi: 168901.

Sandler M: Is the lung a 'target organ' in diabetes mellitus. *Arch Intern Med*, 150:1385-1388, 1990.

Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, Karsidag K, Genc S, Telci A, Canbaz B, Türker F, Yilmaz T, Çakır B, Tuomilehto J: TURDEP-II Study Group. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol*, 28(2): 169-180, 2013.

Schittny JC: Development of the lung. *Cell and Tissue Research*, 367(3): 427-444, 2017.

Sun CK, Lee FY, Sheu JJ et al. Early combined treatment with cilostazol and bone marrow-derivedendo the lial progenitor cell smarkedl yattenuates pulmonary arterial hypertension in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 330: 718–26, 2009.

Sun J, Yang D, Li S, Xu Z, Wang X, Bai C: Effects of curcumin or dexamethasone on lung ischaemiareperfusion injury in rats. *European Respiratory Journal*, 33(2): 398-404, 2009.

Sunahara KK, Martins JO: Alveolar macrophages in diabetes: friends or foes? *Journal Of Leukocyte Biology*, 91: 871-876, 2012.

Uzun K, Özbay B, Arslan H, Gülsün A: Akciğer Agenezisi: Olgu Sunumu. *Van Tıp Dergisi*, 4(3): 180-182, 1997.

Vetrano AM, Heck DE, Mariano TM, Mishin V, Laskin DL, Laskin JD: Characterization of the oxidase activity in mammalian catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 280(42): 35372-35381, 2005.

Wada J, Zhang H, Tsuchiyama Y, Hiragushi K, Hida K, Shikata K: Gene expression profile in streptozotocin-induced diabetic mice kidney under going glomerulosclerosis. *Kidney International*. 59:1363-1373, 2001.

Warburton D, Perin L, Defilippo R, Bellusci S, Shi W, Driscoll B: Stem/progenitor cells in lung development, injury repair, and regeneration. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 15: 703-706, 2008.

Waseem M, Pandey P, Tomar B, Raisuddin S, Parvez S. Ameliorative action of curcumin in cisplatin-mediated hepatotoxicity: An in vivo study in Wistar rats. *Arch. Med. Res.* 45: 462–8, 2014.

Xiong X, Wang W, Wang L, Lin L: Diabetes increases inflammation and lung injury associated with protective ventilation strategy in mice. *International Immunopharmacology*, 13: 280-283, 2012.

Xu F, Diao R, Liu J, Kang Y, Wang X, Shi L. Curcumin attenuates staphylococcus aureus-induced acute lung injury. *Clin. Respir. J.* 9: 87–97, 2015.

Xu F, Lin SH, Yang YZ, Guo R, Cao J, Liu Q. The effect of curcumin on sepsis-induced acute lung injury in a rat model through the inhibition of the TGF-beta1/SMAD3 pathway. *Int. Immunopharmacol.* 16:1–6, 2013.

Yallapu MM, Nagesh PKB, Jaggi M, Chauhan SC: Therapeutic applications of curcumin nanoformulations. *The AAPS Journal*, 17(6): 1341-1356, 2015.

Yang H, Wright JR: Human β cells are exceeded glycaemia is tantto streptozotocin in vivo. *Endocrinology*. 143(7): 2941-2945, 2002.

Yotsumoto T, Naitoh T, Shikada K, Tanaka S: Effects of specific agonist of angiotensin II receptors and captopril on diabetic nephropathy in mice. *Jpn J. Pharmacol*, 75:59-64,1997.

Yüksek Emek G: Akciğer Adenokarsinomlarının, 2011 Uluslararası Akciğer Karsinomları Çalışma Grubu (Iaslc/Ats/Ers)'Nun Sınıflandırmasına Göre Yeniden Sınıflandırılması ve Olguların Gözden Geçirilmesi. Mersin Üniv, Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Mersin, 2015.

Yüzügüllü Y, Ögel ZB: Çift aktiviteli katalaz-fenol oksidazının ve diğer katalazların gıda sanayisindeki önemi. *Gıda*, 38(2): 111-118, 2013.

Zaccardi F, Webb DR, Yates T, Davies MJ: Pathophysiology of Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus: A 90-year perspective. *Postgraduate Medical Journal*, 92(1084): 63-69, 2015.

Zamocky M, Furtmüller PG, Obinger C: Evolution of catalases from bacteria to humans. *Antioxidants & Redox Signaling*, 10(9): 1527-1548, 2008.

Zhang DW, Fu M, Gao SH, Liu JL. Curcumin and diabetes: a systematic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 2013. doi: 101155.

Zhang F, Yang F, Zha OH ve Yunxia A; Curcumin alleviates lung injury in diabetic rats by inhibiting nuclear factor- κ B pathway. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 42: 956-963, 2015.

Zheng Y, Ley SH, Hu FB: Global aetiology and epidemiology of Type 2 Diabetes Mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(2): 88-98, 2018.

8. ÖZGEÇMİŞ

1. **Adı Soyadı** : Sadettin EKİNCİ

2. **Doğum Tarihi** : 25.02.1982

3. **Doğum Yeri** : Kars/ Arpaçay

4. **Öğrenim Durumu** : Lisans

Derece	Üniversite	Alanı	Yılı
Lise	Kars Cumhuriyet Lisesi	Fen bilimleri	1995-1998
Lisans	Atatürk Üniversitesi	Biyoloji	2003-2007
Yüksek Lisans	Kafkas Üniversitesi	Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	2013- 2019



KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(KAÜ-HADYEK)

Sayı: 2019/45
 Konu: Araştırma

26.03.2019

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Serap KORAL TAŞÇI
 Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi - KARS

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK)'nce değerlendirilip çalışma onayı istenen **KAÜ-HADYEK/2019-045** Kodlu ve "**Kurkumin Uygulanan Diyabetik Ratların Akciğer Dokusunda Katalaz Lokalizasyonun İmmunohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi**" adlı araştırmanızın KAÜ-HADYEK yönergesi ilkelerine uygun olarak planlandığı, projenin 2 ay süreli ve KAÜ-HADYEK/2017-088 kodlu araştırma kapsamında daha önce alınıp uygun koşullarda saklanan 24 adet rat (Sprague Dawley) dokusu üzerinde yürütülmesinin hayvan kullanım etiği ve mevzuatı açısından "**UYGUN**" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Saygılarımla.

Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN
 KAÜ-HADYEK Başkanı

EK:

1. Etik Kurul Kararı (1 Adet)

Yazışma Adresi

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
 (KAÜ-HADYEK) Başkanlığı
 Kafkas Üniversitesi Rektörlüğü, 36100 KARS

Tel: 0 474 2251158 – 2426836
 Faks: 0 474 2251161
 E-Posta: hadyek@kafkas.edu.tr



KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(KAÜ-HADYEK)
KURUL KARARLARI

TOPLANTI TARİHİ:	26.03.2019	TOPLANTI SAYISI:	2019/3
Araştırmanın Kodu:	KAÜ-HADYEK/2019-045	Başvuru Tarihi:	22.03.2019
Araştırmanın Adı:	<i>Kurkumin Uygulanan Diyabetik Ratların Akciğer Dokusunda Katalaz Lokalizasyonun İmmunohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi</i>		

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN'ın başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

KARAR 045

KAÜ-HADYEK'e müracaat eden Dr. Öğr. Üyesi Serap KORAL TAŞÇI'nın "Kurkumin Uygulanan Diyabetik Ratların Akciğer Dokusunda Katalaz Lokalizasyonun İmmunohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi" başlıklı 22.03.2019 tarih ve KAÜ-HADYEK/2019-045 kodlu başvurusu görüşüldü.

Yapılan görüşmeler sonucunda; Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK)'nce değerlendirilip çalışma onayı istenen ve yukarıda adı belirtilen araştırma projesi KAÜ-HADYEK Yönergesi kapsamında değerlendirilmiş olup, projenin 2 ay süreli ve KAÜ-HADYEK/2017-088 kodlu araştırma kapsamında daha önce alınıp uygun koşullarda saklanan 24 adet rat (Sprague Dawley) dokusu üzerinde yürütülmesinin hayvan kullanım etiği ve mevzuatı açısından "UYGUN" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN Başkan			
Doç. Dr. Ali YİĞİT Başkan Yardımcısı	İMZA	Dr. Öğr. Üyesi Ekin Emre ERKİLİÇ Üye	İMZA
Doç. Dr. Sevda ELİŞ YILDIZ Üye	İMZA	Dr. Öğr. Üyesi Hamit USLU Üye	İMZA
Dr. Öğr. Üyesi Damla BINNETOĞLU Üye	İMZA	Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE Üye	İZİNLİ
Dr. Öğr. Üyesi Mustafa SERTÇELİK Üye	İMZA	Soner KAÇAN Üye	İMZA
Dr. Öğr. Üyesi Sezen HARMANKAYA Üye	İMZA	Fuat İNCESU Üye	İMZA
Dr. Öğr. Üyesi Cihan ÇİTİL Üye	İMZA		
ASLININ AYNIDIR 26.03.2019  Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN KAÜ-HADYEK Başkanı			