

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL TİP 1 DİYABET OLUŞTURULAN FARE AKCİĞER
DOKULARINDA GÖRÜLEN HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİMLER VE
ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Seçil Nazife PARLAK

DANIŞMAN

Prof. Dr. Şahin ASLAN

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2018-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Doktora öğrencisi Seçil Nazife PARLAK tarafından hazırlanmış olan “**Deneysel Tip 1 diyabet oluşturulan fare akciğer dokularında görülen histopatolojik değişimler ve endoplazmik retikulum stresinin immunohistokimyasal yöntemlerle incelenmesi**” adlı tez çalışması, yapılan tez savunması sonunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 19.06.2018

Adı Soyadı _____ :

Başkan: Prof.Dr.İsmet TAKÇI

Üye: Prof Dr.Şahin ASLAN

Üye: Prof.Dr.Ebru Karadağ SARI

Üye: Dr.Öğr.Üyesi Tuba DEMİRCİ

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Semin GEDİKLİ

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

Doç.Dr.Duygu KAYA
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez dönemim boyunca bilgi ve deneyimleri ile bana yön veren, beni yetiştiren, bana destek veren, sabrı, ilgisi ve manevi desteği ile yanımda olan çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Şahin ASLAN'a teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim sayın hocalarım Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI'ya, Doç. Dr. Turgay DEPREM'e, Doç. Dr. Sevda Eliş YILDIZ'a, Dr. Öğretim Üyesi Serap KORAL TAŞÇI'ya, Dr. Öğretim Üyesi Seyit Ali BİNGÖL'e teşekkür ederim. Ayrıca deney aşamasındaki katkılarından dolayı Dr. Öğretim Üyesi Seyit Ali BİNGÖL'e ve yüksek lisans öğrencisi Ayşe AYDOĞAN'a teşekkür ederim. Histopatolojik değerlendirmemizde danıştığımız Dr. Öğretim Üyesi Betül GÜNDOĞDU'ya teşekkür ederim. Labaratuvar çalışmalarım esnasında yardımcı olan doktora öğrencisi Serap İLHAN'a, her zaman maddi ve manevi desteği ile yanımda olan eşim Mehmet PARLAK'a, sevgili aileme ve adını yazamadığım yardım eden herkese çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	II
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
RESİMLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
ÖZET.....	X
SUMMARY	XI
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Diyabet	2
2.1.1. Diyabetin Tarihçesi	2
2.1.2. Diyabetin Epidemiyolojisi.....	3
2.1.3. Diyabetin Tanı ve Sınıflandırılması	3
2.1.4. Diyabetin Komplikasyonları	3
2.1.5. Tip 1 Diyabet.....	3
2.1.6. Tip 2 Diyabet.....	4
2.1.7. Gestasyonel Diyabet, Spesifik Diyabet Tipleri ve Prediyabet	4
2.2. Akciğer	5
2.2.1. Akciğer Dokusunun Anatomisi	5
2.2.2. Akciğer Dokusunun Embriyolojisi.....	6
2.2.3. Akciğer Dokusunun Fizyolojisi.....	6
2.2.4. Akciğer Dokusunun Histolojisi	7
2.2.5. Akciğer Dokusu ve Tip 1 Diyabet Arasındaki İlişki	10
2.3. Endoplazmik Retikulum.....	11
2.4. ER Stresi.....	12

2.5. Glukozla düzenlenen protein 78 (Grp 78).....	13
2.6. Nükleer faktör kappa-B (NF-kB)	14
2.7. Kaspaz 3	15
2.8. ER stresi, Tip 1 Diyabet ve Akciğer İlişkisi.....	16
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. Deney Grupları	17
3.2. Deneysel Prosedür	17
3.2.1. STZ ile Deneysel Diyabet Oluşturulması.....	17
3.3. Histopatolojik İncelemeler	18
3.4. İmmünohistokimyasal İncelemeler	18
3.5. İstatistiksel Analiz	19
4. BULGULAR.....	20
4.1. Histopatolojik Bulgular	20
4.1.1. Kontrol ve Sham Grubu	20
4.1.2. STZ Diyabet Grubu	21
4.2.İmmünohistokimyasal Bulgular	27
4.2.1. GRP 78 İmmünoreaktivitesi	27
4.2.2. NF-kB İmmünoreaktivitesi.....	32
4.2.3. Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi	37
4.3. İstatiksel bulgular	42
5. TARTIşMA	45
6. SONUÇ	54
7. ÖNERİLER.....	55
KAYNAKLAR	56
EK 1: ZGEÇMİş	63
EK 2: ETİK KURUL	64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**SİMGE****AÇIKLAMA**

Ca²⁺	Kalsiyum
°C	Santigrat Derece
DI	Desilitre
Gr	Gram
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
mg	Miligram
µm	Mikrometre
pH	Asitlik
%	Yüzde

KISALTMA**AÇIKLAMA**

ATF4	Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4
ATF6	Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6
ABC	Avidin-Biotin Peroksidaz Kompleks
AGER	Granülsüz Endoplazmik Retikulum
BALT	Bronşlarla İlişkili Lenfoid Doku
DAB	Diaminobenzidine
eIF2α	Ökaryotik translasyon başlatıcı faktör 2 α
ER	Endoplazmik Retikulum
GER	Granüllü Endoplazmik Retikulum
Grp	Glukozla Düzenlenen Protein
Grp 78	Glukozla Düzenlenen Protein 78
HSP70	Isı Şok Protein 70
H&E	Hematoksilen ve Eozin
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IkB	İnhibitör Kappa-B
IRE1	İnositol gerektiren kinaz 1

IRE1α-TRAF2	IRE1 α - tümör nekrozu faktörü reseptör ilişkili faktör-2
İ.R	İmmünoreaktivite
JNK	c-Jun NH2-Terminal Kinaz
NF-kB	Nükleer faktör kappa-B
PBS	Fosfat Buffer Salin
PERK	Protein Kinaz RNA Benzeri ER Kinaz
PERK-eIF2α	PERK-Ökaryotik translasyon başlatıcı faktör 2 α
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
STZ	Streptozotocin
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör- α
TRAF-2	TNF Reseptör İlişkili Faktör-2
UPR	Katlanmamış protein cevabı
XBP1	X-box bağlanma proteini 1

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Tüm Gruplarda Grp 78 İmmünoreaktivitesi Yarıkantitatif Bulgularının İstatistiksel Sonucunu gösterir grafik.....	42
Şekil 2. Tüm Gruplarda NF-kB İmmünoreaktivitesi Yarıkantitatif Bulgularının İstatistiksel Sonucunu gösterir grafik.....	43
Şekil 3. Tüm Gruplarda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi Yarıkantitatif Bulgularının İstatistiksel Sonucunu gösterir grafik.....	44



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü	20
Resim 2. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü	21
Resim 3. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü.....	22
Resim 4. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü	23
Resim 5. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü.....	23
Resim 6. Sham Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü	24
Resim 7. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü.....	24
Resim 8. Sham Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü	25
Resim 9. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü.....	25
Resim 10. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü.....	26
Resim 11. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü.....	26
Resim 12. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunda GRP 78 İmmünoreaktivitesi.....	28
Resim 13. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Grp 78 immünoreaktivitesi	28
Resim 14. Sham Grubu Akciğer Dokusunda Grp 78 İmmünoreaktivitesi.....	29
Resim 15. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Grp 78 İmmünoreaktivitesi.....	29
Resim 16. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Grp 78 İmmünoreaktivitesi.....	30
Resim 17. Pozitif Kontrol Karaciğer Dokusu Grp 78 İmmünoreaktivitesi.....	30
Resim 18. Negatif Kontrol Akciğer Dokusu Grp 78 İmmünoreaktivitesi.	31
Resim 19. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi	33
Resim 20. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi.....	33
Resim 21. Sham Grubu Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi.....	34
Resim 22. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi.....	34
Resim 23. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi.....	35
Resim 24. Pozitif Kontrol Karaciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi.....	35
Resim 25. Negatif Kontrol Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi.	36
Resim 26. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi.....	38
Resim 27. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi ..	38
Resim 28. Sham Grubu Akciğer Dokusunda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi.	39
Resim 29. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi ..	39
Resim 30. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi. .	40
Resim 31. Pozitif Kontrol Karaciğer Dokusu Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi	40
Resim 32. Negatif Kontrol Akciğer Dokusu Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi.....	41

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Gruplar arası Grp 78 İmmünoreaktivitesinin Semikantitatif Analiz Sonuçları.	27
Tablo 2. Gruplar arası NF-kB İmmünoreaktivitesinin Semikantitatif Analiz Sonuçları.	32
Tablo 3. Gruplar arası Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesinin Semikantitatif Analiz Sonuçları.	37



ÖZET

Çalışmamızda, Tip 1 diyabetin akciğer dokusu üzerine etkilerini histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırmak ve akciğer dokusunda ER stresine yol açıp açmadığını belirlemek amaçlandı. Bu amaçla deneyde Balb\c türü, 2 aylık, ortalama 40gr, 18 adet erkek fare kullanıldı. Fareler; Kontrol grubu (n=6), Sham grubu (n=6), ve Streptozotocin (STZ) Diyabet grubu (n=6) olmak üzere, rastgele ve sistematik yöntemle, üç gruba ayrıldı. STZ diyabet grubuna ait farelere tek doz 100 mg/kg STZ intraperitoneal enjeksiyon uygulanarak diyabet oluşturuldu. Deneysel sürecin sonunda alınan akciğer dokuları üzerinde histopatolojik, immünohistokimyasal ve semikantitatif incelemeler yapıldı. Histopatolojik incelemelerde; STZ diyabet grubu, kontrol ve sham grubu ile kıyaslandığında bronş, bronşial ve alveolar epitel hücrelerinde dejenerasyon ve apoptotik değişiklikler, damar duvarlarında dejenerasyon izlendi. Ayrıca yer yer kapiller dilatasyonu ve inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu izlendi. İmmünohistokimyasal incelemelerde; STZ diyabet grubunda kontrol ve sham grubuna göre Clara hücreleri, endotel hücreleri, Tip 1 ve 2 pnömositler ve alveolar makrofajlarda ER stresinin göstergesi olan Grp 78 immünoaktivitesinde önemli derecede artış gözlemlendi. Ayrıca, bu hücrelerde, ER stresi ile tetiklenebilen inflamatuvar transkripsiyon faktörü NF-kB ve apoptozisin belirleyici proteini kaspaz 3 immünoaktivitesinde de önemli derecede artış saptandı. Bu sonuçlardan yola çıkarak Tip 1 diyabetin akciğer dokusunda ER stresine yol açabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Akciğer, diyabet, endoplazmik retikulum stresi, fare, Grp 78, kaspaz 3, NF-kB.

SUMMARY

In our study, it was aimed to investigate the effects of type 1 diabetes on lung tissue by histopathologic and immunohistochemical methods and to determine whether it causes ER stress in lung tissue. For this purpose, Balb/c type, 2 months old, average 40gr, 18 male mice were used in the experiment. Mice were divided into three groups randomly. These groups were Control group (n = 6), Sham group (n = 6), and Streptozotocin (STZ) diabetes group (n = 6). Diabetes was induced by intraperitoneal injection of a single dose of 100 mg/kg STZ to the STZ diabetes group. At the end of the experimental process histopathological, immunohistochemical and semiquantative examinations were performed on the lung tissues. In histopathological examinations when STZ diabetes group compared with control and sham groups, degeneration and apoptotic changes in epithelial cells of bronchia, bronchioles and alveoli and degeneration in vessels' walls were detected. Also, dilatation of capillaries and infiltration of inflammatory cells were occurred in some areas. Immunohistochemical studies showed in the STZ diabetic group according to the control and sham group a significant increase in Grp 78 immunoreactivity which is indicator of ER stress that was seen in Clara cells, endothelial cells, type I and II pneumocytes and alveolar macrophages. Also, in these cells, a significant increase in the immunoreactivity of NF-kB which is an inflammatory transcription factor and in the caspase-3 immunoreactivity which shows formation of apoptosis they can also be induced by ER stress were observed. From these results, it has been thought that type I diabetes may lead to ER stress in the lung.

Key words: Caspase 3, diabetes, endoplasmic reticulum stress, Grp 78, lung, mouse, NF-kB

1.GİRİŞ

Diyabet hastalığı insülin eksikliği, yokluğu ya da dokularda oluşan insülin direnci gibi nedenlerle gelişen yüksek kan şekeri ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Akut ve kronik komplikasyonları ile insan yaşam kalitesini olumsuz etkileyen bu kronik hastalık hem dünyada hem de ülkemizde yaygın olarak görülür. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF), en az 366 milyon kişinin diyabet olduğunu ve bu sayının 2030 yılında yaklaşık 552 milyon olacağını belirtmiştir (Wild ve ark. 2004, Whiting ve ark. 2011). Türkiye’de yaklaşık 7,9 milyon insan diyabet hastasıdır (Whiting ve ark. 2011). Bu hastalığın dünyada ve ülkemizde prevalansı hızlı şekilde artmaktadır (Tao ve ark. 2015).

Endoplazmik retikulum (ER) organeli, hücrelerde protein ve lipit sentezi, karbonhidrat, lipit ve yağ metabolizması, detoksifikasyon, kalsiyum depolanması ve sinyalleşme gibi çok önemli görevleri olan bir organeldir (Borgese ve ark. 2006). Hücrelerin büyümesini ve homeostazisini sağlar (Ferro-Novick ve ark. 2013). Bu organellerde oluşabilecek bozukluklar giderilmez ise programlı hücre ölümünü tetikleyen ER stresi denilen bir süreç yaşanır (Schröder ve Kaufman 2005, Horwich 2007). Hücrelerde oluşan ve dokularda fonksiyonel değişikliklere sebep olan bu sürece bağlı gelişen histopatolojik değişiklikleri iyi anlamak durumundayız.

Tip 1 diyabet hastalığının akciğer dokusunda dejeneratif değişikliklere sebep olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Farina ve ark. 1995, Kaparianos ve ark. 2008, Wang ve ark. 2016a). Yapılan bu çalışmanın amacı; Tip 1 diyabetin akciğer dokusu üzerine etkilerini histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırmaktır. Ayrıca Tip 1 diyabetin akciğer dokusunda ER stresine yol açıp açmadığını belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabet

Diyabet, dünyada yaygın görülen önemli bir metabolik hastalıktır (Rother, 2007). Bu hastalıkta, organizmada, insülin salınım yetersizliği, yokluğu ya da dokularda oluşan insülin direnci gibi nedenler ile hücrelerin içerisine etkili glukoz girişi yapılamaz ve bu duruma bağlı hiperglisemi gelişir (Association 2017). Kullanılmayan glukoz yerine, enerji sağlanması ya da kolesterol sentezi amacıyla vücuttaki yağ ve proteinlerin kullanımı artar. Bu sebeple kilo kaybetme ve çabuk acıkma şikayetleri olur. Dolaşımda glukoz ve yağ asidi birikimi olur. Aşırı glukozun bir kısmının idrarla birlikte atılmasına bağlı olarak çok susama ve sık idrara çıkma şikayetleri görülür (Satman 2007). Glukozu elde edemeyen hücreler, her ne kadar yağ ve proteinler aracılığı ile işlevlerine devam etmeye çalışsa da kendisine ait yapıtaşlarını glukoz yerine kullanmış olurlar. Bu süreçte hücrelerde apoptozis (programlı hücre ölümü) ve nekroz gibi olumsuz sonuçlarla karşılaşılır ki bu duruma eşlik eden birçok komplikasyon gelişir (Büyük ve ark. 2015).

2.1.1. Diyabetin Tarihçesi

M.Ö. 1500 yılından itibaren, diyabet hastalığına dair kanıtsal yazılar bulunmuştur. Mısır ülkesinde Ebers papirüslerinde poliüriden bahsedilmektedir (Lakhtakia 2013). M.S. ikinci yüzyılda, Arataeus diyabeti, kolların, bacakların ve kasın eriyerek kana geçmesi olarak tarif etmiştir. İlk kez İbni Sina (980-1037) diyabetik gangreni tanımlamıştır. Paracellus (1493-1541), diyabet hastalığı ve tedavisi amacıyla açlık kürleri üzerine araştırmalar yapmıştır. 1674'de Thomas diyabetli insan idrarının tatlı olduğunu, 1776'da Matthew Dobsoy idrarda şeker bulunduğunu, 1977-78 yıllarında Pool Cawley, kimyasal olarak, idrardaki şekerin glukoz olduğunu açıklamışlardır (Hatemi 1996). 1850 yılında Lerch idrarda aseton bulmuştur. Claude Bernard, glukozun karaciğerde depolandığını belirtmiştir. 1921'de Frederick Banting ve Charles Best diyabet tedavisinde insülinin kullanımını keşfetmiştir (Lakhtakia 2013). İlerleyen yıllarda diyabetin ağızdan tedavisi bulunmuştur. Son yıllarda insülin pompa tedavilerinin kullanımı artmıştır. Diyabetin oluşumu, yarattığı yan etkiler, insülin salınımı ve etki fizyolojisine dönük ilaç tedavileri üzerine yapılan araştırmalar gelişerek devam etmektedir (Pickup ve Keen 2002) .

2.1.2. Diyabetin Epidemiyolojisi

Uluslararası Diyabet Federasyonunu (IDF), en az 366 milyon kişinin diyabet olduğunu ve bu sayının 2030 yılında yaklaşık 552 milyon olacağını belirtmiştir (Wild ve ark. 2004, Whiting ve ark. 2011). Türkiye’de yaklaşık 7,9 milyon insan diyabet hastasıdır (Whiting ve ark. 2011). Bu hastalığın dünyada (Tao ve ark. 2015) ve Türkiye’de (Türker ve Süzmeçelik 2010) prevalansı hızlı şekilde artmaktadır. Türkiye Diyabet, Obezite ve Hipertansiyon Epidemiyolojisi Araştırmasına göre ülkemizde diyabetin prevalansı %7,2 olarak bildirilmiştir (Türker ve Süzmeçelik 2010). Gelişmiş ülkelerde fastfood tarzı beslenme ve obezite gibi etkenler ile diyabetin görülme sıklığı artmaktadır. İlerleyen yıllarda diyabetin, en fazla, Çin, Hindistan ve Amerika Bileşik Devletleri gibi ülkelerde görüleceği düşünülmektedir (Wild ve ark. 2004).

2.1.3. Diyabetin Tanı ve Sınıflandırılması

Amerikan Diyabet Derneği, sekiz saatlik açlık kan şekerinin 126 mg/dl üzerinde olmasının diyabet olarak kabul edildiğini bildirmiştir (Association 2017) ve diyabet hastalığını Tip 1 diyabet, Tip 2 diyabet, gestasyonel diyabet ve spesifik diyabet olmak üzere dört ayrı tipte sınıflandırmıştır (Association 2017).

2.1.4. Diyabetin Komplikasyonları

Hipoglisemi ve hiperglisemi diyabetin akut komplikasyonlarıdır. Hipoglisemiye bağlı terleme, titreme, çarpıntı, otonomik ve nöroglükopenik semptomlar görülebilir. Hiperglisemiye bağlı tehlikeli diyabetik ketoasidoz ve hiperglisemik hiperosmolar nonketotik koma komplikasyonları görülebilir (Association 2017).

Diyabetik retinopati, nefropati ve nöropati diyabete bağlı oluşan mikrovasküler kronik komplikasyonlardır. Atheroskleroz, hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı, serebrovasküler hastalık ve diyabetik ayak ise diyabete bağlı oluşan makrovasküler kronik komplikasyonlardır (Association 2017). Bu komplikasyonlar uygun şekilde tedavi edilmez ise organ kayıplarına neden olarak morbidite ve erken mortalite riskini artırır (Panzram ve Zabel-Langhennig 1981).

2.1.5. Tip 1 Diyabet

Tip 1 diyabet, otoimmün kaynaklı veya immün yanıt oluşturan farmakolojik ajanlar vb. aracılı pankreas beta hücrelerinde harabiyete bağlı gelişen insülin

salınımının azalması ya da engellenmesi ile gelişen diyabet türüdür (Bandeira Sde ve ark. 2012). Tip 1 diyabet hastalığı dışarıdan insülin kullanımını gerektirir. İnsülin, vücudumuzda, pankreas organında, endokrin salgı bezlerini oluşturan Langerhans adacıklarında bulunan, beta hücrelerinden salgılanır (Büyük ve ark. 2015). İnsülin, glukozun hücre içerisine girmesini ve metabolizmasını sağlayan bir hormondur. İmmün sistemde rol alan makrofajların, T ve B lenfositlerinin, beta hücrelerinde harabiyete sebep olarak Tip 1 diyabet hastalığının oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir (Hassan ve ark. 2012). Tip 1 diyabetin çeşitleri olan Tip 1A Diyabet otoimmün kaynaklı, Tip1B Diyabet idiyopatik kaynaklı olarak değerlendirilir. Adacık hücresi sitoplazmik otoantikoları, glutamik asit dekarboksilaza karşı antikolar, insülin otoantikoları, anti-tirozin fosfataz antikoru, anti-fogrin antikoru ve çinko transporter antikoları Tip 1 diyabet ilişkili antikolardır ve bu hastalığı tanılamada kullanılırlar (Hassan ve ark. 2012). Tip 1 diyabet, jüvenil diyabet ya da insüline bağımlı diyabet olarak da isimlendirilir. Genellikle çocuk ve gençlerde görülmesinin yanı sıra her yaşta görülebilir (Rodrigues ve ark. 2010). Diyabet vakalarının ortalama %5-10'unu Tip 1 diyabet vakaları oluşturur (Satman 2007).

2.1.6. Tip 2 Diyabet

Tip 2 diyabet, organizmada oluşan insülin direncine bağılı gelişen diyabet türüdür (Satman 2007). Hücrelerde insülin cevabı, hücrelerin membranlarında bulunan insülin reseptörleri aracılığı ile olur. Bu reseptörlerde gelişen insülin duyarlılığındaki azalmaya bağılı plazma insülin seviyesinde artış olur. Tip 2 diyabette vücut insülini etkili kullanamaz. Bu duruma bağılı glukoz kanda kümeleşir (Feero ve ark. 2010). Diyabet vakalarının yaklaşık %90'ı Tip 2 diyabet hastalarından oluşur. Tip 2 diyabet yetişkin tipi diyabet olarak da isimlendirilir. İleri yaş, hareketsizlik ya da obezite ile Tip 2 diyabetin görülme riski artar (Chang 2006).

2.1.7. Gestasyonel Diyabet, Spesifik Diyabet Tipleri ve Prediyabet

Gestasyonel diyabet, gebelik döneminde ortaya çıkan diyabet tipidir. Gebelikle gelişen glukoz tolerans bozukluğuna bağılı gelişir. Genellikle gebelik sonrası dönemde bu bozukluk ortadan kalkar (Metzger 1991). Spesifik diyabet tipleri; endokrinopati,

insülin etkisinde genetik defektler vb. durumlardan kaynaklanan diyabet tipleridir (Association 2017).

2.2. Akciğer

Akciğerler, göğüs kafesi içerisinde, göğüs boşluğunda yer alan solunum sisteminin temel organıdır (Marjit 2016). Vücudumuzda solunum işlevini gerçekleştiren solunum sistemi, dış ortamla gaz alışverişini sağlayan tüpler sisteminden oluşur (Junqueira ve Carneiro 2009, Marjit 2016). Bu tüpler sistemi dallanarak ilerleyen, dallandıkça çapları küçülen ve kapalı hava keseleri ile sonlanan bir yapıya sahiptir. Solunum sistemi, iletili ve solunum bölümü olmak üzere iki kısımdan oluşur (Junqueira ve Carneiro 2009). İletici kısımda sırası ile nares, nazal kaviterler, nazofarenks, orofarenks, larinks, trakea, bronş (bronchus-bronkus), bronşiol (bronchulus-bronkulus) ve terminal bronşiol (bronkulus terminalis-bronkulus verus) yapıları bulunur (Özer 2010, Ross ve Pawlina 2011). Hava bu pasajlardan ilerleyerek, solunumun gerçekleştiği, solunum bölümüne ulaşır. Gaz değişiminin yapıldığı solunum bölümünde ise sırası ile respiratuar bronşiol (bronkulus respiratory-bronkulus alveolaris), alveolar kanal (duktus alveolaris), alveolar kese (sakkulus alveolaris) ve alveol yapıları vardır (Ross ve Pawlina 2011, Lumb 2016). Solunum bölümünü tamamıyla içeren akciğer dokusu aynı zamanda iletili bölümden bronşları ve bronşioelleri içerisinde bulundurur (Junqueira ve Carneiro 2009).

2.2.1. Akciğer Dokusunun Anatomisi

Akciğerler, sağ ve sol akciğer olmak üzere iki adettir (Alcamo 2012). Sağ akciğer, sol akciğerden daha büyüktür ve üç lobdan oluşur. Sol akciğer ise iki adet lobdan oluşur. Her iki akciğerin arasında bulunan boşluğa mediastinum denir. Sternum, kostalar ve interkostal kaslar tarafından etrafı çevrelenen akciğerleri (Rehfeld ve ark. 2017) taban kısmında diyafragma kası çevreler (Alcamo 2012). Trakea, larinksten aşağıya doğru indikten sonra sağ ve sol iki adet primer bronşa ayrılır ve akciğerlere hilus kısmından girerler (Zhang 2013). Arterler, sinirler, venler ve lenf damarları da hilus kısmından girip çıkarak bronşlara eşlik ederler. Trakea ve primer bronşlar, akciğer dışı iletili havayolunu oluşturur. Primer bronşlar, çapları azalarak ve küçülerek, akciğer içerisindeki iletili havayolunu oluşturan dallara ayrılırlar. Bu yapılar, sırası ile; sekonder (lobar) bronşlar, tersiyer (segmental) bronşlar, küçük

bronşlar, bronşiolleler, terminal bronşiolleler, solunumun başladığı respiratuar bronşiolleler ve en küçük solunum birimi olan alveollerdir (Junqueira ve Carneiro 2009, Zhang 2013).

2.2.2. Akciğer Dokusunun Embriyolojisi

Akciğer dokusunun oluşumu, solunum sisteminin oluşumu ile başlar (Ross ve Pawlina 2011). Solunum sistemi, tiroit tomurcuğunun arkasından, yutağın alt duvarından oluk (larinks oluşumu) şeklinde bir evaginasyonla (çöküntüyle) gelişmeye başlar. Önce tomurcuk şeklinde bir divertikül (trakeanın gelişimi) oluşur. Sonra kaudal yönde ilerleyerek boru şeklini alır. Göğüs boşluğunda ikiye ayrılarak borucuklar (bronşlar ve bronşiollelerin gelişimi) şeklinde dallanarak uzarlar ve kesecikler (alveol gelişimi) şeklinde sonlanırlar (Lumb 2016). Akciğerin epiteli endoderm kaynaklıdır. Torasik mezenşimin içine doğru respiratorik divertikulumun başı geliştiğinden bronşial kıkırdaklar, düz kaslar ve diğer bağ doku yapıları ise (interstitium) torasik mezenşimden gelişir (Ross ve Pawlina 2011). Akciğer gelişiminde 7. haftaya kadar (embriyonik dönem) tersiyer bronşları da kapsamak üzere tüm bronşlar oluşur. 16. haftaya kadar olan dönemde (pseudoglandular dönem) terminal bronşiol yapıları ve pulmoner arter sistemi görülmeye başlar. 26. haftaya kadar (kanaliküler dönem) damar sistemi gelişir. Kapillerler bronşiollelerin duvarlarına iyice yaklaşmışlardır. 26. haftadan doğuma kadar (terminal kese (sakküler) dönemi) olan dönemde ise alveolar keseler ve alveoller oluşur.

2.2.3. Akciğer Dokusunun Fizyolojisi

Akciğer dokusu nefes alıp vermeyi ve kanın oksijenlenmesini sağlar (Gartner ve Hiatt 2006). Nefes alıp vermek, atmosfer ve akciğerler arasındaki basınç farkı ile oluşur (West 2012). Basınç, gazın kapladığı alan ve karşılaştığı direnç ile ilişkilidir. Direnç ise hava yolunun çapı ve elastik olmayan yüzey ile bağlantılıdır ve de gaz akışını yavaşlatır. Hava akışı, yüksek basınç boşluğundan, düşük basınç boşluğuna doğru oluşan basınç farkı ile gelişir. Nefes aldığımızda, hava, geniş ve nemli yüzey alanına sahip olan, alveollere ulaşır. Alveol genişlerken, surfaktan maddesi yüzey gerilimini azaltmaya yardımcı olur ve nefes verme sürecinde kollabe olmasını engeller. Havadaki oksijen, yoğunluk farkından dolayı (Zhang 2013) alveollerden kapillerlere geçerek eritrositlerde bulunan hemoglobine bağlanır ve dolaşıma katılır. Oluşan

oksihemoglobin birleşigi oksijen gradyanı sağlayan kan akımı ile gerekli dokulara taşınır. Karbondioksit ise ters yönde difüzyon ile yoğunluk farkında dolayı kapillerlerden alveollere geçerek havaya taşınır (Gartner ve Hiatt 2006).

2.2.4. Akciğer Dokusunun Histolojisi

Akciğer dokusu, dışarıdan tek katlı mezotelden oluşan visseral plöra ile sarılıdır. Altında bulunan subseroza katmanı bağ dokusu yapısındadır. Akciğer içerisine girerek, organı loplara ve lopçuklara ayıran subseroza bu alanlarda insterstisyum olarak isimlendirilir (Özer 2010). İnsterstisyum içerisinde damarlar, sinirler, bronşlar ve bronşiolle bulunur. Akciğer dokusu içerisinde, sekonder bronşlar ve dallanarak alveollere kadar küçülen yapılar bulunur (Gartner ve Hiatt 2006). Bronş ve bronşiolle içi boş, tüp şeklinde olan lümenli yapılardır. Bu yapılarda lümen içerisinden dışarıya doğru ortak olan üç katman bulunur. Bu katmanlar; respiratorik mukoza, submukoza ve adventisya tabakalarıdır (Tanyolaç 1999).

Respiratorik mukozada lamina epitelyalis, bazal lamina ve lamina propriya bulunur. Lamina epitelyalis, kinosilyumlu yalancı çok katlı prizmatik epiteldir (Hinrichsen, 1997). Bu epitelde; kinosilyumlu prizmatik hücreler, mukus salgılayan goblet hücreleri (kadeh hücreleri), bazal hücreler, küçük granül (kulchitsky) hücreleri olarak da adlandırılan diffuz nöroendokrin sistem hücreleri (DNES) ve reseptör hücreleri olarak kabul edilen fırça hücreler bulunur (Hinrichsen 1997, Gartner ve Hiatt 2006, Ross ve Pawlina 2011). Bazal lamina, sıkı paketlenmiş kollagen lifler ve daha seyrek retiküler lifler ile fibrin, nektin gibi ara maddelerden oluşur. Bronşlarda çok belirgin olan bazal lamina, bronşların çapı küçüldükçe silikleşir. Bazal laminanın altında lamina propriya adı verilen bağ dokusu bulunur. Lamina propriyada ise bağ doku hücreleri, ekstrasellüler matriks, kollagen ve elastik iplikler ve kapiller ağlar bulunur. Lamina propriyanın derin kısmında, mukozal immün sisteme dahil olan soliter tipte bronşlarla ilişkili lenfoid doku (BALT) bulunur. Burada seyrek serömüköz bezler de görülür. Submukoza, lamina propriyadan sonra gelen katmandır. Gevşek ve yoğun arası bu bağ doku fibroelastik yapıdadır. Burada, arteriyoller, venüller, venöz pleksusler, BALT ve bronş bezleri (müköz ve serömüköz bezler) bulunur. Submukozadan sonra gelen adventisya katmanı fibroelastik bağ dokudur. Kalın kollagen bantları, elastik iplikler, sinir lifleri, büyük kan ve lenf damarları bulunur (Lumb 2016).

Akciğer dokusu sekonder bronşlardan itibaren olan kısımları kaplar. Sekonder bronşlar ve dallanarak ilerleyen küçük bronşlara gidildikçe, tüm tabakaların incelmesi, lamina epitelyalisin boyunun kısaldığı, goblet hücrelerinin azaldığı, bazal laminanın silikleşmeye başladığı görülür. Birkaç sıra düz kas tabakasından oluşan, mukoza ve submukoza arasında görülmeye başlanan, başlangıçta sürekli ve belirgin bir katman olan lamina muskularisin küçüldüğü ve spiral yönlenecek kesintili bir yapıya dönüştüğü izlenir (Ross ve Pawlina 2011). Bronş bezlerinin miktarının azaldığı, elastik doku oranının arttığı, submukozadan sonra görülen parçalı yapıda ve devamlılık göstermeyen kıkırdak parçalarının da küçüldüğü ve de yapısının da elastik özellik göstermeye başladığı görülür (Zhang 2013, Lumb 2016).

Bronşioller ise çapları yaklaşık bir milimetre veya daha az olan (Lumb 2016, Marjit 2016) kıkırdaklarını (Zhang 2013) ve bezlerini yitiren tübüler yapılardır. Bronşiollerin epitel boyu kübiğe doğru alçalır ve tek bir tabaka şeklinde görülmeye başlar (Hinrichsen 1997). Terminal bronşiollerde küboidal hücrelerin silyumlarının yok olmaya başladığı, goblet hücrelerinin kaybolduğu, lamina propria ve lamina muskularisin incelmesi, submukozanın ve bronş bezlerinin ortadan kalktığı görülür (Gartner ve Hiatt 2006, Zhang 2013). Yok olan goblet hücrelerinin yerine apikal yüzeyi şişkin ve kubbe biçimli organellerden zengin ve eozinofilik boyanan Clara hücreleri (silyumsuz hücreler) gözlenir (Hinrichsen 1997). Bu hücreler ekspirasyon sırasında hava yolunun kollabe olmasını ve lümen yapışıklığını engelleyen surfaktanı salgılar. Ayrıca salgıları ile bronş epitelinin korunmasını, rejenerasyonunu ve (Gartner ve Hiatt 2006) akciğer dokusunda oluşan fazla sıvının geri emilimini sağlarlar (Hinrichsen 1997). Terminal bronşiolde sonra gelen respiratuar bronşiol ise solunumun gerçekleşmeye başladığı ilk kısımdır. Epiteli, terminal bronşiol epiteline benzer. İncelmiş lamina muskularis katmanı ise sirküler şekilde devam eder (Hinrichsen 1997). Terminal bronşiolde farklı olarak küboidal hücrelerin silyumları kaybolmuştur (Zhang 2013). Clara hücrelerinin sayısı ve elastik iplikler artmıştır. En önemlisi lümenleri boyunca solunumun gerçekleştiği birim olan alveoller aralıklı bir şekilde görülür (Hinrichsen 1997, Lumb 2016).

Alveoller en küçük solunum birimi olup kan ile hava arasındaki gaz değişimini sağlayan içi hava ile dolu yapılardır (Rehfeld ve ark. 2017). Alveoller, kılcal damarlardan zengindirler ve elastin miktarının çok olmasından dolayı nefes alma

sırasında oluşan gerginliğe dayanıklıdır. (Zhang 2013). Alveolar keseler, akciğer lobçuklarında yaygın olan, küçük alveol topluluklarından oluşan ve dışarıya doğru balonlaşan yapılardır (Lumb 2016). Alveolar kanallar ise sırayla yan yana dizilmiş alveollerden oluşurlar ve uçları alveolar keseler ile sonlanır. Alveolar kanallarda az miktarda olmak üzere alveoller ve alveolar keseler arasında interalveolar septumlar (duvarlar) vardır. Bu duvarlarda elastik ve retiküler lifler, kapillerler, birkaç fibroblast, makrofaj ve düz kas lifi bulunur (Zhang 2013). Alveolar porlar (Kohn porları), interalveolar duvarlarda bulunan ve hava geçişini sağlayan deliklerdir. Bu porlar kollateral hava dolaşımını sağlarlar ve alveoller arasındaki basıncı eşitlerler (Hinrichsen 1997).

Tip 1 ve Tip 2 pnömositler (alveolar hücreler) ve alveolar makrofajlar, alveolar epitel parankimal hücreleridir (Gartner ve Hiatt 2006). Tip 1 pnömosit, küçük alveolar hücre ya da membranöz pnömosit olarak da isimlendirilir. Alveol yüzeyinin %95'ine yakın kısmını kaplarlar. Kan hava bariyerine katılan ve gaz alışverişinde etkin rol oynayan hücrelerdir (Hinrichsen 1997). Kılcalların etrafında bulunurlar. Yassı epitele sahip Tip 1 pnömositlerin sitoplazmaları çok incedir (Lumb 2016). Organellerden fakirdirler. Pinositotik vezikülleri vardır. Diğer hücrelere sıkı bağlantılarla bağlanırlar. Tip 2 pnömositlere büyük alveolar hücre ya da granüler pnömosit de denir. Alveol yüzeyinin %5'ine yakın kısmını kaplarlar. Kubbe şeklinde ya da küboidal ve iri yapıya sahip olan hücrelerdir (Zhang 2013). Septal kısımda kümelenen bu hücreler septal hücre olarak da isimlendirilirler. Organel yönünden zengindirler. Apikal sitoplazmasında çok miktarda surfaktan içeren ekzositoz ile salınan paralel lameller cisimciklere sahiptirler (Hinrichsen 1997, Gartner ve Hiatt 2006). Pulmoner surfaktan yapımına katılırlar (Lumb 2016). Sodyum ve su emilimini sağlayarak alveollerde sıvı birikmesini engellerler. Ayrıca bu hücreler alveolar hasarda Tip1 ve Tip 2 pnömositlere farklılaşarak kök hücre görevi görürler (Gartner ve Hiatt 2006, Ross ve Pawlina 2011). Alveolar makrofajlar, Dust hücreleri olarak da bilinirler. Alveollerin temizlenmesinden sorumludurlar. Bakteri, virüs, toz, yabancı partiküller, hücre debrisleri vb. fagosite ederek yok ederler. Bu hücreler mononükleer fagositer sisteme ait doku makrofajlarıdır (Hinrichsen 1997).

Kan hava bariyeri, kan ve hava arasındaki arayüzdür (Hinrichsen 1997). Kapiller ve alveoller arasındaki gaz alışverişinin sağlanması için aşılması gereken

hücreler ve hücresel ürünlerinden oluşur. Kan hava bariyerini oluşturan birimler; surfaktan, Tip 1 pnömosit membranı, Tip 1 pnömosit ile damar endoteline ait kaynaşmış bazal lamina, endotel hücresi, eritrosit membranı ve eritrosit sitoplazmasından oluşur (Ross ve Pawlina 2011). Hava, geniş ve nemli yüzey alanına sahip olan alveollere ulaşır. İçinde bulunan oksijen yoğunluk farkından dolayı, kan hava bariyerindeki birimleri surfaktandan başlayıp (Zhang 2013) eritrosit sitoplazmasına kadar geçerek hemoglobine bağlanır. Karbondioksit ise ters yönde eritrosit sitoplazmasından surfaktana kadar olan birimleri geçerek difüzyon ile yoğunluk farkında dolayı alveollere taşınır (Gartner ve Hiatt 2006).

2.2.5. Akciğer Dokusu ve Tip 1 Diyabet Arasındaki İlişki

Tip 1 diyabetin bozulmuş akciğer difüzyonuna yol açtığı ve alveolar epitel kalınlığında ve alveolar duvar hacim oranında belirgin artışa sebep olduğu bildirilmiştir (Kida ve ark. 1983; Ofuwe ve ark. 1988). Diyabet oluşturulan deneysel bir çalışmada (Sandler 1990) akciğer bağ dokunda kollagen miktarında artış gibi değişimler olduğu belirlenmiştir. Streptozotocin (STZ) uygulanan deneysel bir diyabet çalışmasında, akciğer dokusunun elektron mikroskopik bulgularında kollagen ipliklerden zengin ekstrasellüermatriks oluştuğu izlenmiştir (Popov ve Simionescu 1997). Ayrıca akciğer dokularında, hasar oluştuğunu, diyabetin pulmoner fibrozis için bir risk faktörü olduğunu ve nodüler fibrozis bulgusunu bildiren STZ uygulanan deneysel diyabet çalışmaları vardır (Farina ve ark. 1995, Wang ve ark. 2016a). Kaparianos ve ark. (2008), STZ uygulanan diyabet çalışmalarında Tip 1 ve 2 pnömositlerde, lamina epitelyalis hücrelerinde ve bağ doku hücrelerinde dejenerasyon geliştiği bildirilmiştir. Diyabet oluşturulan çalışmalara ait akciğer dokularında arteriollerin ve kapillerlerin duvarlarında anlamlı kalınlık artışı olduğunu kapillerlerin ve venüllerin endotellerinde yapısal değişikliklerin olduğunu ve inflamatuvar sürece işaret eden, kapillerlerden dokuya makrofaj göçü olduğunu gösteren araştırmalar vardır (Matsubara ve Hara 1991, Popov ve Simionescu 1997). Tip 1 diyabet hastalarında monosit ve makrofaj aktivitesinin arttığı (Devaraj ve ark. 2006) ve diyabet durumunda alveolar makrofajların bakteriyi fagosite etme yeteneğinin azaldığı bundan dolayı polimorfonükleer lökosit aktivasyonunun uyarıldığı bildirilmiştir (Mohsenin ve Latifpour 1990).

2.3. Endoplazmik Retikulum

Endoplazmik retikulum, ökaryotik hücrelerde perinükleer yerleşimli, çekirdeğin dış zarı ile devam eden, çekirdek ve sitoplazma ile bağlantılı, tübüller ve sisternalardan (geniş boşluklardan) oluşan, çift katlı fosfolipit seri membran katlantılarından oluşan ağımsı bir organeldir (Mullins 2005). Granüllü ve Granülsüz ER olmak üzere iki Tipi vardır (Ross ve Pawlina 2011).

Kaba ER olarak da isimlendirilen granüllü ER (GER), sitozol tarafındaki membranlarına gömülü ribozomlardan dolayı bu şekilde isimlendirilir (Mullins 2005, Tropp 2011). Ribozomlar aracılığı ile GER'de protein sentezi olur (Brandizzi ve ark. 2014). Bu ribozomlar suda çözülebilirler ve transmembran proteinlerin sentezini yaparlar (Agostinis ve Afshin 2012, Khanna 2008). Protein yapımını hücre içindeki aminoasitleri kullanarak gerçekleştirirler. GER'deki ribozomların sitozoldeki ribozomlardan farkı, üretilen proteinlerin Golgi aygıtı, lizozomlar ya da hücre zarı tarafından kullanılması (Ferro-Novick ve ark. 2013, Khanna 2008) ya da hücre dışına salınmasıdır (Khanna 2008). GER, salgı hücreleri gibi yoğun protein sentezi yapılan hücrelerde fazla miktarda bulunur. Protein sentezi aşamasında ER lümeninin içerisine her saniyede ortalama üç ila beş aminoasidin oluşturduğu zincir giriş yapar. Burada katlanma, montaj, sentez işlemleri ve sentez sonrası değişikliklerin yapılmasına membrana yerleşik şaperonlar ve enzimlerden kurulu ağlar yardımcı olur (Wiertz ve Kikkert 2006). Proteinin katlanması demek dört boyutlu yapısının tamamlanması ve aktif formunun oluşması demektir (Ferro-Novick ve ark. 2013).

GER'de üretilen proteinler, GER lümeninden ilerleyerek ER'nin ikinci kısmı olan granülsüz ER' (AGER) e ulaşır. AGER, çekirdekten uzak ve Golgi aygıtına yakındır. Membranlarının üzerinde ribozomların olmaması nedeniyle böyle isimlendirilir. GER'e göre yüzeyleri daha düzgün, katlantıları da daha tübüler yapıdadır (Tropp 2011). AGER'de fosfolipit ve kolesterol sentezini kapsayan farklı tipteki lipitlerin ve yağ asitlerinin sentezi yapılır. (Agostinis ve Afshin 2012, Ghadially 2013, Khanna 2008, Marjit 2016) Ayrıca, AGER'in glikojenin glukoza hidrolize edilmesi, GER'de sentezlenen polipeptit zincirlere oligosakkaritlerin eklenmesi, detoksifikasyon, Ca^{2+} 'nin depo edilmesi gibi çok önemli görevleri vardır (Agostinis ve Afshin 2012, Brandizzi ve ark. 2014, Ghadially 2013, Khanna 2008, Tropp 2011).

AGER' de sentez edilen ya da GER'den gelen ve lümen aracılığı ile ilerleyen ürünler veziküller aracılığı ile Golgi aygıtına ulaşır (Ross ve Pawlina 2011).

2.4. ER Stresi

ER Stresi, ER'de katlanmamış protein ve ER organelinin katlama kapasitesi arasındaki denge bozulduğunda oluşan bir durumdur (Schröder ve Kaufman 2005, Horwich 2007). Bu stres, ER lümeninde Ca^{2+} tükenişi, disülfid bağlarının azalması, glikolizasyonun inhibisyonu, mutant protein alt ünitelerinin ya da mutant proteinlerin üretilmesi gibi durumları kapsar (Dorner ve ark. 1989). Düzenli olarak katlanmış protein işlerlik kazanır ve fonksiyonunu yerine getirebilir. Yanlış katlanmış proteinler herhangi bir işlerlik kazanamaz ve fonksiyon göremez. Yanlış katlanmış proteinleri engellemek, düzeltmek, düzeltemiyorsa bu proteinleri ortadan kaldırma işlemlerini şaperonlar denilen proteinler sağlar (Ferro-Novick ve ark. 2013). Şaperonlar, ribozomlarda, endoplazmik retikulumda ve sitoplazmada bulunurlar. GER'de bulunan kalretikülin ve kalneksin gibi katlayıcı şaperonlar sentez edilen proteinlerin katlanmasını sağlar (Ross ve Pawlina 2011). Ancak şaperonların müdahalesini yöneten ve hücrenin homeostazisini sağlayan bir kalite kontrol noktası vardır ki bu nokta ER'nin kendisidir (Ferro-Novick ve ark. 2013). Bu kalite kontrol sistemi sayesinde sadece doğru katlanmış proteinlerin transferi yapılır. Posttranslasyon modifikasyonu yapılamayan ya da yanlış katlanmış proteinler ise tekrar indirgenmesi için sitoplazmaya gönderilir (Zhang 2015). ER stresi, hücrenin içinde yaşanan zor bir süreçtir. ER stresi oluştuğunda, katlanmamış ve yanlış katlanmış proteinlerin ER lümeninde birikimi olur. Bu süreçte oluşan strese cevap olarak ER bir dizi katlanmamış protein cevabı (unfolded protein response (UPR)) sinyal iletim yolağı oluşturur (Zhang 2015).

UPR, katlanmamış protein girişi ve katlanmış protein çıkışı arasındaki dengeyi tamir edebilmek için hücre tarafından oluşturulmuş adaptif ve homeostatik bir cevaptır (Kaufman 1999). UPR cevabı, anormal proteinlerle başa çıkabilmek için transkripsiyonel ve translasyonel yeniden programlanmaya yol açar (Kaufman 1999). Bu programlamada protein sentezi ve sentez edilen proteinlerin ER'ye geçişi yavaşlatılır. ER'nin kapasitesi, proteinlerin katlanmasını ve yanlış katlanan proteinlerin indirgenmesini sağlamak amacıyla artırılır. Yanlış katlanmış proteinlerin kümelenmesini önlemek amacıyla onların sitoplazmaya transferinin yeterli seviyeye

ulaştırılması, bileşenlerine indirgenmesi ve indirgemeyi sağlayan şaperon sentezinin arttırılmasını sağlayan (Ron Walter, 2007) ER ilişkili indirgenme sinyal yolağını aktive eder (Kaufman 1999). Ancak UPR etkili olmazsa programlanmış hücre ölümü (apoptozis) gelişir (Ron ve Walter 2007).

ER stresinin, akciğer dokusunda, fibrotik değişikliklerin oluşumunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Tanjore ve ark. 2013). ER stresinin, hücresel düzeyde duyarlılığı artırarak, disfonksiyonel epitel fenotipine (Lawson ve ark. 2011) neden olduğu ya da Tip 2 pnömosit hücrelerinin hasarını tetikleyerek epitelde proapoptotik yolları tetiklediği düşünülmektedir (Majors ve ark. 2003, Tanjore ve ark. 2013). Bu durumun ise epitelyal-mezenşimal değişim ile pro-fibrotik uyarı sağladığı ve fibrotik yeniden şekillenmeyi kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Majors ve ark. 2003, Lawson ve ark. 2011, Tanjore ve ark. 2013). Fibrotik yeniden şekillenmede, bağ dokuda kollagen birikimi (Torres-González ve ark. 2012), hiyalurandan zengin ekstrasellüler matriksin oluşumu gibi değişiklikler gelişir ve inflamatuvar cevap artar (Majors ve ark. 2003, Tanjore ve ark. 2013). ER stresi akciğer dokusunda hem akut hem de kronik inflamasyonu tetikleyen değişikliklere sebep olur (Majors ve ark. 2003, Tanjore ve ark. 2013).

Diyabet ve ER stresi arasındaki ilişki incelendiğinde, protein katlama reaksiyonlarının etkinliğinin metabolik koşullardan etkilendiği bildirilmiştir (Malhotra ve Kaufman 2007). Uzun süren hiperglisemi sonucunda ileri glikasyon ürünlerinin ER stresine sebep olabileceği düşünülmektedir (Ertek 2015). İleri glikasyon ürünleri genellikle hücre içerisinde birikerek (Brownlee 2001) proteinlerin normal konformasyonunun bozulmasına, enzimatik aktivitelerinin değişmesine, indirgenme kapasitelerinin azalmasına ve reseptörlerin işlevlerinde sekmeye sebep olduğu düşünülmektedir (Hsieh ve ark. 2007). Glikasyon kaynaklı serbest radikallerin protein kırılmalarına, nükleik asit ve lipidlerin oksidasyonuna (Hsieh ve ark. 2007), proteinlerde yanlış katlanmaya neden olduğu bildirilmiştir (Malhotra ve Kaufman 2007).

2.5. Glukozla düzenlenen protein 78 (Grp 78)

Grp 78, UPR'de etkin olan ve ER stresinin belirleyici bir proteindir. Glukozla düzenlenen protein (Grp) yapıları genel olarak bütün hücrelerde bulunur. Bu proteinlerin, ER stresine özel, uyarılabilir aile proteinleri olduğu düşünülmektedir (Kaufman 1999). Grp 78' de bu aileye ait önemli ve etkin bir şaperondur ve ER

lumeninde bulunur. (Mullins 2005, Zhang 2015). Bu protein Bip/GRP 78 olarak da isimlendirilir ve ısı şok protein 70 (HSP70) ailesine ait ER homologudur. Monomerik globüler bir yapıya sahip Grp 78 proteinin ATP ve 23 peptit bağlayan iki işlevsel bölgesi vardır (Gething 1999, Prins ve Michalak 2009). Grp 78, kalite kontrol sistemi olarak görev yapar. Görevini, katlanan proteini izleyerek ve düzgün katlandığından emin olunca taşınmasını sağlayarak yapar (Guo ve Li 2014). Grp 78'in UPR ile ilgili başlıca fonksiyonları, ER'e proteinin translokasyonu, Ca^{2+} 'nın bağlanması, protein katlanmasının sağlanması ve kontrol edilmesi, yanlış katlanmış proteinin indirgenmesi, apoptozisin ayarlanması ve UPR'nin düzenlenmesidir (Little E ve ark 1993). GRP 78, ER stres reseptörü olan üç protein ile ilişki halindedir. GRP 78'in bu proteinlerden herhangi birinden ayrılması sonucunda ayrıldığı proteinin aktive olması ile UPR'nin geliştiği düşünülmektedir. Bu proteinler; protein kinaz RNA benzeri ER kinaz (PERK), aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF6) ve İnositol gerektiren kinaz 1 (IRE1) dir (Lake ve ark. 2013, Zhang, 2015). Bu sinyal yollarından biri veya birkaçı aktive olabilir. Buradaki dikkat çekici nokta, UPR cevabında etkili üç ayrı sinyal yolağı ancak kendileri ile ilişki halinde olan Grp 78 proteinin ayrılması ile aktive olurlar, tek başlarına aktive olamazlar (Zhang 2015). Bundan dolayı Grp 78, ER stresi için indikatör bir proteindir (Guo ve Li 2014).

2.6. Nükleer faktör kappa-B (NF-kB)

NF-kB proteini, proinflamatuvar ve immün cevap genlerini uyaran bir transkripsiyon faktörüdür. NF-kB, inflamatuvar yanıtta rol oynayan proteinlerin transkripsiyonlarını düzenler (Zhang 2015). Hücrelerin sitoplazmasında p50/p65 dimeri halinde bulunan NF-kB, inhibitör bir protein olan I kappa B'ye (I κ B'ye) bağlı şekilde inaktif formdadır (Ritchie 1998). Ancak I κ B'den ayrılınca aktif forma geçer. I κ B, inflamatuvar ajanlarla uyarıldığı zaman I κ B'ye spesifik kinazlar aracılığıyla fosforillenir. Daha sonra proteozomlarla parçalanır. Bu durum NF-kB'nin serbest kalmasını sağlar. Aktifleşen NF-kB çekirdeğe taşınır. Çekirdekte spesifik promoter elemanlara bağlanarak hedef inflamatuvar gen transkripsiyonunu başlatır (Ritchie 1998). İnflamasyon, dokuları hasara karşı korumak ve onarmak amacıyla oluşan bir cevaptır. Ancak uzun süre devam ederse patolojik bir duruma dönüşür (Nakajima ve Kitamura 2013).

ER stresi ve NF-kB ilişkisini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır (Pahl ve Baeuerle 1995, Hotamisligil 2010, Nakajima ve Kitamura 2013, Zhang, 2015). ER stresinin, ER'den Ca^{2+} salınımına yol açtığı, bu durumun ise reaktif oksijen türleri (ROS) nin üretimine neden olduğu, ROS üretiminin ise, NF-kB'nin aktivasyonunu sağlayan I κ B'nin indirgenmesine sebep olduğu düşünülmektedir (Pahl ve ark. 1996). Bazı çalışmalarda ise (Pahl ve Baeuerle 1995, Nakajima ve Kitamura 2013) NF-kB sinyal yolağının aktivasyonunun, ROS artışı gibi çeşitli uyaranlar dışında, ER stresine cevap veren UPR sinyal yolakları vasıtasıyla da tetiklenebileceği gösterilmiştir (Zhang 2015). NF-kB'nin aktivasyonunda UPR sinyal yolaklarının üçünün de rol oynadığı düşünülmektedir (Hotamisligil 2010). PERK'in, ökaryotik translasyon başlatıcı faktör 2 α (eIF2 α) yı fosforilize ederek I κ B- α ifadesini azalttığı ve NF-kB'nin aktifleşmesini sağladığı rapor edilmiştir (Deng ve ark. 2004). IRE1 için, ER stresi tetiklendiğinde I κ B kinazların, IRE1 α - tümör nekrozu faktörü reseptör ilişkili faktör-2 (IRE1 α -TRAF2) kompleksi tarafından aktive edildiği ve bu durumun NF-kB'nin etkinliğini sağlayan I κ B'nin fosforilasyonuna ve dolayısı ile indirgenmesine yol açtığı gösterilmiştir (Hu ve ark. 2006). ATF6 yolağının da NF-kB aktivasyonunda rol oynadığı bulunmuştur (Yamazaki ve ark. 2009). NF-kB'nin hücreyi apoptozisten koruduğu, sağ kalım genlerini artırdığı ve antiapoptotik cevap oluşturduğu düşünülmektedir (Van Antwerp ve ark. 1996).

2.7. Kaspaz 3

Kaspaz 3, programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptozisin gelişmesinde bitirici kaspaz olarak görev alan bir proteindir (Biosciences 2012). Enzim özelliğinde olan ve moleküler makas olarak da nitelendirilen kaspazlar bir proteaz ailesidir (Eröz ve ark. 2012). Bu proteinlerin NH₂ (amin)-terminal bölgesi, büyük alt ünitesi (20 kDa), küçük alt ünitesi (10 kDa) ve katalitik alt üniteleri bağlayan bölgesi vardır (Yerlikaya ve Dokudur 2009). Aktif olan merkezlerinde sistein taşırlar ve hedef proteinleri aspartik asit kısımlarından keserler. Prokaspazlar, kaspazların hücrelerde inaktif zimojenler halindeki şeklidir. Apoptozis sinyali ile aktifleşerek kaspazlara dönüşürler. Kaspaz 3'ün N-terminal bölgesinde 23-28 aminoasitlik peptid bulunur. ER stresi oluşan hücrelerde UPR etkili olamazsa apoptozis başlar. ER stresi ile bağlantılı moleküler mekanizma, UPR ile bağlantılı kaspaz aktivasyonu yönünde gerçekleşir (Kaufman 1999). Kaufman ve ark. (1999), PERK aktivasyonunun ya da aşırı ifadesinin

apoptozisi uyardırmada etkili olacağını bildirmişlerdir. PERK–Ökaryotik translasyon başlatıcı faktör 2 α (PERK–eIF2 α) yolağı ile uyarılan aktive edici transkripsiyon faktörü 4 (ATF4) (Harding ve ark. 2000), C/EBP homolog proteini aktivasyonunu sağlayarak, mitokondriden sitokrom c sızıntısına sebep olur (Offer ve ark. 2002). Sitokrom c kaspaz 9'un, kaspaz 9'da kaspaz 3 enziminin aktifleşmesini sağlayarak (Han ve ark. 2013) apoptozisi tetikler. IRE1 de, proapoptotik yolda IRE1 α - TRAF2 kompleksi şeklinde rol oynar. IRE1 α - TRAF2 kompleksi, apoptozis sinyal kinaz 1 aktivasyonunu sağlayarak c-Jun NH2-terminal kinaz (JNK) ları uyarır ve JNK'lar mitokondriden sitokrom c sızıntısı ile apoptozisi başlatır (Szegezdi ve ark. 2006). IRE1 α - TRAF2 kompleksi aynı zamanda kaspaz 7'yi keser. Kaspaz 7'de kaspaz 3'ü keserek apoptozisi sağlar (Choudhury ve ark. 2013). ER stresi durumunda Bcl-2 ailesinden apoptozisi indükleyen Bax ve Bak, ER organeli membranında kalpini aktive eden Ca²⁺ salınmasına sebep olan konformasyonel değişiklikleri ve oligomerizasyonu sağlar (Seydel ve Aksoy, 2012). Kalpein, prokaspaz 12'yi keserek kaspaz kaskadını başlatır. Daha sonra sırası ile kaspaz 12, kaspaz 9 ve en son kaspaz 3 aktifleşerek apoptozis gerçekleşir (Zong ve ark. 2003, Hitomi ve ark. 2004). ER stresi kaynaklı yolağlar farklı olsa da her yolda ortak olarak kaspaz 3'ün bulunması önemli bir yer teşkil etmektedir (Conn 1986) ve apoptozisin gerçekleşmesinde kilit bir nokta olarak dikkat çekmektedir.

2.8. ER stresi, Tip 1 Diyabet ve Akciğer İlişkisi

Tip 1 diyabetin akciğer dokusu üzerinde oluşturduğu histopatolojik değişiklikleri gösteren birçok çalışma vardır (Kida ve ark. 1983, Popov ve Simionescu 1997, Sandler 1990). ER stresinin meydana geldiği akciğer dokularında oluşan histopatolojik değişiklikler de (Majors ve ark. 2003, Lawson ve ark. 2011, Torres-González ve ark. 2012, Tanjore ve ark. 2013) birçok araştırmada gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, kalp kası (Li ve ark. 2007), hipokampus (Zhao ve ark. 2015), mide (Chen ve ark. 2014) böbrek (Liu ve ark. 2008, De Blasio ve ark. 2017) ve retina (Li ve ark. 2009) gibi dokular üzerinde Tip 1 diyabet ve ER stresi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar vardır. Ancak yapılan literatür taramalarında Tip 1 diyabetin akciğer dokusunda ER stresine yol açıp açmadığını bildiren bir çalışmaya rastlanmadı.

3. MATERYAL VE METOT

Bu deneysel çalışma için, Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan 03.09.2017 tarihinde 2017-082 sayılı etik kurulu numarası ile onay alınmıştır. Çalışmaya ait deneysel aşamalar Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler ise Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Deney Grupları

Çalışmada Balb/c türü, iki aylık, ortalama 40 gr, 18 adet erkek fare denek olarak kullanıldı. Deneklerin temini Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden sağlandı. Denekler; Kontrol grubu (n=6), Sham grubu (n=6), ve STZ diyabet grubu (n=6) olmak üzere rastgele ve sistematik yöntemle üç gruba ayrıldı. Daha sonra %60-65 nem oranına sahip $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ortam sıcaklığında, 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlatma uygulanan ortamda standart fare kafeslerinde barındırıldılar. Musluk suyu ve standart fare yemi ile ad-libitum beslendiler.

3.2. Deneysel Prosedür

Kontrol grubuna herhangi bir enjeksiyon uygulaması yapılmadı. Streptozotocin (STZ) diyabet grubuna, Tip 1 diyabet modeli oluşturmak için STZ ilacı intraperitoneal yöntemle uygulandı. Sham grubuna ise diyabet modelindeki koşullar sağlanarak 1 ml sitrat tamponu (pH:4,5) intraperitoneal yöntemle enjekte edildi. Deney süreci 30 gün olarak belirlendi (Karabay ve ark. 2006). Deneyin bitiminde eter anestezisi altında servikal dislokasyon uygulandı. Ötenazi edilen farelerin akciğer dokusu histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler için alındı.

3.2.1. STZ ile Deneysel Diyabet Oluşturulması

STZ, pankreas dokusunda Langerhans adacıklarındaki insülin salgılayan beta hücrelerini tahrip ederek Tip 1 diyabet oluşumunu sağlar. STZ nin çözündürüldüğü sitrat tamponu (pH:4,5) hazırlamak için 0.294 gr dozunda sodyum sitrat dihidrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 294,1 \text{ g/mol}$) deiyonize su ile 100 ml hacime tamamlandı ve 1 Normal HCl ile pH'ı 4.5'e ayarlandı. 40mg/1ml oranında sodyum sitrat tamponu içerisinde çözündürülen STZ (Sigma S0130-1G) ısıdan ve ışıktan etkilenmemesi için alüminyum folyo ile sarılı bir tüpte ve buz dolu beher içinde bekletilerek enjeksiyon

uygulamaları yapıldı. STZ uygulamadan önce, 12 saat süre ile aç bırakılan farelerin kan şekeri düzeyleri, kuyruk venlerinden alınan kanla glukometre cihazı (Roche Accu-chek Go) kullanılarak ölçüldü. Açlık kan şekeri ölçümü sonrası farelerin kilolarına uygun olarak 100 mg/kg (Deprem ve Gülmez 2014) STZ, 1 ml'lik insülin enjektörü ile tek doz şeklinde intraperitoneal yöntemle uygulandı. STZ uygulamasından dört saat sonra yine standart fare yemi ve içme suyu verilmeye devam edildi. STZ uygulamasından 72 saat sonra diyabet grubu hayvanların tekrar 12 saat aç bırakılarak açlık kan şekeri ölçümü yapıldı. Açlık kan glukoz düzeyi 200 mg/dl üzerinde olan hayvanlar diyabet olarak kabul edilip (Kanitkar ve Bhonde 2004) deneye alındı. STZ diyabet grubunda bütün hayvanlarda diyabet gelişti. Son olarak, çalışmanın bitiminde dokular alınmadan önce 12 saat aç bırakılan hayvanların kan glukoz seviyeleri ölçüldü.

3.3. Histopatolojik İncelemeler

Tüm gruplardaki farelerden alınan akciğer dokuları %10'luk formol solüsyonlarında tespit edildi. Tespit işleminden 72 saat sonra doku takip işlemlerine başlandı. Dereceli alkoller, metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilerek parafine ulaştırılan dokular bloklandı. Parafin bloklardan, 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Akciğer dokularına histopatolojik değerlendirmesini yapmak için, hematoksilin ve eozin (H&E) boyama (Fischer ve ark. 2008) ve Crossman'ın üçlü boyaması (triple boyama) (Bancroft ve Cook 1984) yapıldı. İncelemeye hazır hale gelen kesitler, Olympus Bx51 (Japan) marka kamera ataçmanlı ışık mikroskobu altında incelendi ve tüm gruplara ait fotomikrograflar çekildi.

3.4. İmmünohistokimyasal İncelemeler

Akciğer dokusunda Grp 78, NF-kB, kaspaz 3'ün immünolokalizasyonunu incelemek amacıyla avidin-biotin peroksidaz kompleks (ABC) tekniği uygulandı (Hsu ve ark. 1981). Bu proteinlerinin ekspresyonunu ışık mikroskobik düzeyde incelemek amacıyla 4µm kalınlığındaki fare akciğer doku kesitleri, krom-alum-jelatin ile kaplanmış lamlara alındı. Deparafinizasyon ve dehidrasyon işlemlerinden sonra lamlar 0,1 M'lik Fosfat Buffer Salin (PBS) de hazırlanmış %3'lük H₂O₂'de 15 dk. bekletildi. Daha sonra dokulara, mikrodalga fırında, sitrat buffer solüsyonu içerisinde 600 watt-15 dk. ısı uygulaması yapıldı. Devamında UV serumda (%10) 8 dk. inkube edildi. Sonrasında monoklonal olan ve fare dokularında immunoreaktivite gösteren primer antikolar; Anti-GRP78; 1/150 (abcam-ab108615), NFκB p65; 1/100 (santa cruz-

(F6):sc-8008), Kaspaz 3;1/100 (santa cruz-(31A1067):sc-56053) dilüsyon oranlarında uygulanarak dokular bir saat oda ısısında inkübe edildi. Primer antikor uygulaması bittikten sonra dokular sırası ile biotinlenmiş sekonder antikor ve streptavidin peroksidaz ile 15'er dk. inkübe edildi. Son olarak kromojen uygulaması için Diaminobenzidine (DAB (Thermo TA-125-HD)) (Shu ve ark. 1988) uygulandı. Bu aşamaya kadar her uygulama arasında dokulara fosfat buffer salin (PBS) (0,1 M, pH; 7,2) ile üç kez yıkama uygulandı. Kesitlere DAB kromojen solüsyonu uygulanırken, ışık mikroskobu altında kontrolü yapılarak, immünoaktivitenin oluşumuna göre, reaksiyon distile su ile durduruldu. Distile su ile yıkama yapıldıktan sonra zıt boya olarak Harris'in hematoksilen boyaması uygulandı. İmmünohistokimyasal boyama yapılan dokular içerisinde pozitif kontrol amacıyla karaciğer dokusu kullanıldı. Bunun yanı sıra, immünohistokimyasal boyama yapılan dokularda negatif kontrol amacıyla STZ diyabet gruplarına ait akciğer dokuları kullanıldı. Negatif kontrol uygulamasında primer antikor aşamasında primer antikor yerine PBS uygulandı. Diğer tüm aşamalarda adımlar ise aynıydı. Böylece antikorların ve yapılan immünohistokimyasal boyamanın güvenilirliği test edildi. Hazırlanan preparatlar, ışık mikroskobu (Olympus Bx51, Japan) altında incelenerek ilgili tüm gruplara ait fotomikrograflar çekildi.

Grp 78, NF-kB ve kaspaz 3 proteinlerine ait immünohistokimyasal incelemelerde, immünoaktivite gösteren hücrelerin boyama derecesi kriter alınarak kesitler incelendi ve tüm gruplarda elde edilen verilerin yarıkantitatif analizleri yapıldı. Her gruba ait kesitler üzerinde, 20 μm^2 alanda, 40x büyütmede ve 10 rastgele seçilmiş mikroskobik alanda tarafsız inceleme yapıldı. Gruplara ait elde edilen verilerin aritmetik ortalaması alındıktan sonra yarıkantitatif skorlaması yapıldı. Skorum —'den 4+'ya kadar yapıldı. Veriler; —: yok, +: az, ++: orta, +++: yoğun, ++++: çok yoğun şeklinde skorlandı (Okihiro ve Hinton 2000).

3.5. İstatistiksel Analiz

Yarı kantitatif analiz verilerinin istatistiksel analizi için Microsoft SPSS for Windows 18.0 istatistik paket programı (SPSS 18 for Windows, IBM, Chicago, IL, USA) kullanıldı. Sonuçların gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi post hoc analizi Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile yapıldı. Gruplar arasındaki anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

4.1.1. Kontrol ve Sham Grubu

Kontrol grubunda, akciğerin histolojik yapısı normal yapıda izlendi. Bronşlarda, respiratorik mukozada; lamina epitelyalis, bazal lamina ve lamina propriya yapıları belirlendi. İki üç sıra düz kas tabakası ile lamina muskularis, serömüköz bezleri ve bazı yerlerinde BALT dokusu ile submukoza izlendi. Parçalı hyalin kıkırdak yapıları belirlendi. Adventisya bağ dokusunda kollagen iplikler, kan damarları ve sinir lifleri izlendi. Çapı küçülen bronşlarda tüm katmanların incelendiği belirlendi. Bronşiollerde ise lamina epitelyalinin tek katlı kübik epitele döndüğü, lamina propriyanın incelendiği, lamina muskularis katmanının sirküler yapıda ve adventisya bağ dokusunun da daha ince olduğu belirlendi. Lamina epitelyalide Clara hücreleri izlendi. Alveolar epitelde Tip 1 ve 2 pnömositler ile interalveolar septum yapıları normal izlendi. Alveollerin çevresinde yoğun kapiller damarlar görüldü. Ara ara seyrek alveolar makrofaj hücrelerine rastlandı. Akciğerin genel yapısı içinde arter, ven, arteriyol, venül yapıları, lenf damarları ve sinir lifleri de izlendi (Resim 1, 2, 4). Sham grubu dokuları ise kontrol grubuna benzerdi (Resim 6, 8).



Resim 1. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **a:** Alveol, **b:** Sakkulus Alveolaris, **L:** Bronşiol Lümeni, **S:** Submukoza, **V:** Ven, **Ok Başı:** Lamina Muskularis, *****: Lamina Epitelyalis, Triple Boyama.

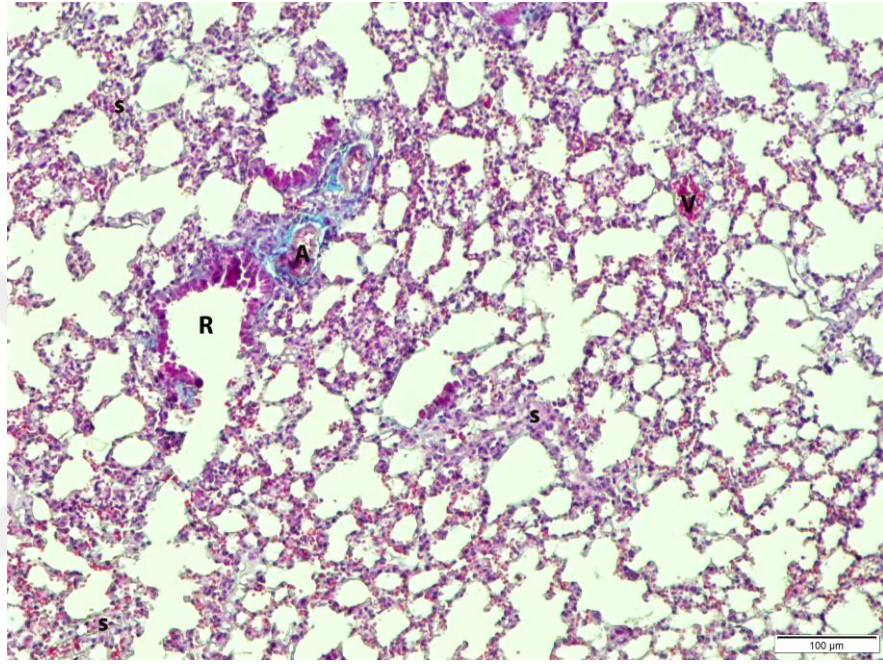


Resim 2. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **L:** Bronşiol Lümeni, **Ok:** Kapiller, **Ok Başı:** Tip 2 pnömosit, **Kıvrık Ok:** Tip 1 Pnömosit, **Kuyruklu Ok:** Clara hücresi, **s:** İnteralveolar Septum, Triple Boyama.

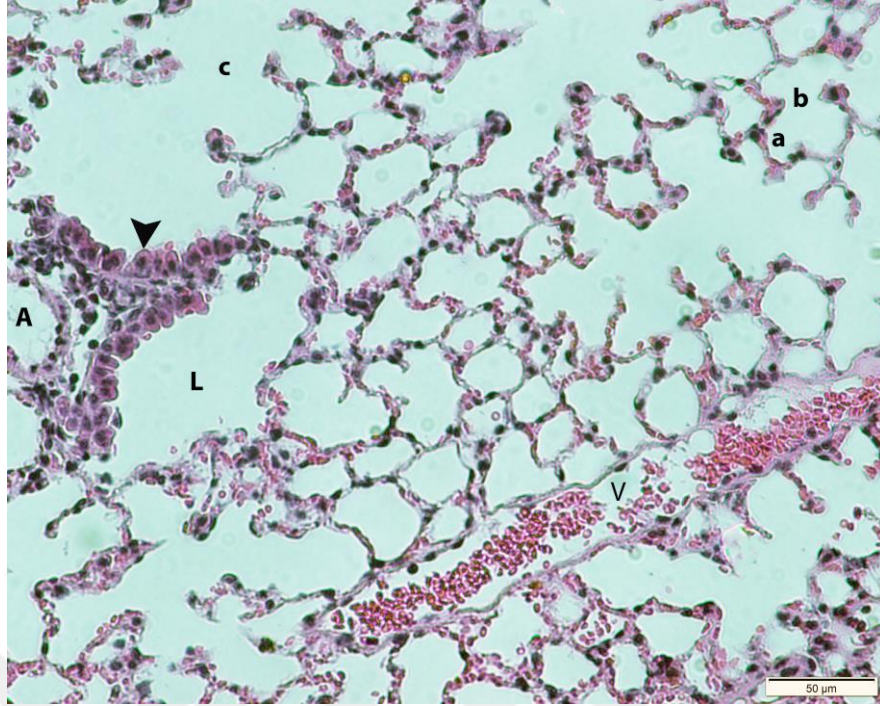
4.1.2. STZ Diyabet Grubu

STZ diyabet grubu, kontrol ve sham grubu ile karşılaştırıldığında, bronşların lamina epitelyalisinde belirgin, submukozada ise hafif dejenerasyon olduğu izlendi. Bronşliollerin lamina epitelyalisinde, bazal lamina ve lamina propriyasında da kontrol ve sham grubuna göre hasar olduğu belirlendi. Özellikle lamina epitelyaliste piknotik çekirdekli ve sitoplazması yoğun eozinofilik boyanan Clara hücreleri dikkat çekiciydi. Bunların yanısıra interalveolar septumlarda fibrozis bulgularını düşündüren yer yer kalınlaşma, hyalinizasyon ve kollagen birikimi görüldü. Alveolar epitelde apoptozisin karakteristik bulgusu olan yoğunlaşmış çekirdeklere sahip ve dejenerasyon göstergesi iri olan Tip 1 ve 2 pnömosit hücrelerin miktarı fazlaydı. Bazı alveolar epitelde büzülen hücreler ve apoptotik cisimciklere benzer yapılar izlendi. Alveolar epitelde de yer yer kalınlaşma olduğu görüldü. Damarlara ait dejeneratif endotel ve düz kas hücreleri izlendi. Damarların etrafında kollagen birikimi vardı. Kapillerlerde yer yer dilatasyon olduğu gözlemlendi. Bazı damar duvarlarından eritrositlerin infiltre olduğu boşluklar vardı. Ayrıca damarlarda, akut inflamasyonu düşündüren yoğun miktarda polimorfonükleer lökosit (nötrofil ve makrofajlar) infiltrasyonu görüldü. Kontrol ve

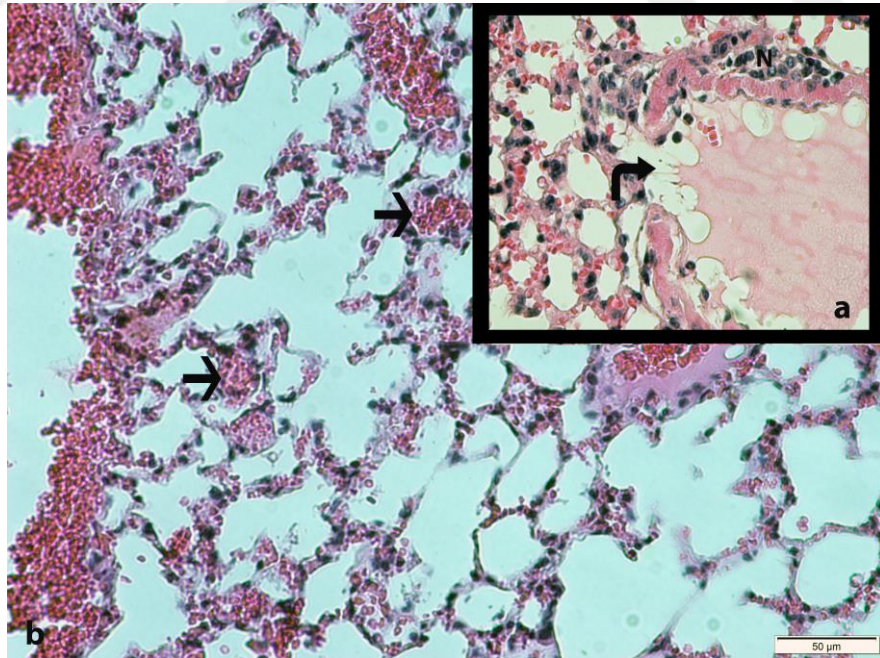
sham grubuna göre artmış ve yoğun miktarda alveolar makrofajlar izlendi. Diğer taraftan kronik inflamasyonu da işaret eden lenfosit infiltrasyonu da vardı ve nadiren çok çekirdekli dev hücreler izlendi. Bu inflamatuvar hücreler dejenere olmuş alanlarda fazla miktardaydı. (Resim 3, 5, 7, 9, 10,11).



Resim 3. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **R:** Bronkulus Respiratoryus Lümeni, **A:** Arteriol, **V:** Venül, **s:** Kalınlaşmış İnteralveolar Septum, Triple Boyama.



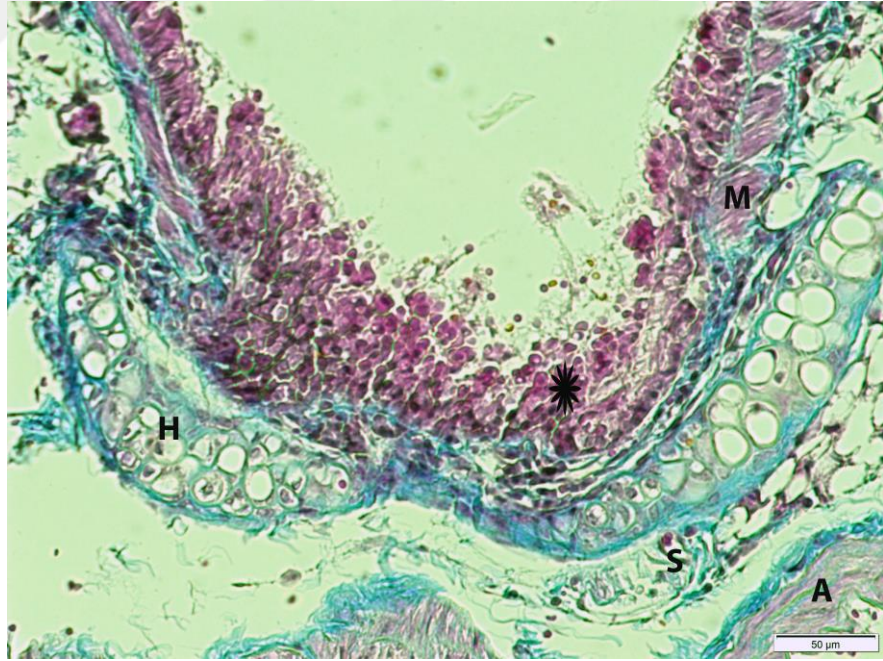
Resim 4. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **a:** Alveol, **b:** Duktus Alveolaris, **c:** Sakkulus Alveolaris, **A:** Arter, **L:** Bronkulus Respiratoryus Lümeni, **V:** Venül, **Ok Başı:** Clara Hücresi, H&E Boyama.



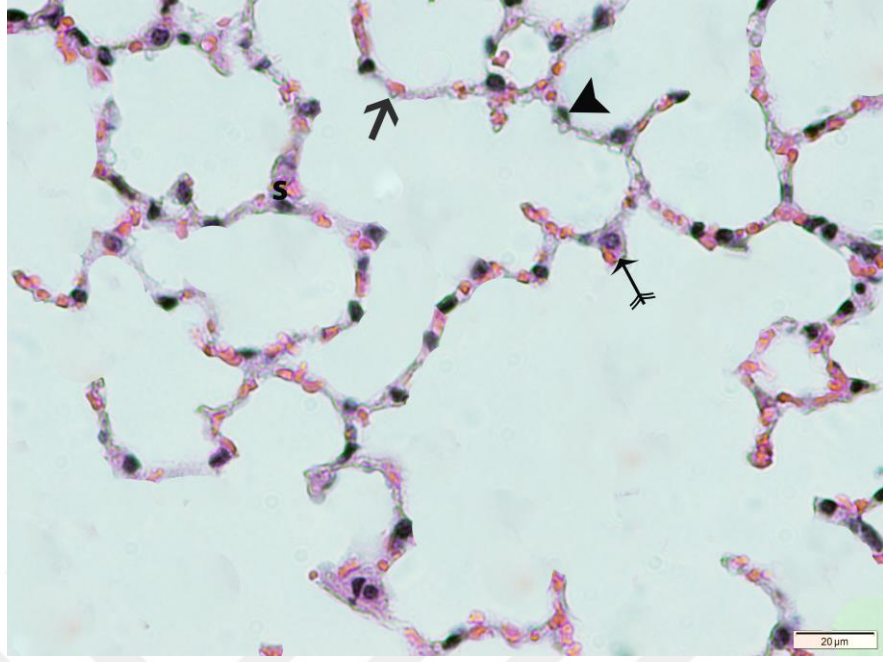
Resim 5. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **a. N:** Damar Duvarından Nötrofillerin ve Lenfositlerin Göçü, **Kıvrık Ok:** Damar Duvarında Ayrışma Sonucu Oluşan Boşluk, X40, H&E Boyama, **b. Ok:** Kapiller Dilatasyon, H&E Boyama.



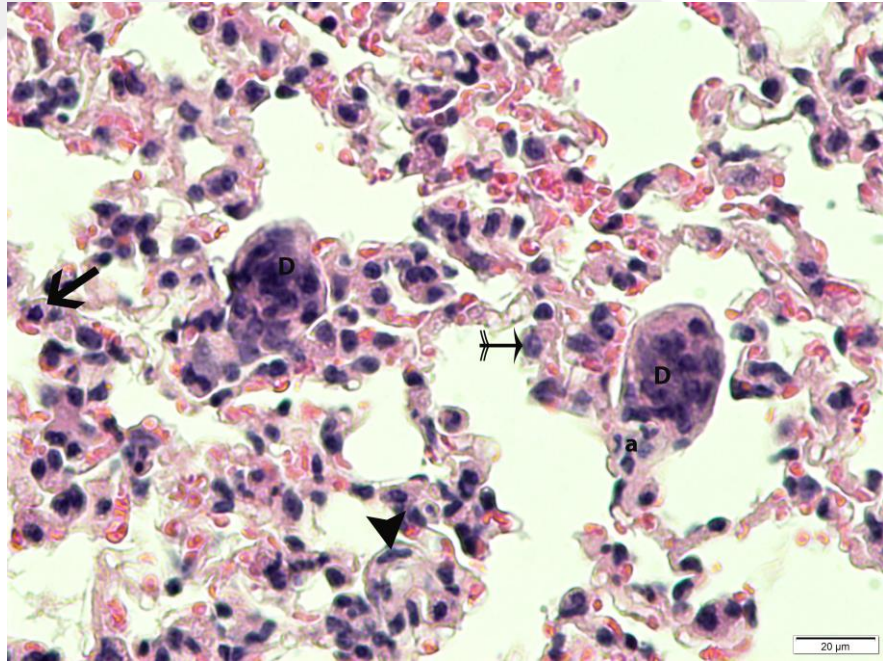
Resim 6. Sham Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **H:** Hyalin Kıkırdak, **M:** Lamina Muskularis, **S:** Submukoza, *****: Lamina Epitelyalis, Triple Boyama.



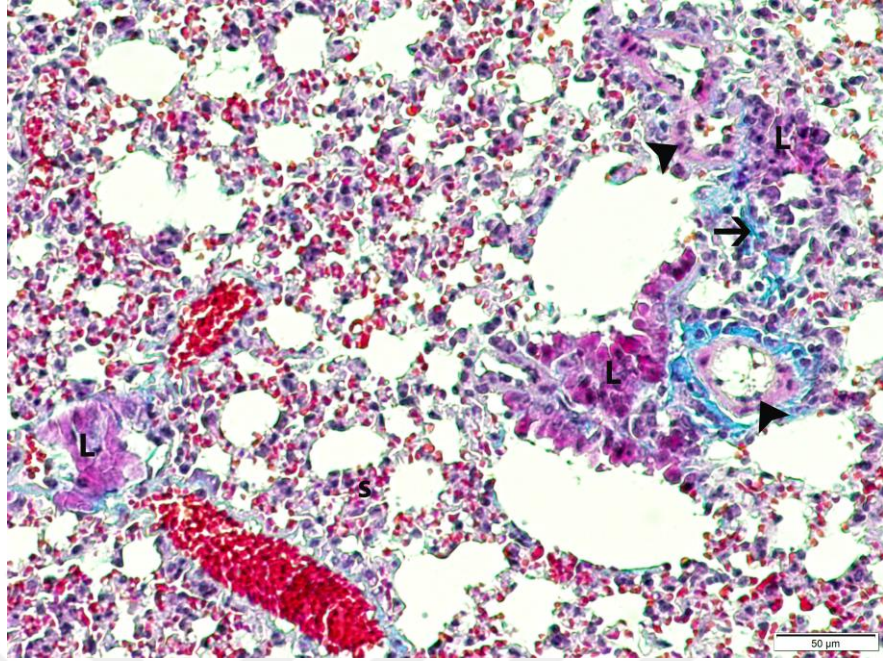
Resim 7. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **A:** Adventisya, **H:** Hyalin Kıkırdak, **M:** Lamina Muskularis, **S:** Submukoza, *****: Degeneratif Lamina Epitelyalis Katmanı, Triple Boyama



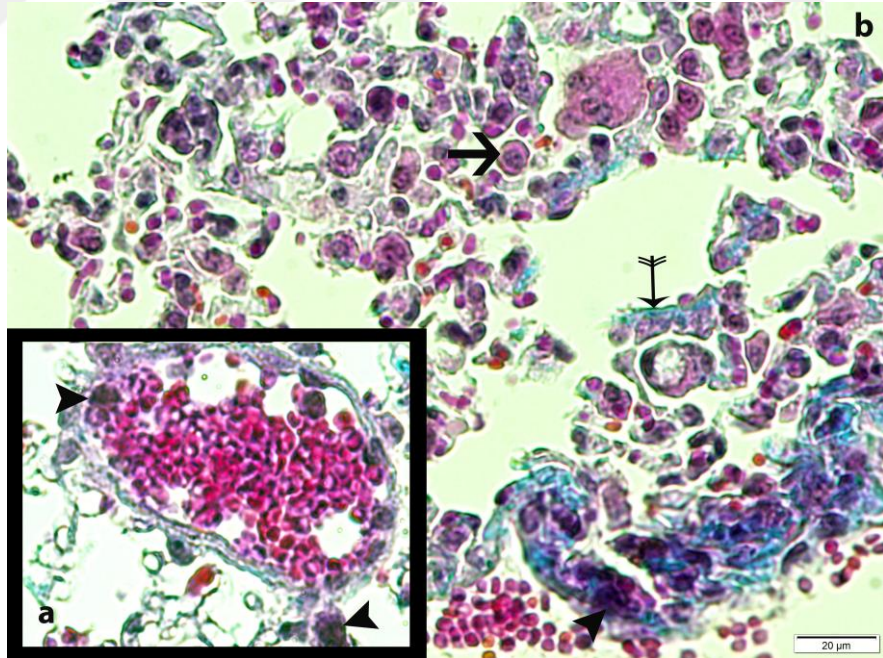
Resim 8. Sham Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **Ok:** kapiller, **Ok Başı:** Tip 1 Pnömosit, **Kuyruklu Ok:** Tip 2 Pnömosit, **s:** İnteralveolar Septum, H&E Boyama.



Resim 9. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **D:** Çok çekirdekli dev hücre, **a:** Apoptotik Cisim, **Ok:** Monosit, **Ok Başı:** Dejeneratif Tip 1 Pnömosit, **Kuyruklu Ok:** Dejeneratif Tip 2 Pnömosit, H&E Boyama.



Resim 10. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **L:** Lamina Epitelyalis Dejenerasyonu, **Ok:** Kollagen Fibril, **Ok Başı:** Vasküler Dejenerasyon, Triple Boyama.



Resim 11. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunun Histolojik Görünümü. **a. Ok Başı:** Monosit Kaynaklı Makrofaj, X60, Triple Boyama, **b. Ok Başı:** Makrofaj, **Ok:** Alveolar Makrofaj, **Kuyruklu Ok:** Kollagen Fibril, Triple Boyama.

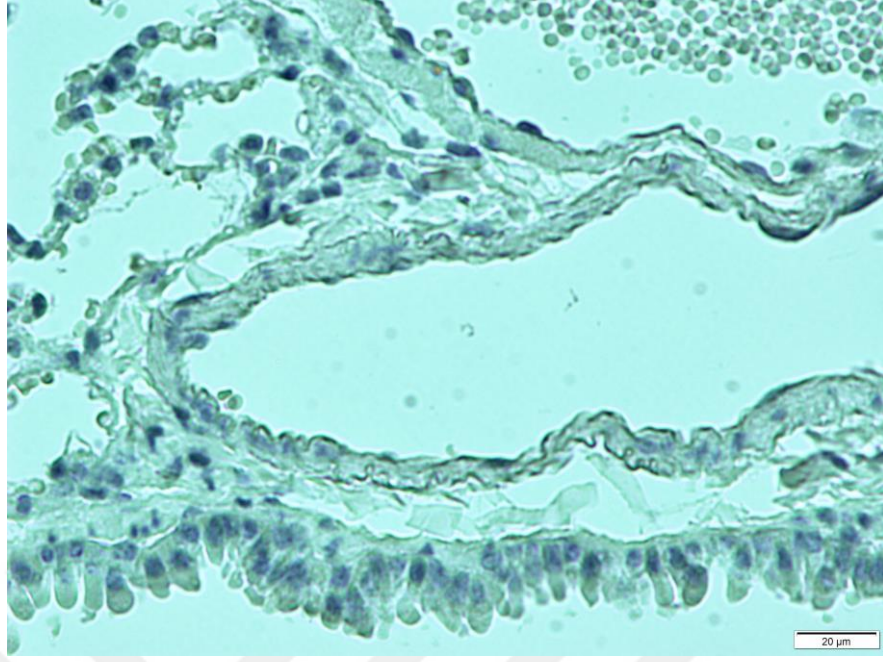
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.2.1. GRP 78 İmmünoaktivitesi

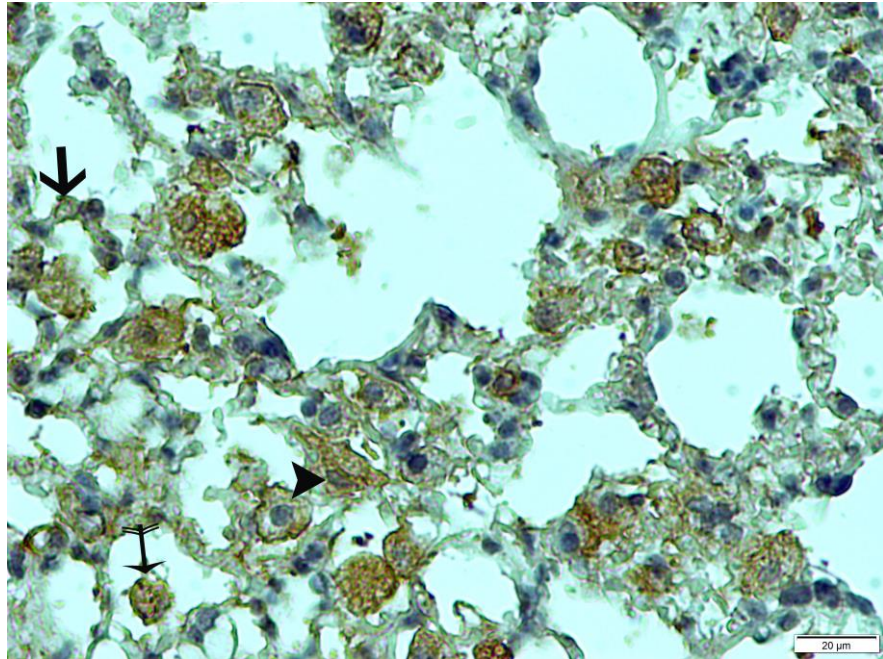
Tüm gruplara ait farelerin akciğer dokusunda Grp 78 immünoaktivite derecesi hücre düzeyinde değerlendirildi. Kontrol grubunda, GRP 78 immünoaktivitesi, Clara hücreleri, endotel hücreleri, Tip 1 ve 2 pnömosit hücrelerinde görülmedi. Ancak alveolar makrofajlarda zayıf derecede Grp 78 immünoaktivitesi izlendi (Tablo 1, Resim 12). Sham Grubuna ait Grp 78 immünoaktivite reaksiyonu, kontrol ile benzerdi. Kontrol grubundan farklı olarak sham grubunda, Tip 1 pnömosit hücrelerinde az derecede, alveolar makrofaj hücrelerinde ise orta derecede immünoaktivite gözlemlendi (Tablo 1, Resim 14). STZ diyabet grubunda, kontrol ve sham grubuna göre, belirgin Grp 78 immünoaktivitesi gösteren hücreler vardı. Damar endotel hücrelerinde orta derecede, Clara hücreleri ve Tip 1 pnömosit hücrelerinde yoğun derecede, Tip 2 pnömosit hücreleri ve alveolar makrofajlarda çok yoğun derecede immünoaktivite gözlemlendi (Tablo 1, Resim 13, 15, 16). Pozitif kontrol grubunda, karaciğerde immünoaktivite gösteren immünopozitif hepatositler izlendi (Resim 17). Negatif kontrol grubu akciğer dokusunda parankimal ve stromal doku hücrelerinin hiçbirinde reaksiyon görülmedi (Resim 18).

Tablo 1. Gruplar arası Grp 78 İmmünoaktivite (İ.R) sinin Semikantitatif Analiz Sonuçları.

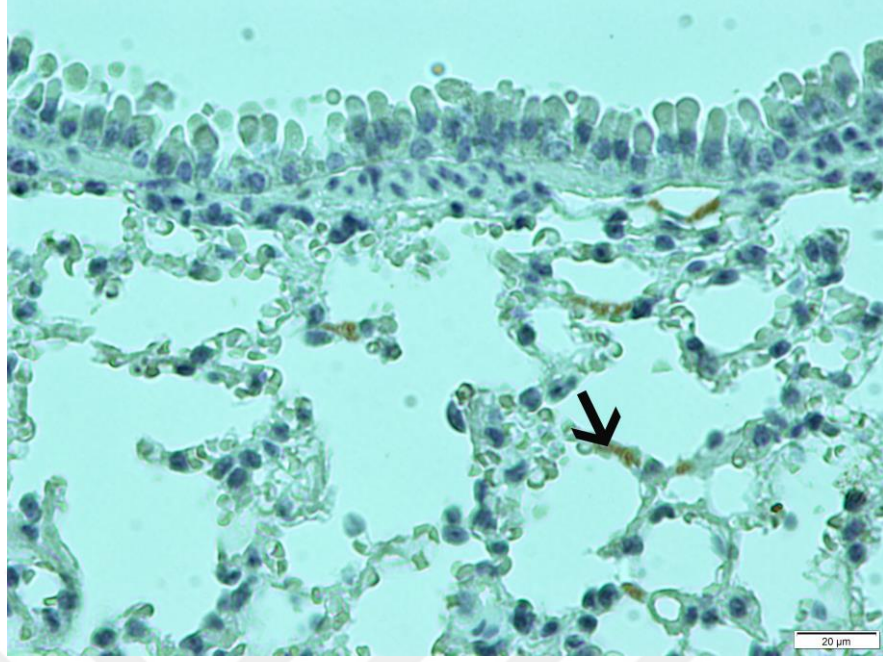
Gruplara ait GRP 78			
İ.R yoğunluğu	Kontrol	Sham	STZ diyabet
Clara Hücreleri	-	-	+++
Endotel Hücreleri	-	-	++
Tip 1 pnömosit	-	+	+++
Tip 2 pnömosit	-	-	++++
Alveolar makrofaj	+	++	++++



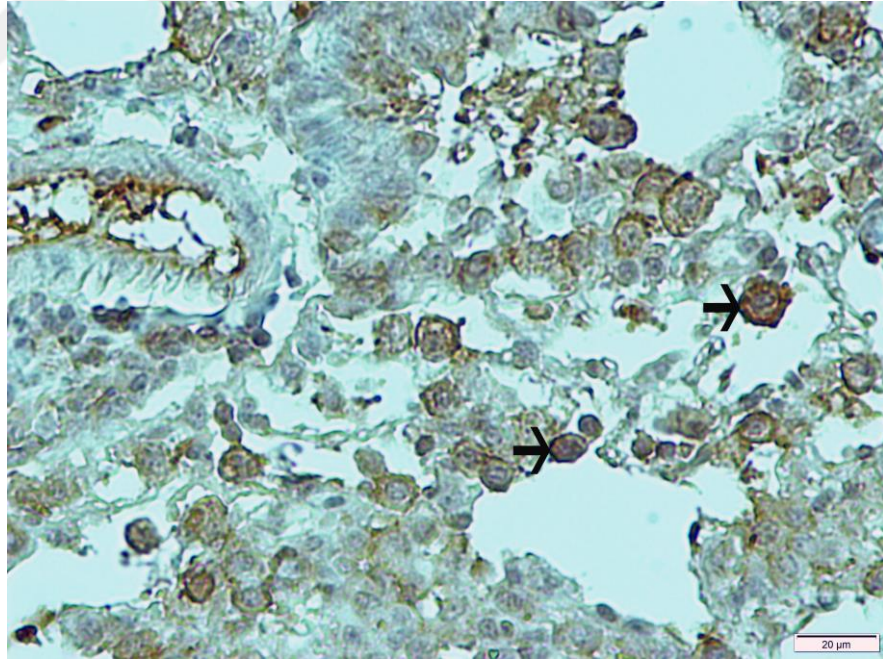
Resim 12. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunda GRP 78 İmmünoreaktivitesi.



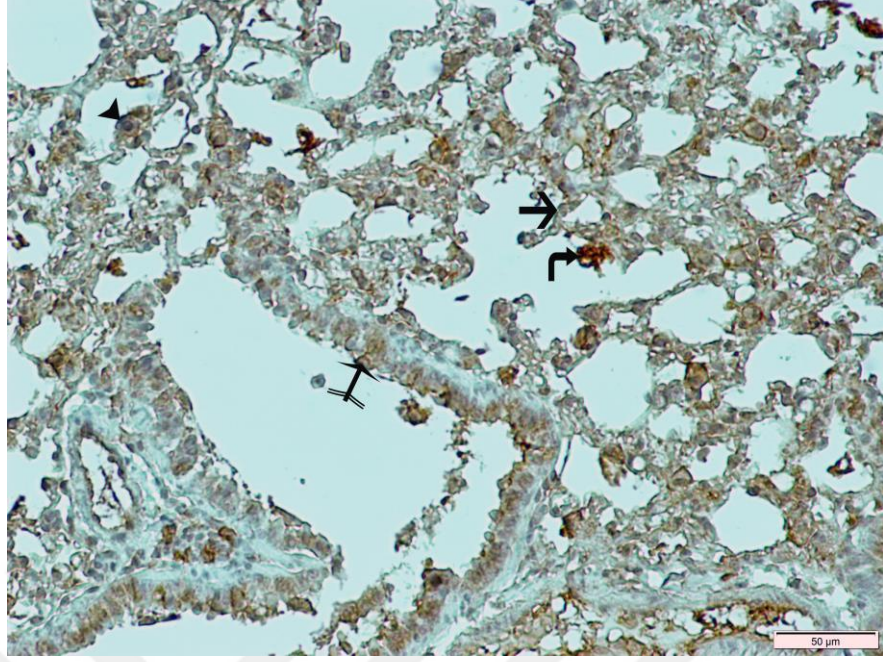
Resim 13. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Grp 78 immünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 Pnömosit, **Ok Başı:** Tip 2 Pnömosit, **Kuyruklu Ok:** Alveolar Makrofaj.



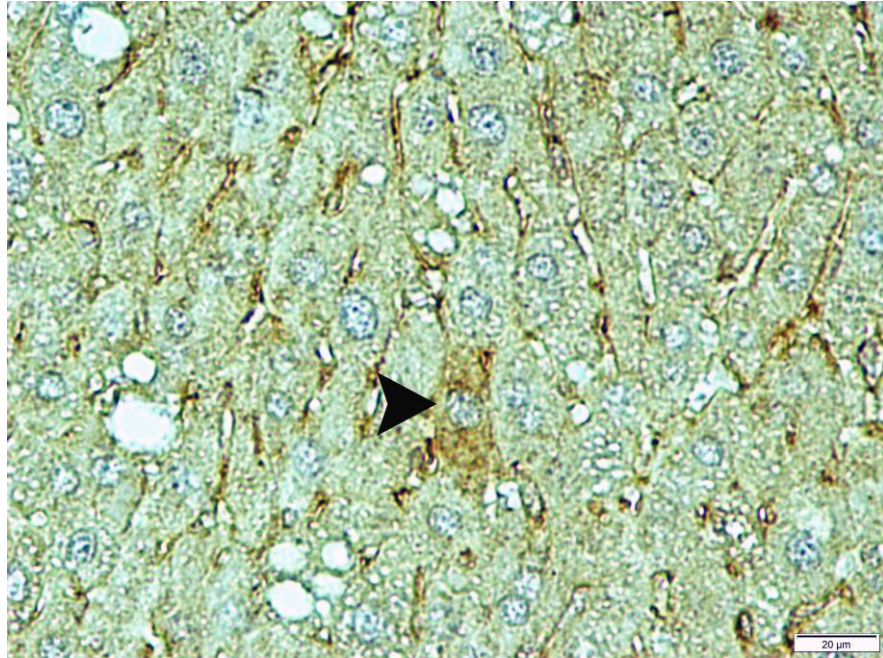
Resim 14. Sham Grubu Akciğer Dokusunda Grp 78 İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 Pnömosit.



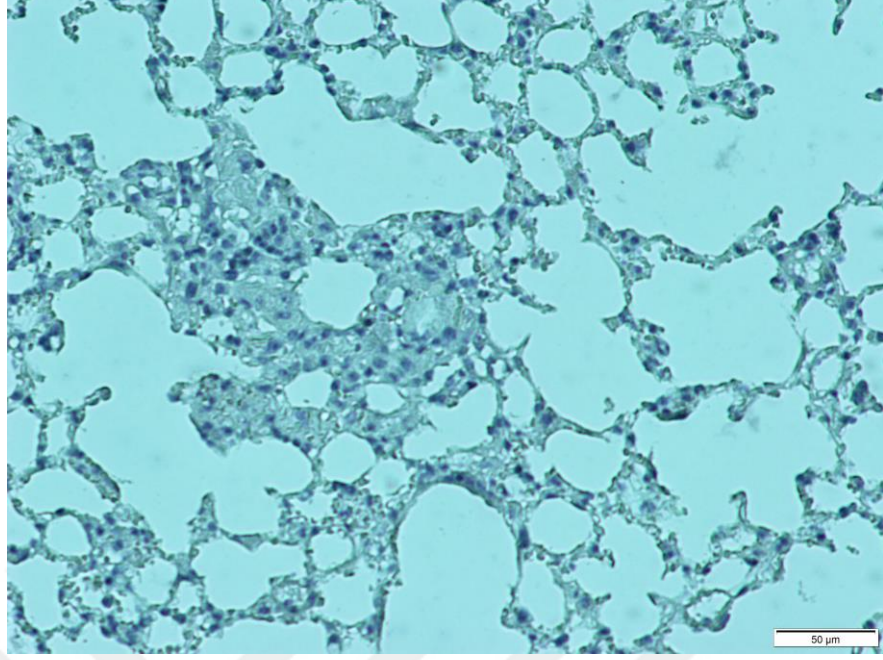
Resim 15. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Grp 78 İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Alveolar Makrofaj.



Resim 16. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Grp 78 İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 Pnömosit, **Ok Başı:** Tip 2 Pnömosit, **Kıvrık Ok:** Alveolar Makrofaj, **Kuyruklu Ok:** Clara Hücresi.



Resim 17. Pozitif Kontrol Karaciğer Dokusu Grp 78 İmmünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Hepatosit.



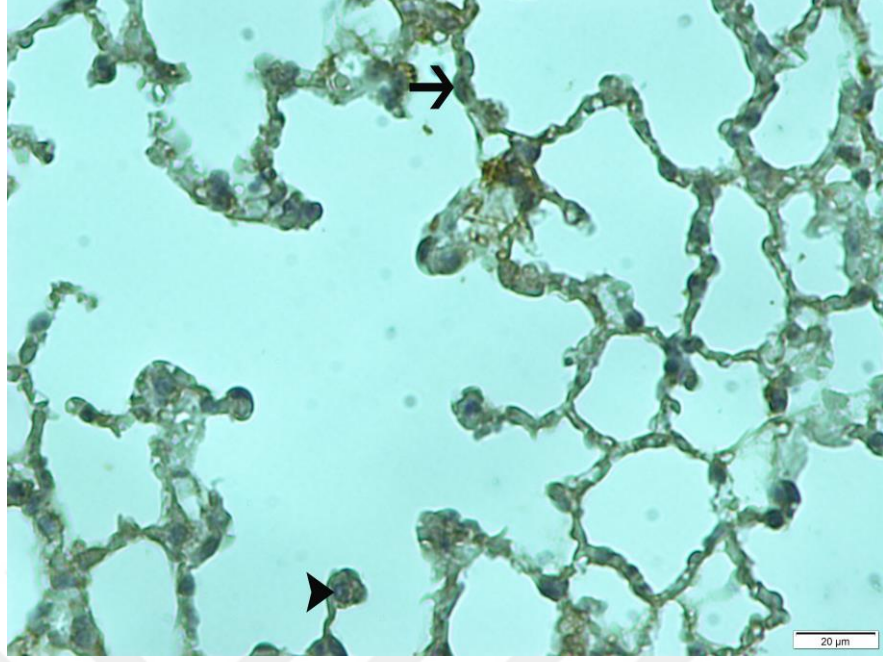
Resim 18. Negatif Kontrol Akciğer Dokusu Grp 78 İmmünoreaktivitesi.

4.2.2. NF-kB İmmünoreaktivitesi

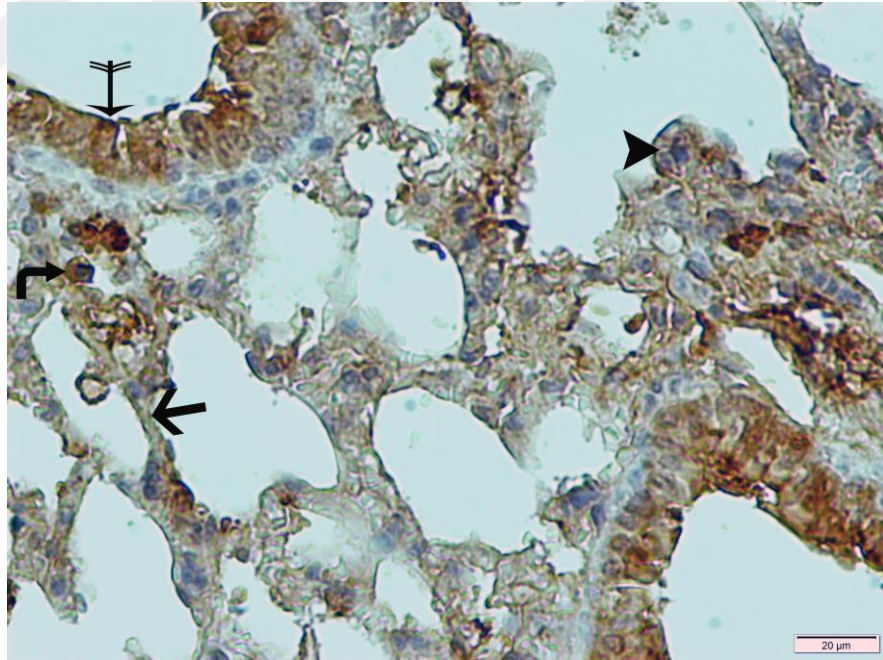
Tüm gruplara ait farelerin akciğer dokusunda NF-kB immünoreaktivite derecesi hücre düzeyinde değerlendirildi. Kontrol grubunda, NF-kB immünoreaktivitesi, Clara hücreleri, endotel hücreleri, Tip 1 ve 2 pnömosit hücreleri ve alveolar makrofajlarda az derecede vardı (Tablo 2, Resim 19). Sham Grubunda da NF-kB immünoreaktivitesi, bu hücrelerde, kontrol grubuna benzer olmakla birlikte orta derecedeydi (Tablo 2, Resim 21). STZ diyabet grubunda, kontrol ve sham gruplarına göre bu hücrelerde belirgin bir NF-kB immünoreaktivitesi artışı vardı. Endotel hücrelerinde yoğun derecede, Clara hücrelerinde, Tip 1 ve 2 pnömosit hücrelerinde ve alveolar makrofajlarda çok yoğun derecede immünoreaktivite vardı (Tablo 2, Resim 20, 22, 23). Pozitif kontrol grubunda, karaciğer dokusunda, hepatositlerde immünoreaktivite gözlemlendi (Resim 24). Negatif kontrol grubu akciğer dokusunda parankimal ve stromal hücrelerin hiçbirinde reaksiyon görülmedi (Resim 25).

Tablo 2. Gruplar arası NF-kB İmmünoreaktivitesinin Semikantitatif Analiz Sonuçları.

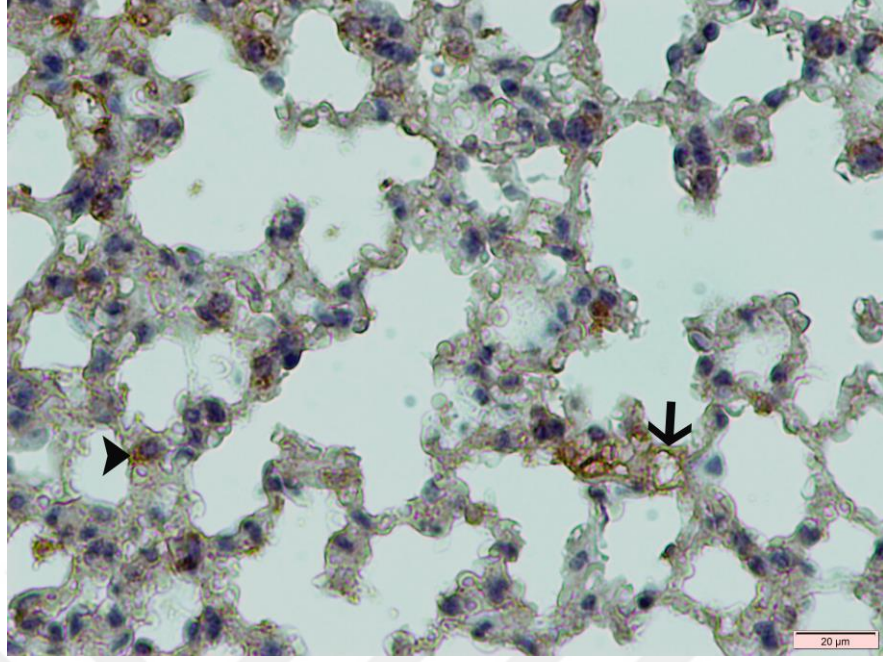
Gruplara ait NF-kB			
İ.R yoğunluğu	Kontrol	Sham	STZ diyabet
Clara Hücreleri	+	++	++++
Endotel Hücreleri	+	++	+++
Tip 1 pnömosit	+	++	++++
Tip 2 pnömosit	+	++	++++
Alveolar makrofaj	+	++	++++



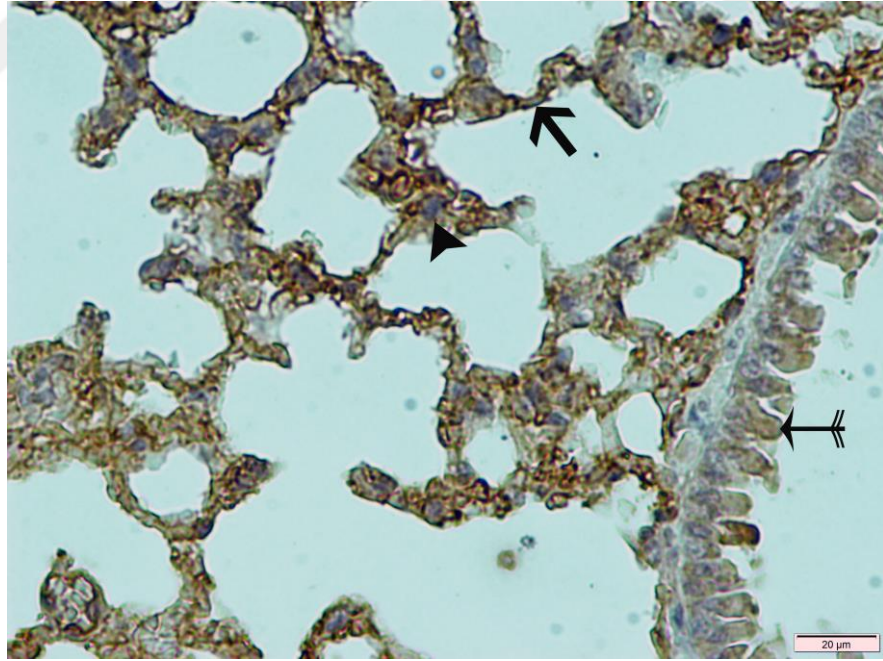
Resim 19. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 Pnömosit, **Ok Başı:** Tip 2 Pnömosit.



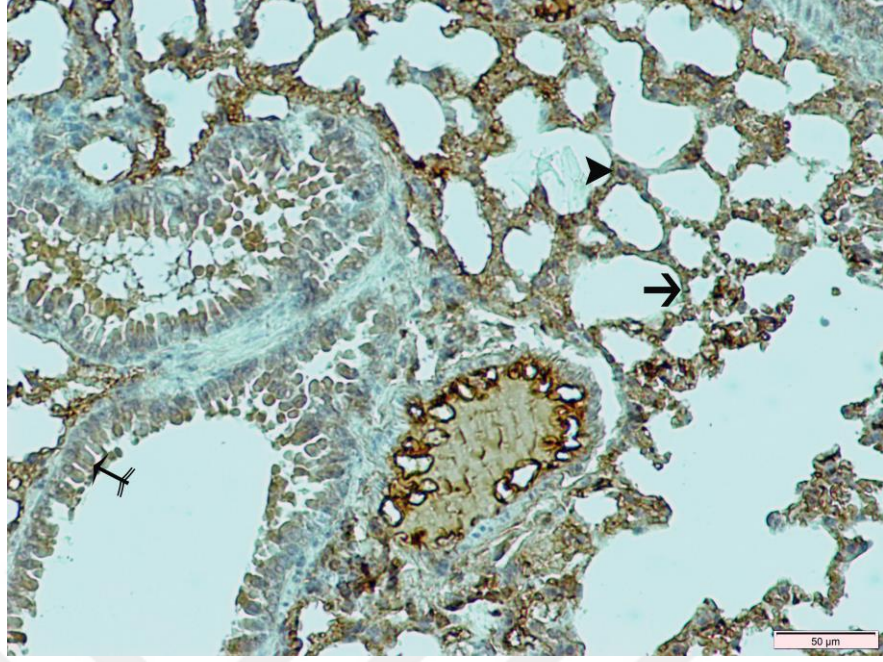
Resim 20. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 Pnömosit, **Ok Başı:** Tip 2 Pnömosit, **Kuyruklu Ok:** Clara Hücresi, **Kıvrık Ok:** Alveolar Makrofaj.



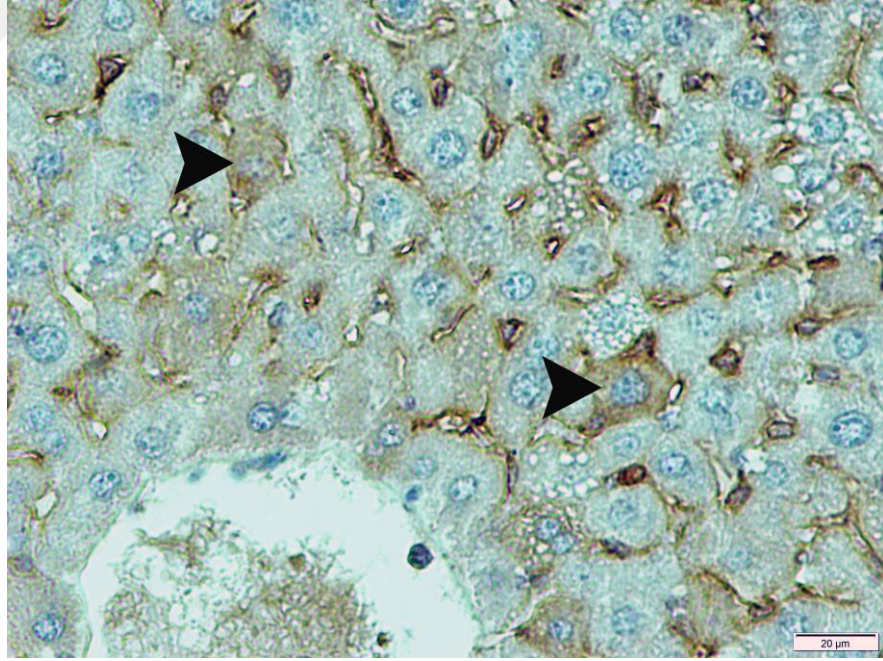
Resim 21. Sham Grubu Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 Pnömosit, **Ok Başı:** Tip 2 Pnömosit.



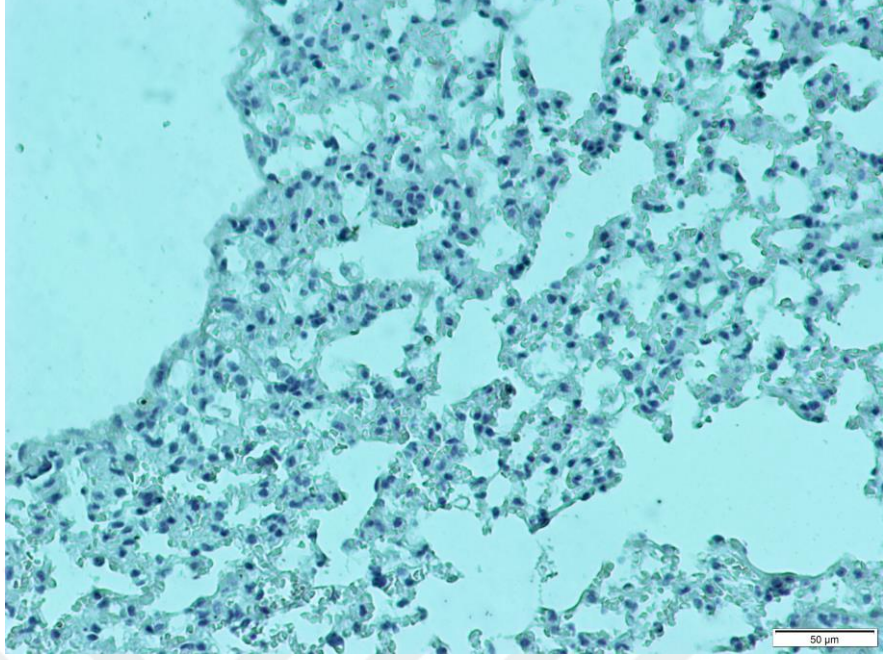
Resim 22. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 Pnömosit, **Ok Başı:** Tip 2 Pnömosit, **Kuyruklu Ok:** Clara Hücresi.



Resim 23. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda NF-kB İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 Pnömosit, **Ok Başı:** Tip 2 Pnömosit, **Kuyruklu Ok:** Clara Hücresi.



Resim 24. Pozitif Kontrol Karaciğer Dokusu NF-kB İmmünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Hepatosit.



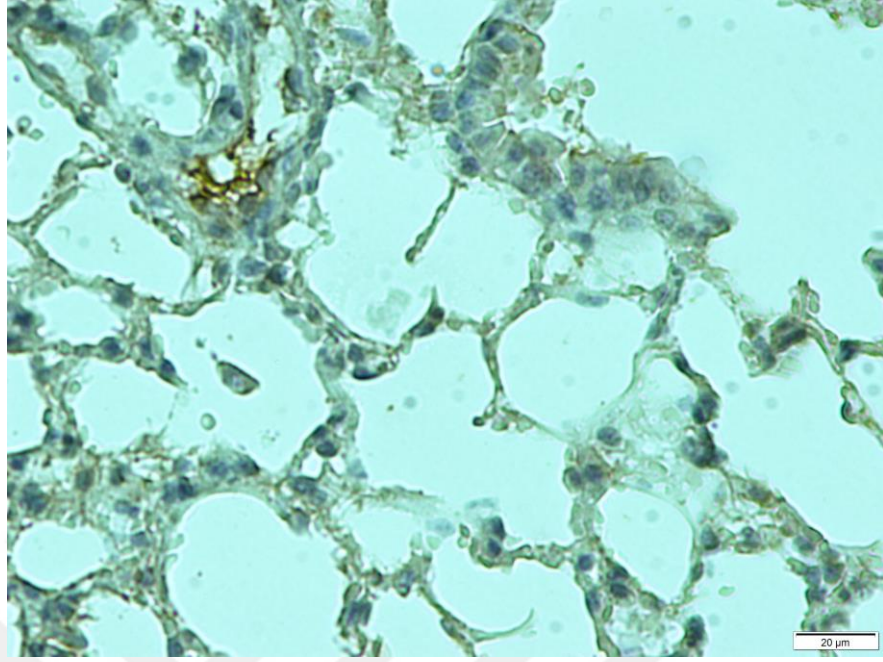
Resim 25. Negatif Kontrol Akciğer Dokusu NF-kB İmmünoreaktivitesi.

4.2.3. Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi

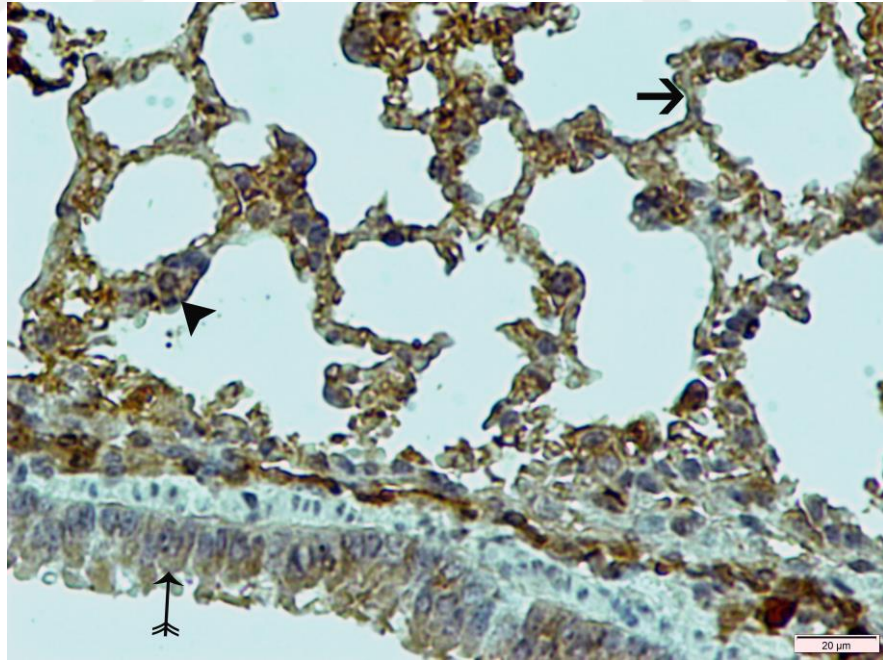
Tüm gruplara ait farelerin akciğer dokusunda Kaspaz 3 immünoreaktivite derecesi hücre düzeyinde değerlendirildi. Kontrol grubunda, kaspaz 3 immünoreaktivitesi, Clara hücreleri, endotel hücreleri, Tip 1 ve 2 pnömosit ve de alveolar makrofaj hücrelerinde gözlenmedi (Tablo 3, Resim 26). Sham grubunda ise bu hücrelerin hepsinde az derecede kaspaz 3 immünoreaktivitesi gözlendi (Tablo 3, Resim 28). STZ diyabet grubunda, kontrol ve sham grubuna göre belirgin ve artmış immünoreaktivite izlendi. Clara hücreleri, endotel hücreleri, Tip 1 ve 2 pnömosit ve alveolar makrofaj hücrelerinde kaspaz 3 immünoreaktivitesi çok yoğun derecedeydi (Tablo 3, Resim 27, 29, 30). Pozitif kontrol grubunda, karaciğerde immünoreaktivite gösteren immünpozitif hepatositler izlendi (Resim 31). Negatif kontrol grubu akciğer dokusunda parankimal ve stromal hücrelerin hiçbirinde reaksiyon görülmedi (Resim 32).

Tablo 3. Gruplar arası Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesinin Semikantitatif Analiz Sonuçları.

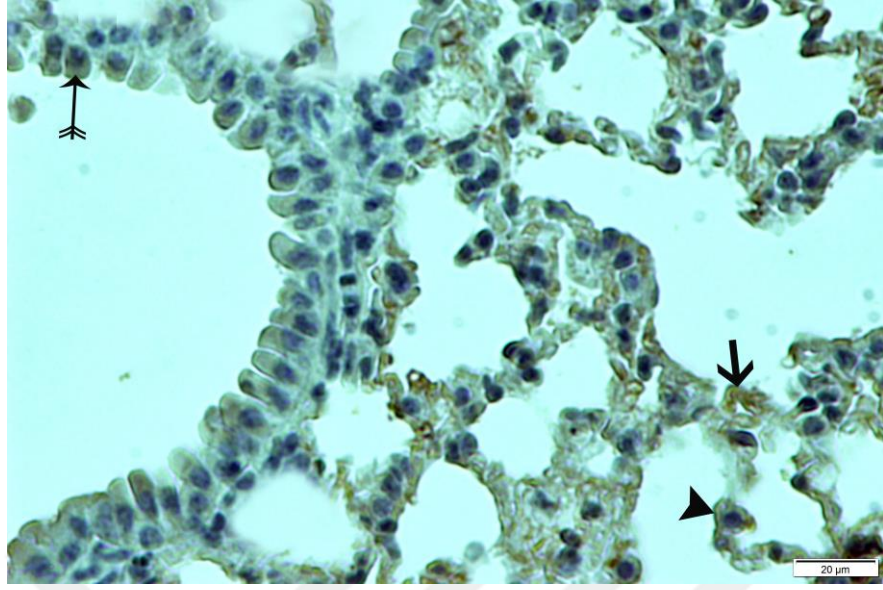
Gruplara ait Kaspaz 3 İ.R yoğunluğu	Kontrol	Sham	STZ diyabet
Clara Hücreleri	-	+	++++
Endotel Hücreleri	-	+	++++
Tip 1 pnömosit	-	+	++++
Tip 2 pnömosit	-	+	++++
Alveolar makrofaj	-	+	++++



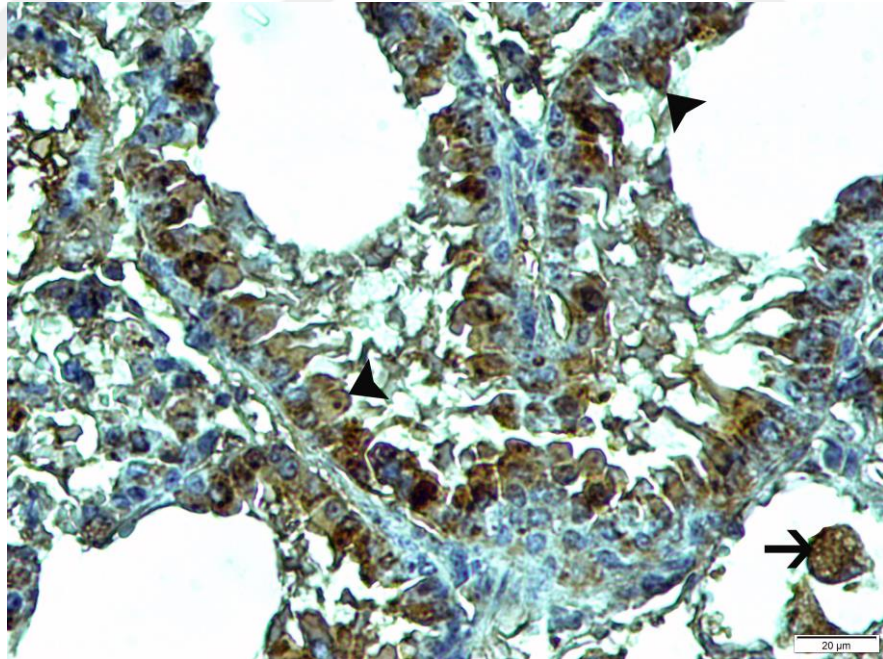
Resim 26. Kontrol Grubu Akciğer Dokusunda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi.



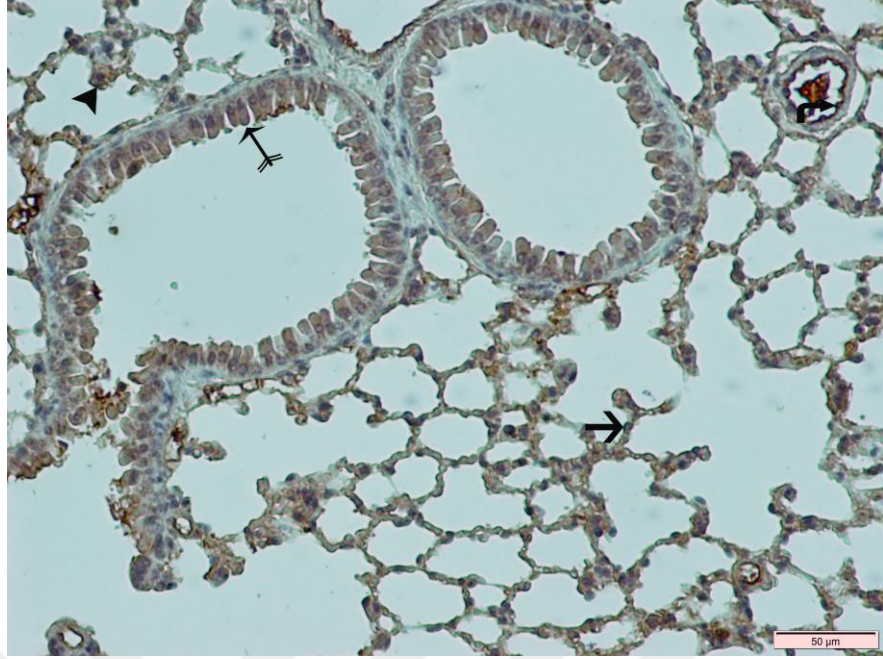
Resim 27. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 pnömosit, **Ok Başı:** Tip 2 Pnömosit, **Kuyruklu Ok:** Clara Hücresi.



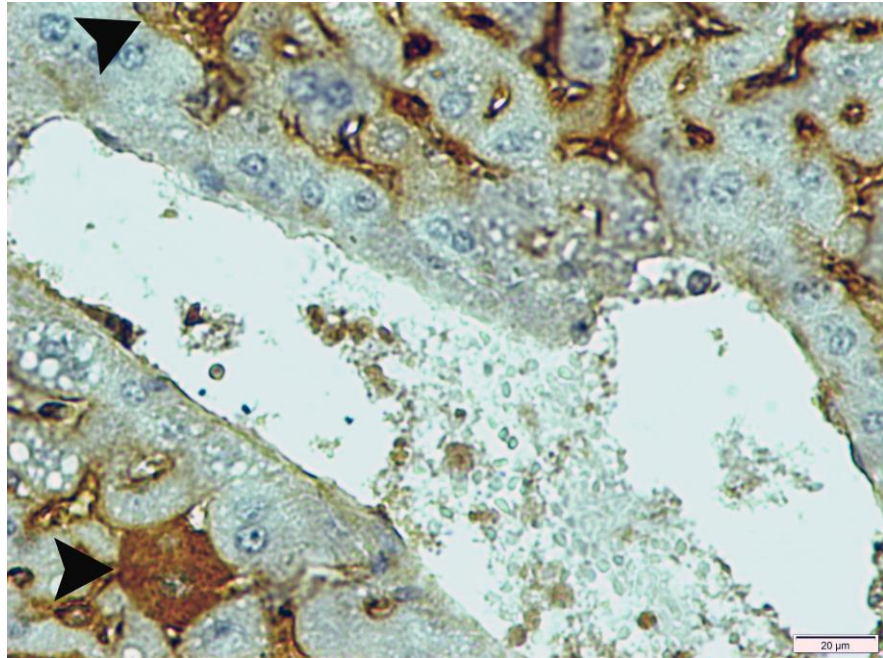
Resim 28. Sham Grubu Akciğer Dokusunda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 Pnömosit, **Ok Başı:** Tip 2 Pnömosit, **Kuyruklu Ok:** Clara Hücresi.



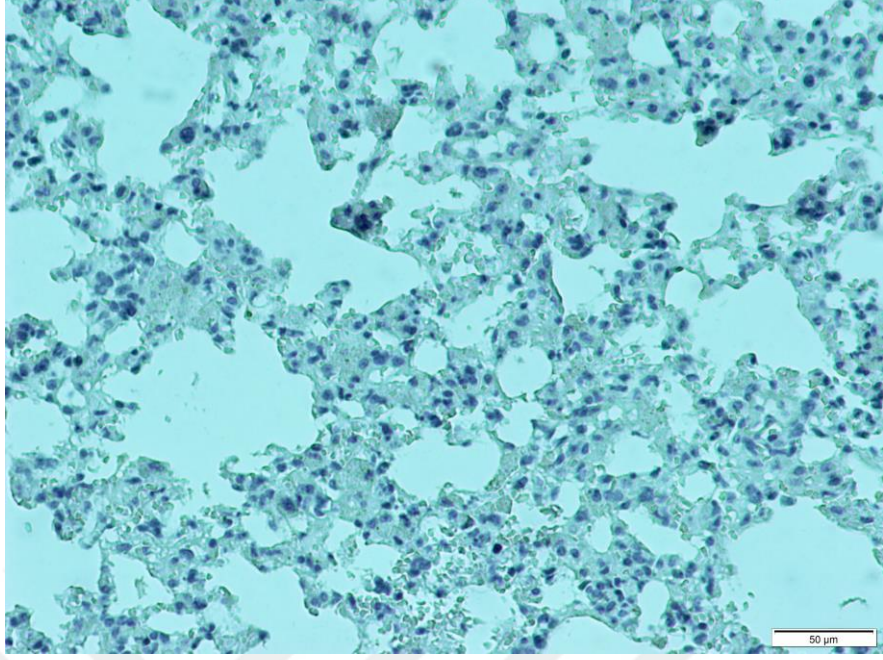
Resim 29. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Alveolar Makrofaj, **Ok Başı:** Clara Hücresi.



Resim 30. STZ diyabet Grubu Akciğer Dokusunda Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi. **Ok:** Tip 1 Pnömosit, **Ok Başı:** Tip 2 Pnömosit, **Kuyruklu Ok:** Clara Hücresi, **Kıvrık Ok:** Endotel Hücresi.



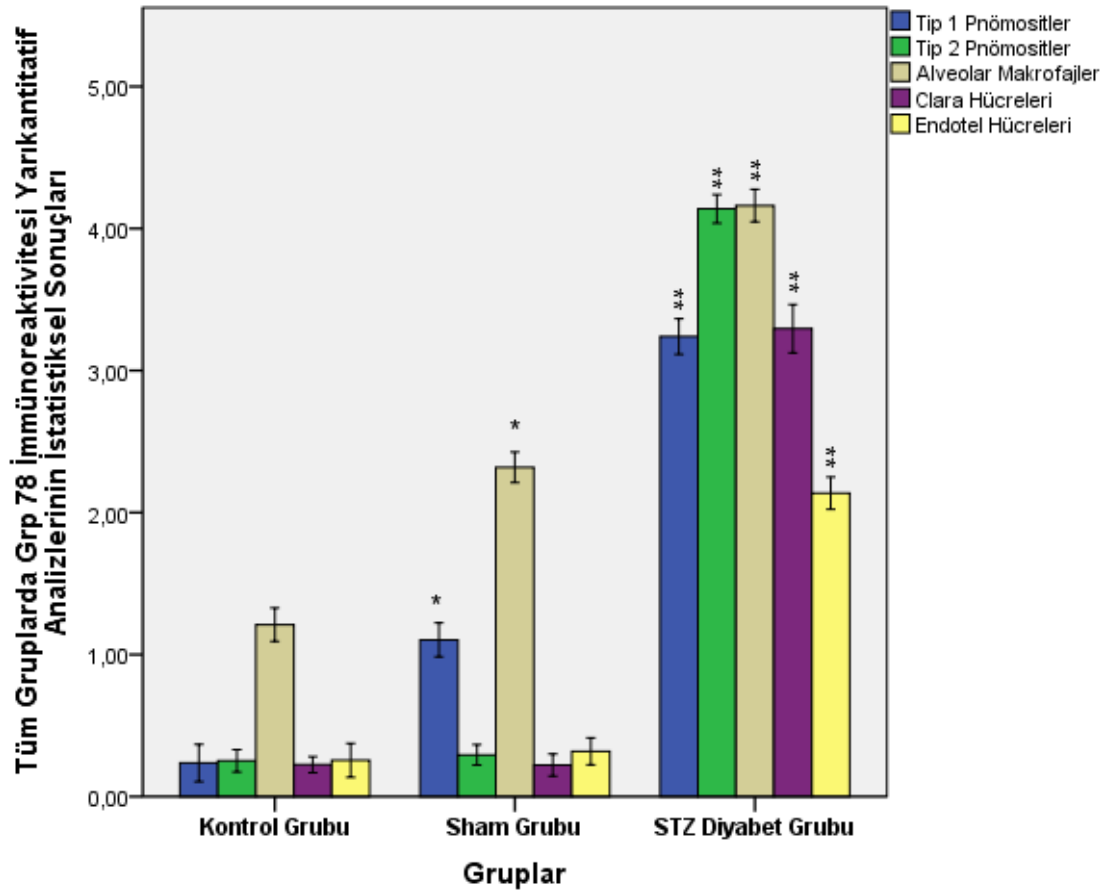
Resim 31. Pozitif Kontrol Karaciğer Dokusu Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Hepatosit.



Resim 32. Negatif Kontrol Akciğer Dokusu Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesi.

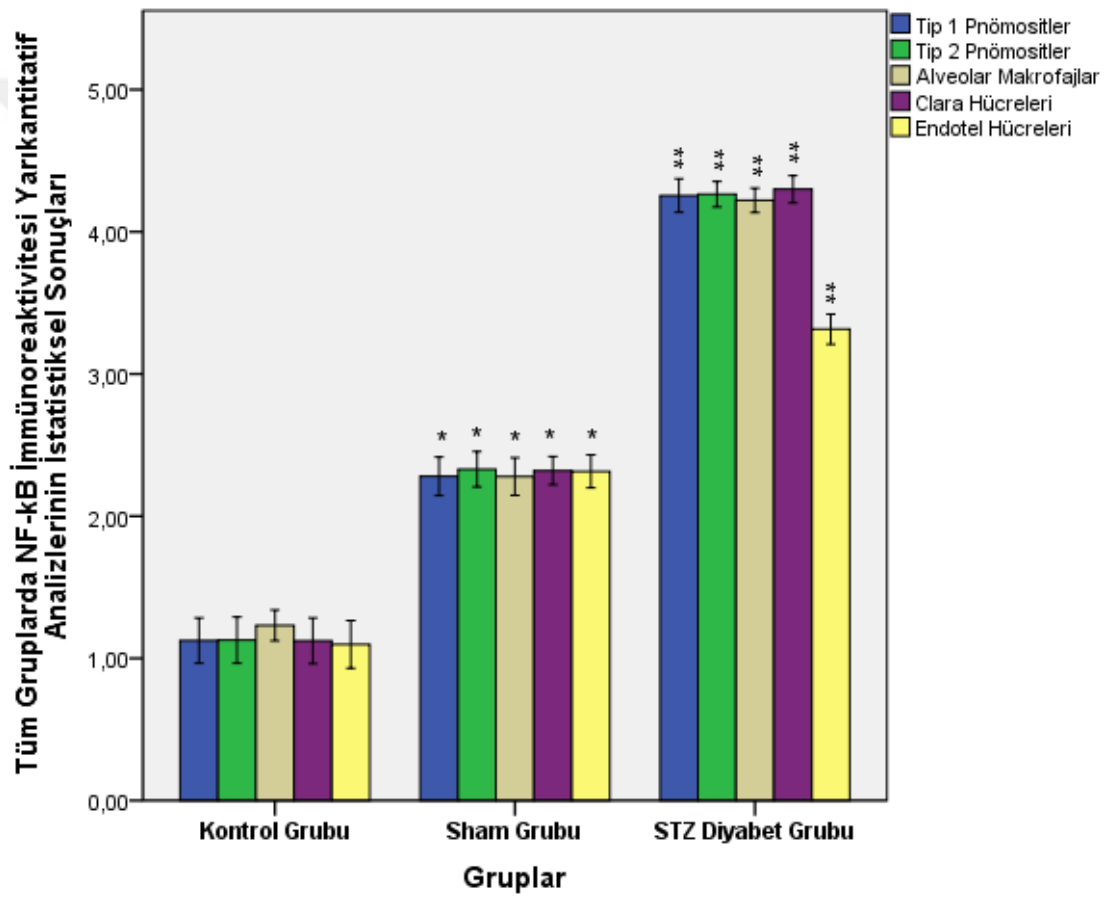
4.3. İstatiksel bulgular

Tüm gruplara ait Grp 78 immunoreaktivitesi yarıkantitatif analizlerinin istatistiksel sonucunda, kontrol ve sham grubunda Tip 2 pnömositler, Clara hücreleri ve endotel hücrelerine ait değerlerde anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0,05$). Ancak, bu iki grup arasında Tip 1 pnömositler ve alveolar makrofajlara ait değerler arasında anlamlı farklılık vardı ($p<0,05$). STZ diyabet grubunda ise hem kontrol hem de sham grubuna göre tüm hücrelerin değerlerinde anlamlı bir farklılık saptandı ($p<0,05$). Kontrol ve sham grubunun sonuçları STZ Diyabet grubu sonuçlarına göre önemli derecede düşüktü (Şekil 1).



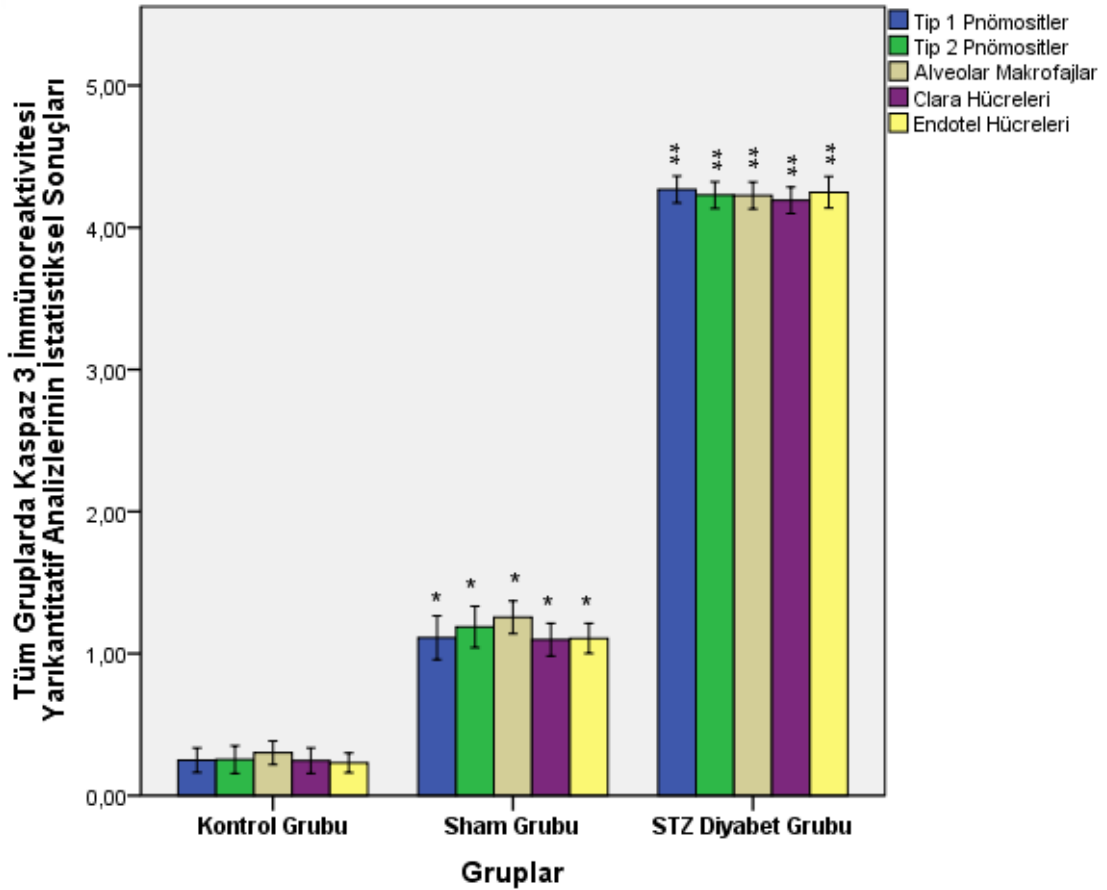
Şekil 1. Tüm Gruplarda Grp 78 İmmünoreaktivitesi Yarıkantitatif Bulgularının İstatistiksel Sonucunu gösterir grafik. (Sonuçların gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi post hoc analizi Bonferroni düzeltilmiş Mann Whitney U testi ile yapıldı. Gruplar arasındaki anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak kabul edildi. $p<0,05$ anlamlılık değeri * ve ** ile ifade edilmiştir.)

Tüm gruplarda NF-kB immünoaktivitesi yarıkantitatif analizlerinin istatistiksel sonucunda, tüm grupların değerleri arasında anlamlı bir farklılık ($p<0,05$) olduğu görüldü. STZ Diyabet grubuna ait sonuçların kontrol ve sham grubuna oranla belirgin seviyede yüksek olduğu gözlemlendi (Şekil 2).



Şekil 2. Tüm Gruplarda NF-kB İmmünoaktivitesi Yarıkantitatif Bulgularının İstatistiksel Sonucunu gösterir grafik. (Sonuçların gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi post hoc analizi Bonferroni düzeltilmiş Mann Whitney U testi ile yapıldı. Gruplar arasındaki anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak kabul edildi. $p<0,05$ anlamlılık değeri * ve ** ile ifade edilmiştir.)

Tüm gruplara ait kaspaz 3 immünoaktivitesi yarıkantitatif analizlerinin istatistiksel sonucunda, tüm grupların sonuçları arasında anlamlı bir fark görüldü ($p<0,05$). Dikkat çekici olan ise STZ Diyabet grubu sonuçlarının diğer iki deneysel grup olan kontrol ve sham grubuna göre oranla önemli derecede yüksek seviyede olmasıydı (Şekil 3).



Şekil 3. Tüm Gruplarda Kaspaz 3 İmmünoaktivitesi Yarıkantitatif Bulgularının İstatistiksel Sonucunu gösterir grafik. (Sonuçların gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi post hoc analizi Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile yapıldı. Gruplar arasındaki anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak kabul edildi. $p<0,05$ anlamlılık değeri * ve ** ile ifade edilmiştir.)

5. TARTIŞMA

Tip 1 diyabet ile akciğer (Kida ve ark. 1983, Popov ve Simionescu 1997, Sandler 1990) ve akciğer ile ER stresi (Majors ve ark. 2003, Lawson ve ark. 2011, Tanjore ve ark. 2013) arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Ancak, yaptığımız literatür taramalarında, Tip 1 diyabetin akciğer dokusunda ER stresine yol açıp açmadığını bildiren herhangi bir çalışmaya rastlanmadı. Ayrıca diyabette akciğerde ER stresini inceleyen immünohistokimyasal bir araştırmaya da rastlanmadı. Çalışmamızda, metabolik bir hastalık olan Tip 1 diyabetin akciğer dokusu üzerinde oluşturduğu histopatolojik ve immünohistokimyasal değişiklikleri göstermek ve ER stresinin oluşup oluşmadığını ortaya koymak amaçlandı.

Histopatolojik Değerlendirmeler

Çalışmamızda, kontrol ve sham grubuna ait akciğer dokuları normal histolojik yapıda izlendi. Bronşların ve bronşiollerin respiratorik mukoza, submukoza ve adventisya katmanları gibi yapıları ve de alveolar epitel yapıları literatüre olarak paralel izlendi (Hinrichsen 1997, Gartner ve Hiatt 2006, Özer 2010, Ross ve Pawlina, 2011).

Alireza ve ark. (2013), STZ ile diyabet oluşturdukları sıçanların akciğer dokularını incelediklerinde Tip 2 pnömositlerde dejenerasyon olduğunu bildirmişlerdir. Kaparianos ve ark. (2008), STZ ile oluşturulan diyabet modellerinde akciğer dokusunda Tip 1 ve 2 pnömositlerde, lamina epitelyalis hücrelerinde dejenerasyon geliştiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda, STZ diyabet grubunda kontrol ve sham grubuna göre, Kaparianos ve ark. (2008) nın çalışmalarına benzer şekilde Tip 1 pnömositlerde ve bronşlar ile bronşiollerin lamina epitelyalis hücrelerinde dejenerasyon görüldü. Ayrıca Kaparianos ve ark. (2008) ve Alireza ve ark. (2013) nın çalışmalarına yakın şekilde Tip II pnömosit hücrelerinde artmış dejenerasyon izlendi. Bu çalışmalardan (Kaparianos ve ark. 2008, Alireza ve ark. 2013) farklı olarak çalışmamızda bazı alanlarda apoptotik cisimciklere benzer yapılara rastlandı.

Xiong ve ark. (2012), diyabet oluşturulan farelerin akciğer dokularında belirgin inflamasyon izlemişlerdir. Sunahara ve Martins (2012) ve Mo ve ark. (2009) diyabet durumunda akciğer dokularında alveolar makrofaj sayısının arttığını bildirmişlerdir. Alireza ve ark. (2013), STZ ile diyabet yapılan grupların akciğer dokularında

polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu izlemişlerdir. Devaraj ve ark. (2006), Tip 1 diyabet hastalarında monosit ve makrofaj aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Mohsenin ve Latifpour (1990), diyabet durumunda alveolar makrofajların bakteriyi fagosite etme yeteneğinin azaldığını bundan dolayı polimorfonükleer lökosit aktivasyonunun uyarıldığını bildirmişlerdir. Popov ve Simionescu (1997), diyabet çalışmalarında kapillerlerden dokuya geçiş yapan intravasküler makrofajlar bulunduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızın STZ diyabet grubunda, diğer gruplara göre, Sunahara ve Martins (2012) ve Mo ve ark. (2009) nın çalışmalarında bildirdiği gibi belirgin miktarda artmış alveolar makrofajların yanısıra, Devaraj ve ark. (2006) rapor ettiği gibi lenfosit ve Alireza ve ark. (2013) çalışmalarında gösterdiği gibi polimorfonükleer lökosit infiltrasyonları izlendi. Ayrıca çalışmamızda Popov ve Simionescu (1997) nun çalışmalarında olduğu gibi kapillerlerden dokuya geçiş yapan intravasküler makrofajlar da gözlemlendi. Çalışma bulgularımız ele alındığında Xiong ve ark. (2012) nın, çalışmalarında bildirdiği gibi inflamasyon oluştuğu, görülen polimorfonükleer lökosit infiltrasyonunun ise Mohsenin ve Latifpour (1990) un çalışmalarında belirttiği gibi alveolar makrofajların bakteriyi fagosite etme yeteneğinin azalmasına bağlı gelişebileceği düşünülmüştür. Bu çalışmalardan (Mohsenin ve Latifpour 1990, Popov ve Simionescu 1997, Devaraj ve ark. 2006, Xiong ve ark. 2012, Sunahara ve Martins 2012, Alireza ve ark. 2013) farklı olarak çalışmamızda nadiren dev hücreler gözlemlendi. Yapılan literatür taramalarında, STZ ile diyabet oluşturulan deneysel çalışmalarda akciğer dokusunda dev hücreler ile ilgili bir bulguya rastlanmadı. Ancak STZ ile diyabet oluşturulan deneysel çalışmalarda testiste (Özdemir ve ark. 2009, Kianifard ve ark. 2012) ve böbrekte (Honjo 1986) dev hücrelerin görüldüğü rapor edilmiştir.

Kaparianos ve ark. (2008), çalışmalarında diyabetik akciğer dokularında bağ doku hücrelerinde dejenerasyon olduğunu bildirmişlerdir. Ofuwe ve ark (1988), Tip 1 diyabet oluşturdukları sıçanlarda akciğer bağ doku yapısında dejeneratif değişiklikler olduğunu tespit etmişlerdir. Popov ve Simionescu (1997), STZ ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde, akciğer dokusunun ultrastrüktürel analiz bulgularında kollagen ipliklerin miktarının arttığını rapor etmişlerdir. Alireza ve ark. (2013), STZ uygulanan diyabetik grup akciğer dokularında pulmoner fibrozis ve alveolar septum kalınlığı artışı izlendiğini belirlemişlerdir. Kida ve ark. (1983), araştırmalarında

diyabetik alveolar duvar hacim oranında sağlıklı gruba göre %24 artış izlediklerini bildirmişlerdir. Sandler (1990), diyabetin, artmış alveolar epitel kalınlığına sebep olduğunu göstermiştir. Farina ve ark (1995) Tip 1 diyabet oluşturulmuş akciğer dokusunda nodüler fibrozis bulgusunu saptamışlardır. Zuo ve ark. (2012) ve Wang ve ark. (2016a), STZ ile oluşturulmuş diyabet çalışmalarında, akciğer dokularında dejeneratif değişiklikler oluştuğunu ve bu durumun pulmoner fibrozis için bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda, STZ diyabet grubu diğer deneysel gruplar ile kıyaslandığında, Popov ve Simionescu (1997) nın çalışmalarında olduğu gibi akciğer dokusunda kollagen miktarında artış, Ofuwe ve ark. (1988) nın çalışmalarında olduğu gibi bağ doku yapısında dejeneratif değişiklikler, Alireza ve ark. (2013) nın çalışmalarında olduğu gibi interalveolar septumlarda dejenerasyon gözlenmiştir. Kida ve ark. (1983) nın ve Alireza ve ark. (2013) nın çalışmalarında olduğu gibi alveolar septum ve de Sandler (1990) ın çalışmasına benzer şekilde alveolar epitelde kalınlaşma izlendi ancak farklı olarak bu kalınlaşmaların yer yer olduğu görülmüştür. Zuo ve ark. (2012), Alireza ve ark. (2013) ve Wang ve ark. (2016a) nın çalışmalarına benzer şekilde akciğer dokularında hasar oluştuğu ve bu durumun pulmoner fibrozis için bir risk faktörü olabileceği düşünüldü. Ayrıca Kaparianos ve ark. (2008) çalışmalarında bağ doku hücrelerinde görülen dejenerasyon bizim çalışma bulgularımızda görülen kollagen birikimini ve hyalinizasyon oluşumunu destekler niteliktedir.

Matsubara ve ark. (1991), diyabet oluşturulmuş akciğer dokularında arteriollerin ve kapillerlerin duvarlarında değişimler olduğunu bildirmişlerdir. Popov ve Simionescu (1997), diyabet oluşturdukları çalışmalarında, akciğer dokularında, kapillerlerin ve venüllerin endotelyumlarında yapısal değişikliklerin olduğunu göstermiştir. Alireza ve ark. (2013) nın, STZ uygulanan çalışmalarında, akciğer dokularında vasküler değişiklikler izlemişlerdir. McCloud ve ark. (2004) nın, Tip 1 diyabet oluşturulan akciğer dokularında kapiller dilatasyonu ve parankimal hemoraji izlemişlerdir. Çalışmamızda, STZ diyabet grubunda, kontrol ve sham grubuna göre, Alireza ve ark. (2013) çalışmalarında bildirdiği gibi vasküler değişiklikler izlendi. Matsubara ve ark. (1991) nın çalışmalarına benzer şekilde arteriollerin ve kapillerlerin duvarlarında, Popov ve Simionescu (1997) nun çalışmalarındaki gibi kapillerlerin ve venüllerin endotelyumlarında yapısal değişiklikler görüldü. Ancak Matsubara ve ark.

(1991) ve Popov ve Simionescu (1997) nin çalışmalarından farklı olarak arteriol ve venüllerin çoğunun hem endotellerinde ve hem de kas tabakasında dejenerasyon saptanmıştır. McCloud ve ark. (2004) nin çalışmalarında olduğu gibi kapiller dilatasyon ve parankimal hemoraji izlenmekle birlikte farklı olarak bu bulguların bazı alanlarda olduğu saptanmıştır.

İmmünohistokimyasal değerlendirme

Grp 78 İmmünoreaktivitesini Değerlendirme

Normal akciğer dokusunda Grp 78'in immünoreaktivitesini inceleyen çalışmalarda, Zhong ve ark. (2011) Tip 2 pnömosit hücrelerinde, Tagawa ve ark. (2008) bronş epitelinde Grp 78 immünoreaktivitesini izlemediklerini bildirmişlerdir. Baek ve ark. (2012), normal akciğer dokusunda Grp 78 immünoreaktivitesinin görülmediğini ancak alveolar makrofajlarda zayıf Grp 78 immünoreaktivitesi görüldüğünü bildirmişlerdir. Tanjore ve ark. (2012) alveolar epitel hücrelerinde çok az ya da hiç boyanma olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda, kontrol grubunda, Zhong ve ark. (2011) nin çalışmalarına benzer şekilde Tip 2 pnömosit hücrelerinde, Tagawa ve ark. (2008) nin çalışmalarında olduğu gibi Clara hücrelerinin bulunduğu bronş epitelinde Grp 78 immünoreaktivitesi görülmemiştir. Baek ve ark. (2012) nin çalışmalarına benzer şekilde ve Tanjore ve ark. (2012) nin çalışmasından farklı olarak alveolar makrofajların az derecede reaksiyonu dışında akciğer dokusunda Grp 78 immünoreaktivitesi izlenmemiştir. Sham grubunda ise bu hücrelerden sadece Tip 1 pnömositlerde az derecede ve alveolar makrofaj hücrelerinde ise orta derecede Grp 78 immünoreaktivitesi gözlenmiştir. Bu durumun ise deneysel koşullara bağlı olarak farelerde oluşan stresten kaynaklanabileceği düşünüldü.

Diyabet oluşturulan çalışmalarda, akciğer dokusunda, Grp 78 immünoreaktivitesini bildiren araştırmalara rastlanılmadı. Ancak Tip 1 diyabet oluşturulmuş diğer dokulara ait çalışmalarda; De Blasio ve ark. (2017), STZ uygulanan ve diyabetik nefropati oluşturdukları çalışmalarında, Grp 78 gen ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir. Li ve ark. (2007), STZ uygulanan sıçanların miyokart dokularının immünohistokimyasal incelemesi ve real time PCR (RT-PCR) analizinde, Grp 78'in protein ve mRNA düzeylerinin arttığını rapor etmişlerdir. Liu ve ark. (2008), STZ uygulanan deneysel çalışmalarında, böbreklerde yoğun derecede Grp 78 immünoreaktivitesi olduğunu ve Grp78'in mRNA düzeyinde artış olduğunu

göstermişlerdir. Li ve ark. (2009), Tip 1 diyabetin genetik modeli olan Akita farelerinin retinalarında Grp 78'in immünoaktivitesinde ve mRNA düzeylerinde artış olduğunu göstermişlerdir. Zhao ve ark. (2015), diyabetik ensefalopati çalışmalarında hipokampus dokusunda ER stresinin varlığını tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada (Zhao ve ark. 2015), immünohistokimyasal ve western blot analizleri sonucunda Grp 78 aktivasyonunun arttığını göstermişlerdir. Chen ve ark. (2014), STZ uygulanan sıçanların mide düz kas hücrelerinde Grp 78 immünoaktivite derecesini yüksek izlemişlerdir. Yapılan diyabet oluşturulmuş çalışmalarda, miyokard (Li ve ark. 2007), böbrek (Liu ve ark. 2008, De Blasio ve ark. 2017), hipokampus (Zhao ve ark. 2015), retina (Li ve ark. 2009) ve mide (Chen ve ark. 2014) gibi dokularda ER stresinin önemli göstergesi olan Grp 78 immünoaktivitesinde önemli derecede artış olduğu görülmüştür. Bizim diyabet oluşturduğumuz farelerimizde de benzer şekilde akciğer dokusunun epitel hücrelerinde ER stresinin varlığını gösteren belirleyici protein olan Grp 78 immünoaktivitesinde önemli derecede artış görülmüştür.

ER stresinin meydana geldiği akciğer dokularına ait Grp 78 immünoaktivitesini inceleyen immünohistokimyasal çalışmalar (Tanjore ve ark. 2012, Baek ve ark. 2012, Tagawa ve ark. 2008, Zhong ve ark. 2011) vardır. Tanjore ve ark. (2012) bleomisin ve tunimakisin ile oluşturulan ER stresi çalışmalarında alveolar epitel hücrelerinde Grp 78 immünoaktivitesinde artış görüldüğünü bildirmişlerdir. Baek ve ark. (2012) yaptıkları bir çalışmada, bleomisin ile ER stresi oluşturulmuş fare akciğer dokularında Tip 1 pnömosit, Tip 2 pnömosit ve alveolar makrofajlarda kuvvetli derecede, fibroblastlarda ise daha az derecede Grp78 immünoaktivitesi olduğunu belirlemişlerdir. Tagawa ve ark. (2008), ER stresinin bronşial epitelde ve alveolar epitel hücrelerinde apoptozise sebep olduğunu bildirmişlerdir ve bu hücrelerde Grp 78 artışı izlemişlerdir. Zhong ve ark. (2011), ER stresi oluşturdukları farelerin akciğer dokusunda, Tip 2 pnömosit hücrelerinde Grp 78 immünoaktivitesi artışı izlemişlerdir. Bizim çalışmamızda, STZ diyabet grubunda Tanjore ve ark. (2012) ve Tagawa ve ark. (2008) nin çalışmalarına benzer şekilde alveolar epitel hücrelerinde ve Tagawa ve ark. (2008) nin çalışmalarında olduğu gibi bronşial epitellerde, Zhong ve ark. (2011) nin çalışmalarına benzer şekilde Tip 2 pnömosit hücrelerinde Grp 78 immünoaktivitesinde artış görüldü. Ayrıca

çalışmamızda Baek ve ark. (2012) nın çalışmalarında belirttiği gibi Tip 1 ve Tip 2 pnömosit hücreleri ile alveolar makrofajlarda yoğun derecede immünoreaktivite gözlemledik ancak bizim bulgularımızda Tip 2 pnömosit hücreleri ve alveolar makrofajlarda immünoreaktivite derecesi daha yoğun olarak belirlendi. Baek ve ark. (2012) nın bulgularından farklı olarak çalışmamızda endotel hücrelerinde orta, Clara hücrelerinde ise yoğun derecede Grp 78 immünoreaktivite artışı da izlendi.

Diyabet oluşturulmuş çalışmalara ait farklı dokularda (Li ve ark. 2007, Liu ve ark. 2008, De Blasio ve ark. 2017, Zhao ve ark. 2015, Li ve ark. 2009, Chen ve ark. 2014) Grp 78 immünoreaktivitesinin artması ve buna paralel olarak ER stresinin artış göstermesi, diyabet oluşturulan çalışmamızda da benzer şekilde akciğer dokusunda Grp 78 immünoreaktivitesinin önemli derecede ve istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) artış göstermesi, Tip 1 diyabetin akciğer dokusunda ER stresine yol açabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca diyabetten bağımsız ER stresi oluşturulan akciğer dokularına ait çalışmalarda (Tanjore ve ark. 2012, Baek ve ark. 2012, Tagawa ve ark. 2008, Zhong ve ark. 2011) akciğer epitel hücrelerinde Grp 78 immünoreaktivitesinin artması bu düşüncemizi destekler niteliktedir.

NF-kB İmmünoreaktivitesini Değerlendirme

Normal akciğer dokusunda NF-kB'nin immünoreaktivitesinin izlenmediği birçok araştırmacı (Wang ve ark. 2016b, Al-Gabri ve ark. 2017, Eickmeier ve ark. 2013) tarafından bildirilmiştir. Diğer yandan bazı araştırmacılar ise normal akciğer dokusunda (Beigh ve ark. 2017), alveolar epitelde (Liu ve ark. 2011) ve alveolar makrofajlarda (Farver ve ark. 1998) zayıf derecede, bronş ve bronşiollerin epitelinde orta derecede (Liu ve ark. 2011) NF-kB immünoreaktivitesinin görüldüğünü göstermişlerdir. Çalışmamızın immünohistokimyasal bulgularında, kontrol grubunda akciğer dokusunda NF-kB immünoreaktivitesinin görülmediğini bildiren Eickmeier ve ark. (2013), Wang ve ark. (2016b) ve Al-Gabri ve ark. (2017) dan farklı olarak, Beigh ve ark. (2017) na ise benzer şekilde normal akciğer dokusunda az derecede immünoreaktivite gözlemlendi. Ancak Beigh ve ark. (2017) nın çalışmalarından farklı olarak bizim çalışmamızda hücre düzeyinde immünoreaktivite değerlendirilmiş olup, Clara hücreleri, endotel hücreleri, Tip 1 ve 2 pnömositler ve alveolar makrofajlarda az derecede immünoreaktivite izlenmiştir. Ayrıca Farver ve ark. (2011) nın çalışmalarında belirttiği üzere bizim çalışmamızda da alveolar makrofajlarda az

derecede reaksiyon gözlemlendi. Çalışmamızda sham grubunda bronş ve bronşiollerin epitelinde orta derecede NF-kB immünoreaktivitesinin görülmesi Liu ve ark. (2011) çalışmalarına benzer iken diğer hücrelerde de orta derecede NF-kB immünoreaktivitesinin görülmesi Liu ve ark. (2011) nın çalışma bulgularından farklıdır.

Yapılan literatür taramalarında, Tip 1 diyabet oluşturulan deneysel araştırmalarda, akciğer dokularında, NF-kB immünoreaktivitesini bildiren bir çalışmaya rastlanılmadı. Bununla birlikte, diyabet oluşturulmuş çalışmalara ait diğer dokularda NF-kB aktivitesini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır (Alves ve ark. 2005, Dias ve ark. 2005, Chen ve ark. 2008, Wang ve ark. 2010, Su ve ark. 2012). Bunlardan Alves ve ark. (2005), STZ ile oluşturulan diyabet çalışmalarında, sıçan tükürük bezlerinde immünohistokimyasal ve Western blot analizlerinde, NF-kB aktivasyonunun arttığını bildirmişlerdir. Chen ve ark. (2008), Tip 1 diyabet oluşturdukları çalışmalarında, sıçanların böbrek dokularına ait immünohistokimyasal, Western blot ve RT-PCR analizlerde NF-kB aktivasyonunda belirgin bir artış olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada NF-kB immünoreaktivitesinin yoğun derecede arttığını böbrek dokusu glomerüllerinde göstermişlerdir. Su ve ark. (2012), STZ ile oluşturulan diyabet çalışmalarında, retina dokularının immünohistokimyasal incelemelerinde çift immünoflöresan metodu ile retinal hücrelerde artmış NF-kB immünoreaktivitesi izlemişlerdir. Dias ve ark. (2005), Tip 1 diyabet oluşturulan deneysel çalışmalarında karaciğer dokularında elektroforez analiz yöntemi ile, Wang ve ark. (2010), ise immünohistokimyasal incelemelerinde NF-kB aktivasyonunun aşırı arttığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda, diyabet oluşturulan fare akciğer dokularında, NF-kB immünoreaktivitesinin önemli derecede arttığı izlendi. Tip 1 diyabet oluşturulmuş tükürük bezi (Alves ve ark. 2005), böbrek (Chen ve ark. 2008), retina (Su ve ark. 2012), karaciğer (Dias ve ark. 2005, Wang ve ark. 2010) dokularına ait bu çalışmalarda, NF-kB aktivasyonunun belirgin şekilde arttığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde, diyabet oluşturulmuş akciğerlerin epitel hücrelerinde NF-kB immünoreaktivitesinde önemli derecede artış görüldü.

Beigh ve ark. (2017), bleomisin uygulaması ile ER stresinin olduğu akciğer dokularında, akciğer epitel hücrelerinde NF-kB immünoreaktivitesinde kuvvetli derecede artış izlemişlerdir. Serrano-Mollar ve ark. (2003), bleomisin ile ER stresinin

meydana geldiği modellerde akciğer dokularında, bronşial epitel hücrelerinde, alveol epitel hücrelerinde ve alveolar makrofajlarda, NF-kB immünoreaktivitesinde önemli derecede artış olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da akciğer epitel hücrelerinde çok yoğun NF-kB immünoreaktivesi izlenmiştir. Çalışmamızın sonuçları ile Beigh ve ark. (2017) ve Serrano - Mollar ve ark. (2003) nın bulguları paralellik göstermekle birlikte bu bulgulara ilaveten çalışmamızda endotel hücrelerinde de yoğun NF-kB immünoreaktivitesi izlenmiştir.

STZ diyabet grubunda, aşırı derecede ve istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) inflamatuvar transkripsiyon faktörü olan NF-kB'nin immünoreaktivitesi artışını gösteren bulgularımız ile diyabet oluşturulmuş diğer dokulara ait çalışmaların (Alves ve ark. 2005, Dias ve ark. 2005, Chen ve ark. 2008, Wang ve ark. 2010, Su ve ark. 2012) bulguları ve ER stresi meydana gelmiş akciğer dokularındaki çalışmalara (Beigh ve ark. 2017, Serrano-Mollar ve ark. 2003) ait bulgular benzerdir. Bulgular arasındaki bu benzerlik sonucunda, Tip 1 diyabetin akciğer dokularında oluşturduğu ER stresi ile artış gösterebilen NF-kB aktivasyonunu tetikleyebileceği düşünülmüştür.

Kaspaz 3 İmmünoreaktivitesini Değerlendirme

Beigh ve ark. (2017) tarafından normal akciğer dokusunda kaspaz 3 immünoreaktivitesinin izlenmediği bildirilmiştir. Saad ve ark. (2016), normal akciğer dokularında kaspaz 3 immünoreaktivitesinin gözlenmediğini belirlemiştir. Mohammed ve ark. (2017), çalışmalarında sham grubu akciğer dokusunda bronşial epitel hücrelerinde zayıf reaksiyon olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızın immünohistokimyasal bulgularında, Beigh ve ark. (2017) ve Saad ve ark. (2016) nın çalışmalarında olduğu gibi kontrol grubu akciğer dokusu hücrelerinde kaspaz 3 immünoreaktivitesi izlenmedi. Sham grubunda ise Mohammed ve ark. (2017) nın çalışmalarına benzer şekilde Clara hücrelerinde az derecede reaksiyon görülürken, farklı olarak ise endotel hücreleri, Tip 1 ve 2 pnömositler ve alveolar makrofajlarda da az derecede kaspaz 3 immünoreaktivitesi izlendi. Bu durumun ise, sham grubunda, deneysel koşullara bağlı farelerde oluşan strese bağlı gelişebileceği düşünüldü.

Tip 1 diyabet oluşturulan deneysel araştırmalarda, akciğer dokusunda, kaspaz 3 immünoreaktivitesini araştıran bir çalışmaya rastlanmadı. Ancak Tip 1 diyabet oluşturulmuş diğer dokulara ait çalışmalar vardır (Cai ve ark. 2002, Liang ve ark. 2012, Nagayach ve ark. 2014). Cai ve ark. (2002), STZ uygulanan farelerin miyokart

dokularının enzimatik analizinde kaspaz 3 ekspresyonunda anlamlı artış olduğunu göstermişlerdir. Nagayach ve ark. (2014), STZ ile uygulanan deneysel diyabet çalışmalarında, hipokampus bölgesinde kaspaz 3 aktivasyonu izlemişlerdir. Çalışmalarının immünohistokimyasal incelemelerinde astrosit ve mikroglia hücrelerinde kaspaz 3 immünoaktivitesini göstermişlerdir. Liang ve ark. (2012), STZ ile oluşturulan deneysel Tip 1 diyabet çalışmalarında, kemik dokularındaki osteoblastlarda, yoğun derecede kaspaz 3 immünoaktivitesi olduğunu göstermişlerdir. Kim ve ark. (2013), STZ ile Tip 1 diyabet oluşturulan sıçanların retina dokularında, kaspaz 3 immünoaktivitesinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Bizim bulgularımızda, STZ diyabet grubunda akciğer dokusunda çok yoğun derecede immünoaktivite izlendi. Diyabet oluşturulmuş miyokard (Cai ve ark. 2002), hipokampus (Nagayach ve ark. 2014), kemik (Liang ve ark. 2012) ve retina (Kim ve ark. 2013) gibi dokularda kaspaz 3 ekspresyonunda ve bizim çalışmamızda da akciğer dokusunda kaspaz 3 immünoaktivitesinde önemli derecede artış görülmesi diyabette kaspaz 3 aktivasyonunun arttığını göstermektedir.

Beigh ve ark. (2017) bleomisin ile ER stresinin meydana geldiği deneysel çalışmalarında, akciğer dokularında, akciğer epitel hücrelerinde aşırı kaspaz 3 immünoaktivitesi olduğunu göstermişlerdir. Lawson ve ark. (2011), ER stresinin olduğu deneysel çalışmalarında, akciğer dokularında, immünohistokimyasal analizlerinde kaspaz 3 immünoaktivitesinin önemli derecede arttığını bildirmişlerdir. Kitaguchi ve ark. (2012), ER stresi meydana gelmiş deneysel çalışmalarında, akciğer dokularında, alveolar septal hücrelerinin immünoaktivitesinde aşırı miktarda artış görmüşlerdir. Bizim bulgularımızda akciğer epitel hücrelerinde yoğun derecede görülen kaspaz 3 immünoaktivitesi ile Beigh ve ark. (2017) ve Lawson ve ark. (2011) nın çalışmalarında görülen kaspaz 3 immünoaktivitesindeki aşırı artış uyumlu gözükmektedir. Bunun yanısıra Kitaguchi ve ark. (2012) nın çalışmalarındaki alveolar septal hücrelerdeki (Tip 2 pnömositler) kaspaz 3 immünoaktivitesindeki aşırı artış ile çalışma bulgularımızda görülen Tip 2 pnömositlerde görülen aşırı artış benzer görülmektedir.

Çalışmamızda, STZ diyabet grubunda akciğer dokularında, apoptoziste önemli rol oynayan kaspaz 3'ün immünoaktivitesinde çok yoğun derecede ve istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) artış görüldü. Bu durum diyabet oluşturulmuş

farklı dokulara ait çalışmaların (Cai ve ark. 2002, Liang ve ark. 2012, Nagayach ve ark. 2014) bulguları ve ER stresi oluşturulmuş akciğer çalışmalarının (Beigh ve ark. 2017, Lawson ve ark. 2011, Kitaguchi ve ark. 2012) dokularındaki bulgular ile benzer şekilde izlendi. Tip 1 diyabetin akciğer dokularında ER stresi ile artış gösterebilen kaspaz 3 aktivasyonunu tetikleyebileceği düşündürdü.

ER stresinin akciğer dokusunda lamina epitelyalis ve alveolar epitel hücrelerinde oluşan dejenerasyonlar (Majors ve ark. 2003, Lawson ve ark. 2011, Tanjore ve ark. 2013) polimorfonükleer ve lenfosit infiltrasyonları (Majors ve ark. 2003, Torres-González ve ark. 2012, Tanjore ve ark. 2013), bağ dokuda ve epitelde fibrotik değişiklikler (Torres-González ve ark. 2012, Majors ve ark. 2003) ve vasküler dejenerasyonlara (Osorio ve ark. (2013) sebep olduğu literatürde gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda bu bulgular ile çalışmamıza ait histopatolojik bulgular benzerlik göstermektedir. Ayrıca Tip 1 diyabet oluşturulmuş çalışmamızda, ER stresinin belirleyici proteini Grp 78 immünoreaktivitesinin akciğer epitel hücrelerinde önemli derecede artış göstermesi ve ER stresi ile artış gösteren NF-kB ve kaspaz 3 immünoreaktivitesinin de önemli derecede artış göstermesi akciğer dokusunda ER stresinin oluştuğunu düşündürmüştür.

6. SONUÇ

Yapılan bu çalışmada Tip 1 diyabet oluşturulmuş fare akciğer dokularına ait histopatolojik bulgularımızda; STZ diyabet grubunda kontrol ve sham grubuna göre alveolar epitel hücrelerinde dejenerasyon ve apoptotik değişiklikler, damar duvarlarında dejenerasyon ve yer yer kapillerler dilatasyonu, bazı alanlarda alveolar epitel ve interalveolar septum yapılarının kalınlığında artış ve de inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu gösterildi.

İmmünohistokimyasal çalışma bulgularımızda; ER stresinin belirteci olan Grp 78'in immünoreaktivitesi, kontrol ve sham grubuna göre STZ diyabet grubunda, damar endotel hücrelerinde orta derecede, Clara hücreleri ve Tip 1 pnömosit hücrelerinde yoğun derecede, Tip 2 pnömosit hücreleri ve alveolar makrofajlarda çok yoğun derecede gözlemlendi.

İnflamatuvar transkripsiyon faktörü olan NF-kB'nin immünoreaktivitesi, kontrol ve sham gruplarına göre STZ diyabet grubunda, endotel hücrelerinde yoğun

derecede, Clara hücrelerinde, Tip 1 ve 2 pnömosit hücrelerinde ve alveolar makrofajlarda çok yoğun derecede izlendi.

Apoptozun göstergesi olan kaspaz 3'ün immünoreaktivitesi, kontrol ve sham grubuna göre STZ diyabet grubunda, Clara hücreleri, endotel hücreleri, Tip 1 ve 2 pnömosit ve alveolar makrofaj hücrelerinde çok yoğun derecede olduğu belirlendi.

Tip 1 diyabet oluşturulmuş bu çalışmamızda, Clara hücreleri, endotel hücreleri, Tip 1 ve 2 pnömosit ve de alveolar makrofaj hücrelerinde aşırı miktarda artmış Grp 78 immünoreaktivitesi ile ER stresinin varlığı ortaya konuldu. Bu hücrelerde çok yoğun derecede artmış NF-kB immünoreaktivitesi ER stresi ile inflamasyonun tetiklendiğini ve çok yoğun derecede miktarı artmış kaspaz 3 immünoreaktivitesi ER stresi ile apoptozisin tetiklendiğini düşündürdü. Histopatolojik bulgularımızda görülen inflamatuvar ve apoptotik değişiklikler bu durumu destekler niteliktedir.

ER stresinin belirleyici proteini Grp 78 ve ER stresi durumunda artış gösteren NF-kB ile kaspaz 3 immünoreaktivitesinin çalışmamızda paralellik gösteren yoğun artışı, bize Tip 1 diyabetin akciğer dokusunda ER stresini oluşturduğunu düşündürmüştür.

7. ÖNERİLER

İleriye dönük çalışmalarda; bulgularımızı destekleyen elektron mikroskop gibi ultrastrüktürel çalışmalar yapılabilir. Bununla birlikte diyabet oluşturulan akciğer dokusundaki UPR'nin üç sinyal yolağından hangisinin ya da hangilerinin rol aldığı ve de apoptozis aşamasında hangi kaspaz kaskadının gerçekleştiği araştırılabilir. Ayrıca Western blot, RT PCR ve in situ hibridizasyon gibi diğer moleküler çalışmalar ile ER stresinin varlığını destekleyen kantitatif çalışmalar uygulanabilir. Bunların dışında diyabete bağlı görülen akciğer hastalıklarında, ER stresini engelleyen ilaçların uygulamalarına dair araştırmalar deneysel diyabet oluşturulmuş hayvan modelleri üzerinde yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Agostinis P, Afshin S: Endoplasmic reticulum stress in health and disease. Springer Science & Business Media, 2012.
- Al-Gabri,NA, Ali AM, El-Sayed AA, Hamed M: Pathological Study on the Role of Thymoquinone in Experimentally Induced Acute Lung Injury in Rats. Zagazig Veterinary Journal (Zag. Vet. J.), 45: 2017.
- Alcama IE: Anatomy coloring workbook. Princeton Review, 2012.
- Alireza S, Leila N, Siamak S, Mohammad-Hasan KA, Behrouz I: Effects of vitamin E on pathological changes induced by diabetes in rat lungs. Respiratory physiology & neurobiology, 185, 593-599:2013.
- Alves M, Calegari V, Cunha D, Saad M, Velloso L, Rocha EM: Increased expression of advanced glycation end-products and their receptor, and activation of nuclear factor kappa-B in lacrimal glands of diabetic rats. Diabetologia, 48: 2675-2681, 2005.
- Association, A.D., 2017. 2. Classification and diagnosis of diabetes. Diabetes Care 40, S11-S24.
- Baek HA, Kim DS, Park HS, Jang KY, Kang MJ, Lee DG, Moon WS, Chae HJ, Chung MJ: Involvement of endoplasmic reticulum stress in myofibroblastic differentiation of lung fibroblasts, American journal of respiratory cell and molecular biology, 46: 731-739, 2012.
- Bandeira SM, Guedes GS, da Fonseca LJ, Pires AS, Gelain DP, Moreira JC, Rabelo, LA, Vasconcelos SM, Goulart MO: Characterization of Blood Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus Patients: Increase in Lipid Peroxidation and SOD Activity. Oxid Med Cell Longev, 2012, 819310.
- Bancroft J, Cook, H: Manual of Histological Techniques Churchill Livingstone. New York, 1984.
- Beigh S, Rashid H, Sharma S, Parvez S, Raisuddin S, Bleomycin-induced pulmonary toxicopathological changes in rats and its prevention by walnut extract. Biomedicine & Pharmacotherapy, 94: 418-429, 2017.
- Biosciences B: Kaspaze-3 activation-an indicator of apoptosis in image-based assays. Appl Note, 1-4, 2012.
- Borgese N, Francolini M, Snapp E: Endoplasmic reticulum architecture: structures in flux. Current opinion in cell biology, 18: 358-364, 2006.
- Brandizzi F, Frigerio L, Howell SH, Schäfer P: Endoplasmic reticulum-shape and function in stress translation. Frontiers in plant science, 5: 425-425, 2014.
- fBrownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature, 414: 813 2001.
- Buyuk B, Parlak SN, Keles ON, Can I, Yetim Z, Toktay E, Selli J, Unal B. Effects of diabetes on post-menopausal rat submandibular glands: a histopathological and stereological examination. The Eurasian journal of medicine, 47: 199, 2015.
- Cai L, Li W, Wang G, Guo L, Jiang Y, Kang YJ: Hyperglycemia-induced apoptosis in mouse myocardium: mitochondrial cytochrome C-mediated kaspaze-3 activation pathway. Diabetes, 51: 1938-1948, 2002.
- Chang KC, Tseng CD, Wu MS, Liang JT, Tsai MS, Cho YL: Aminoguanidine prevents arterial stiffening in new rat model of type 2 diabetes. Eur J Clin Invest, 36(8):528-35, 2006.
- Chen L, Zhang J, Zhang Y, Wang Y, Wang B: Improvement of inflammatory responses associated with NF- κ B pathway in kidneys from diabetic rats. Inflammation Research, 57: 199-204, 2008.
- Chen X, Fu XS, Li CP, Zhao HX: ER stress and ER stress-induced apoptosis are activated in gastric SMCs in diabetic rats. World Journal of Gastroenterology, WJG 20: 8260, 2014.
- Choudhury S, Bhootada Y, Gorbatyuk O, Gorbatyuk M: Kaspaze-7 ablation modulates UPR, reprograms TRAF2-JNK apoptosis and protects T17M rhodopsin mice from severe retinal degeneration. Cell death & disease, 4: 528, 2013.

- Conn P.M: Methods in enzymology. Academic Pr. 1986.
- De Blasio MJ, Ramalingam A, Cao AH, Prakoso D, Ye JM, Pickering R, Watson AM, de Haan J.B, Kaye DM, Ritchie RH: The superoxide dismutase mimetic tempol blunts diabetes-induced upregulation of NADPH oxidase and endoplasmic reticulum stress in a rat model of diabetic nephropathy. *European journal of pharmacology*, 807: 12-20, 2017.
- Deng J, Lu PD, Zhang Y, Scheuner D, Kaufman RJ, Sonenberg N, Harding HP, Ron D: Translational repression mediates activation of nuclear factor kappa B by phosphorylated translation initiation factor 2. *Molecular and cellular biology*, 24: 10161-10168, 2004.
- 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 diabetic 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 diabetes. *Diabetes*, 55: 774-779, 2006.
- Dias AS, Porawski M, Alonso M, Marroni N, Collado PS, González-Gallego J: Quercetin decreases oxidative stress, NF- κ B activation, and iNOS overexpression in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *The Journal of nutrition*, 135: 2299-2304, 2005.
- Dorner A, Wasley, LC, Kaufman R.J: Increased synthesis of secreted proteins induces expression of glucose-regulated proteins in butyrate-treated Chinese hamster ovary cells. *Journal of Biological Chemistry* 264: 20602-20607, 1989.
- Erdoğan G: Diabetes mellitusun tedavisi 1. baskı. Bilimsel Tıp yayınevi Ankara, 1997.
- Eickmeier O, Seki H, Haworth O, Hilberath J, Gao F, Uddin M, Croze R, Carlo T, Pfeffer M, Levy B: Aspirin-triggered resolvin D1 reduces mucosal inflammation and promotes resolution in a murine model of acute lung injury. *Mucosal immunology*, 6: 256, 2013.
- Eröz R, Karataş A, Alkoç OA, Baltacı D, Oktay M, Çolakoğlu S: Apoptozis hakkında bilinenler (literatür taraması). *Duzce Medical Journal*, 14, 2012.
- Ertek S: Diabetes Mellitusun Makrovasküler Komplikasyonları. *Türkiye Klinikleri Journal of Endocrinology Special Topics*, 8: 53-60, 2015.
- Farina J, Furio V, Fernandez-Acenero M, Muzas M: Nodular fibrosis of the lung in diabetes mellitus. *Virchows Archiv*, 427: 61-63, 1995.
- Farver CF, Raychaudhuri B, Buhrow LT, Connors MJ, Thomassen MJ: Constitutive NF- κ B levels in human alveolar macrophages from normal volunteers. *Cytokine*, 10: 868-871, 1998.
- Feero WG, Guttmacher AE, McCarthy MI: Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *New England Journal of Medicine*, 363: 2339-2350, 2010.
- Ferro-Novick S, Rapoport TA, Schekman RW: Endoplasmic Reticulum: A Subject Collection from Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2013.
- Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, Zeller R: Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *Cold Spring Harbor Protocols*, pdb. prot4986, 2008.
- Gartner LP, Hiatt JL: Color Textbook of Histology E-Book. Elsevier Health Sciences, 2006.
- Gething MJ: Role and regulation of the ER chaperone BiP, *Seminars in cell & developmental biology*. Elsevier, 465-472, 1999.

- Ghadijally FN: Ultrastructural pathology of the cell and matrix: a text and atlas of physiological and pathological alterations in the fine structure of cellular and extracellular components. Butterworth-Heinemann, 2013.
- Guo B, Li Z: Endoplasmic reticulum stress in hepatic steatosis and inflammatory bowel diseases. *Frontiers in genetics* 5, 2014.
- Han J, Back SH, Hur J, Lin YH, Gildersleeve R, Shan J, Yuan CL, Krokowski D, Wang S, Hatzoglou M: ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death. *Nature cell biology*, 15: 481, 2013.
- Harding HP, Novoa I, Zhang Y, Zeng H, Wek R, Schapira M, Ron D: Regulated translation initiation controls stress-induced gene expression in mammalian cells. *Molecular cell*, 6: 1099-1108, 2000.
- Hassan GA, Sliem HA, Ellethy AT, Salama Mel S: Role of immune system modulation in prevention of type 1 diabetes mellitus. *Indian J Endocrinol Metab*, 16: 904-909, 2012.
- Hatemi H: Diabetes mellitusun tarihçesi. *Aktüel Tıp dergisi*, 7: 497-499, 1996.
- Hinrichsen C: *Organ Histology: A Student's Guide*. World Scientific Publishing Co Inc, 1997.
- Hitomi J, Katayama T, Taniguchi M, Honda A, Imaizumi K, Tohyama M: Apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress depends on activation of kaspaze-3 via kaspaze-12. *Neuroscience letters*, 357: 127-130, 2004.
- Hotamisligil GS: Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell* 140: 900-917, 2010.
- Honjo, K., Doi, K., Doi, C., Mitsuoka, T., 1986. Histopathology of streptozotocin-induced diabetic DBA/2N and CD-1 mice. *Laboratory animals* 20, 298-303.
- Hsieh CL, Yang MH, Chyau CC, Chiu CH, Wang HE, Lin YC, Chiu WT, Peng RY: Kinetic analysis on the sensitivity of glucose-or glyoxal-induced LDL glycation to the inhibitory effect of Psidium guajava extract in a physiomic system. *Biosystems*, 88: 92-100, 2007.
- Hsu SM, Raine L, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 29: 577-580, 1981.
- Hu P, Han Z, Couvillon AD, Kaufman RJ, Exton JH: Autocrine tumor necrosis factor alpha links endoplasmic reticulum stress to the membrane death receptor pathway through IRE1 α -mediated NF- κ B activation and down-regulation of TRAF2 expression. *Molecular and cellular biology*, 26: 3071-3084, 2006.
- Junqueira L, Carneiro J: *Temel Histoloji*, (Çeviri: AYTEKİN, Y, SOLAKOĞLU, S.) 10. Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 135, 2009.
- Kaparianos A, Argyropoulou E, Sampsonas F, Karkoulas K, Tsiamita M, Spiropoulos K: Pulmonary complications in diabetes mellitus. *Chronic respiratory disease*, 5: 101-108, 2008.
- Karabay G, Zağyapan R. ve Gülnur T: Streptozotosinle oluşturulan diabetin sıçan periferik sinirleri üzerine etkisinin: elektron mikroskopik incelenmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 32(3): 77-81, 2006.
- Kaufman RJ: Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls. *Genes & development*, 13: 1211-1233, 1999.
- Khanna P: *Cell and Molecular Biology*. IK International Pvt Ltd, 2008.
- Kida K, Utsuyama M, Takizawa T, Thurlbeck WM: Changes in lung morphologic features and elasticity caused by streptozotocin-induced diabetes mellitus in growing rats. *American Review of Respiratory Disease*, 128: 125-131, 1983.

- Kim DY, Jung SY, Kim CJ, Sung YH, Kim JD: Treadmill exercise ameliorates apoptotic cell death in the retinas of diabetic rats. *Molecular medicine reports*, 7: 1745-1750, 2013.
- Kianifard, D., Sadrkhanlou, R.A., Hasanzadeh, S., 2012. The ultrastructural changes of the sertoli and leydig cells following streptozotocin induced diabetes. *Iranian journal of basic medical sciences* 15, 623.
- Kitaguchi Y, Taraseviciene-Stewart L, Hanaoka M, Natarajan R, Kraskauskas D, Voelkel NF: Acrolein induces endoplasmic reticulum stress and causes airspace enlargement. *PloS one* 7, e38038, 2012.
- Lake AD, Novak P, Hardwick RN, Flores-Keown B, Zhao F, Klimecki WT, Cherrington NJ: The adaptive endoplasmic reticulum stress response to lipotoxicity in progressive human nonalcoholic fatty liver disease. *toxicological sciences*, 137: 26-35, 2013.
- Lakhtakia R: The history of diabetes mellitus. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 13: 368, 2013.
- Lawson WE, Cheng DS, Degryse AL, Tanjore H, Polosukhin VV, Xu XC, Newcomb DC, Jones BR, Roldan J, Lane KB: Endoplasmic reticulum stress enhances fibrotic remodeling in the lungs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108: 10562-10567, 2011.
- Li J, Wang JJ, Yu Q, Wang M, Zhang SX: Endoplasmic reticulum stress is implicated in retinal inflammation and diabetic retinopathy. *FEBS letters*, 583: 1521-1527, 2009.
- Li Z, Zhang T, Dai H, Liu G, Wang H, Sun Y, Zhang Y, Ge Z: Involvement of endoplasmic reticulum stress in myocardial apoptosis of streptozocin-induced diabetic rats. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 41: 58-67, 2007.
- Liang J, Chen H, Pan W, Xu C: Puerarin inhibits kaspaze-3 expression in osteoblasts of diabetic rats. *Molecular medicine reports*, 5: 1419-1422, 2012.
- Liu C, Bronson RT, Russell RM, Wang XD: β -Cryptoxanthin supplementation prevents cigarette smoke-induced lung inflammation, oxidative damage and squamous metaplasia in ferrets. *Cancer Prevention Research*, canprevres, 0384:2010, 2011.
- Liu G, Sun Y, Li Z, Song T, Wang H, Zhang Y, Ge Z: Apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress involved in diabetic kidney disease. *Biochemical and biophysical research communications* 370: 651-656, 2008.
- Lumb AB: *Nunn's Applied Respiratory Physiology eBook*. Elsevier Health Sciences, 2016.
- Majors AK, Austin RC, Carol A, Pyeritz RE, Hascall VC, Kessler SP, Sen G, Strong SA: Endoplasmic reticulum stress induces hyaluronan deposition and leukocyte adhesion. *Journal of Biological Chemistry* 278, 47223-47231, 2003.
- Malhotra JD, Kaufman RJ: Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxidants & redox signaling*, 9: 2277-2294, 2007.
- Marjit B: *General anatomy, genetics, histology and embryology*. Academic publishers, 2016.
- Matsubara T, Hara F: The pulmonary function and histopathological studies of the lung in diabetes mellitus. *Nihon Ika Daigaku Zasshi*, 58: 528-536, 1991.
- McCloud LL, Parkerson JB, Zou L, Rao R, Catravas JD: Reduced pulmonary endothelium-bound angiotensin converting enzyme activity in diabetic rabbits. *Vascular pharmacology*, 41: 159-165, 2004.
- Mo Y, Wan R, Wang J, Chien S, Tollerud DJ, Zhang Q: Diabetes is associated with increased sensitivity of alveolar macrophages to urban particulate matter exposure. *Toxicology*, 262: 130-137, 2009.
- Mohammed AT, Mohamed AAR, Ali H: Pulmonary apoptotic and oxidative damaging effects of Triclosan alone or in combination with Fluoride in Sprague Dawley rats. *Acta histochemica*, 119: 357-363, 2017.

- Mohsenin V, Latifpour J: Respiratory burst in alveolar macrophages of diabetic rats. *Journal of Applied Physiology*, 68: 2384-2390, 1990.
- Mullins C: *The biogenesis of cellular organelles*. Springer, 2005.
- Nagayach A, Patro N, Patro I: Astrocytic and microglial response in experimentally induced diabetic rat brain. *Metabolic brain disease*, 29: 747-761, 2014.
- Nakajima S, Kitamura M: Bidirectional regulation of NF- κ B by reactive oxygen species: a role of unfolded protein response. *Free Radical Biology and Medicine*, 65: 162-174, 2013.
- Offer H, Erez N, Zurer I, Tang X, Milyavsky M, Goldfinger N, Rotter V: The onset of p53-dependent DNA repair or apoptosis is determined by the level of accumulated damaged DNA. *Carcinogenesis*, 23: 1025-1032, 2002.
- Ofuwe AF, Kida K, Thurlbeck WM: Experimental diabetes and the lung. *Am Rev Respir Dis*, 137: 162-166, 1988.
- Okihiro MS, Hinton DE: Partial hepatectomy and bile duct ligation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): histologic, immunohistochemical and enzyme histochemical characterization of hepatic regeneration and biliary hyperplasia. *Toxicologic pathology*, 28: 342-356, 2000.
- Osorio F, Lambrecht B, Janssens S: The UPR and lung disease, *Seminars in immunopathology*. Springer, 293-306, 2013.
- Özer A: *Veteriner Özel Histoloji (2. bs.)*. Nobel Kitap Dağıtım, 2010.
- Ozdemir, O., Akalin, P.P., Baspinar, N., HaTipoglu, F., 2009. Pathological changes in the acute phase of streptozotocin-induced diabetic rats. *Bull Vet Inst Pulawy* 53, 783-790.
- Pahl HL, Baeuerle PA: A novel signal transduction pathway from the endoplasmic reticulum to the nucleus is mediated by transcription factor NF-kappa B. *The EMBO Journal*, 14: 2580-2588, 1995.
- Pahl HL, Sester M, Burgert HG, Baeuerle PA: Activation of transcription factor NF-kappaB by the adenovirus E3/19K protein requires its ER retention. *The Journal of cell biology*, 132: 511-522, 1996.
- Panzram G, Zabel-Langhennig R: Prognosis of diabetes mellitus in a geographically defined population. *Diabetologia*, 20: 587-591, 1981.
- Pickup J, Keen H: Continuous subcutaneous insulin infusion at 25 years: evidence base for the expanding use of insulin pump therapy in type 1 diabetes. *Diabetes care*, 25: 593-598, 2002.
- Popov D, Simionescu M: Alterations of lung structure in experimental diabetes, and diabetes associated with hyperlipidaemia in hamsters. *European Respiratory Journal*, 10: 1850-1858, 1997.
- Prins D, Michalak M: Endoplasmic reticulum proteins in cardiac development and dysfunction. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 87: 419-425, 2009.
- Rehfeld A, Nylander M, Karnov K: *Compendium of Histology: A Theoretical and Practical Guide*. Springer, 2017.
- Ritchie ME: Nuclear factor- κ B is selectively and markedly activated in humans with unstable angina pectoris. *Circulation*, 98: 1707-1713, 1998.
- Rodrigues TC, Canani LH, Gross JL: Metabolic syndrome, insulin resistance and cardiovascular disease in type-1 diabetes mellitus, *Arq Bras Cardiol*, 94: 134-139, 2010.
- Ross MH, Pawlina W: *Histology : a text and atlas : with correlated cell and molecular biology*, 6th ed. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health, Philadelphia, 2011.
- Rother KI: Diabetes treatment—bridging the divide. *The New England journal of medicine*, 356: 1499, 2007.

- Saad DY, Baiomy AA, Mansour AA: Antiseptic effect of sea cucumber (*Holothuria atra*) against multi-organ failure induced by sepsis: Molecular and histopathological study. *Experimental and therapeutic medicine*, 12: 222-230, 2016.
- Sandler M: Is the lung a 'target organ' in diabetes mellitus. *Arch Intern Med*, 150: 1385-1388, 1990.
- Satman İ: Diabetes mellitus tanı ve izleminde yeni kriterler ve belirlenme gerekçeleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*, 3: 1-15, 2007.
- Serrano-Mollar A, Closa D, Prats N, Blesa S, Martinez-Losa M, Cortijo J, Estrela J, Morcillo E, Bulbena O: In vivo antioxidant treatment protects against bleomycin-induced lung damage in rats. *British journal of pharmacology*, 138: 1037-1048, 2003.
- Shu, S, Ju G, Fan L: The glucose oxidase-DAB-nickel method in peroxidase histochemistry of the nervous system. *Neuroscience letters*, 85: 169-171, 1988.
- Seydel GŞ, Aksoy K: Endoplazmik Retikulum Stresi ve Apoptozis Mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 21, 2012.
- Su L, Ji J, Bian J, Fu Y, Ge Y, Yuan Z: Tacrolimus (FK506) prevents early retinal neovascularization in streptozotocin-induced diabetic mice. *International immunopharmacology*, 14: 606-612, 2012.
- Sunahara KK, Martins JO: Alveolar macrophages in diabetes: friends or foes? *Journal of leukocyte biology*, 91: 871-876, 2012.
- Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A: Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO reports*, 7: 880-885, 2006.
- Tagawa Y, Hiramatsu N, Kasai A, Hayakawa K, Okamura M, Yao J, Kitamura M: Induction of apoptosis by cigarette smoke via ROS-dependent endoplasmic reticulum stress and CCAAT/enhancer-binding protein-homologous protein (CHOP). *Free Radical Biology and Medicine*, 45: 50-59, 2008.
- Tanjore H, Blackwell TS, Lawson WE: Emerging evidence for endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 302: 721-729, 2012.
- Tanjore H, Lawson WE, Blackwell TS: Endoplasmic reticulum stress as a pro-fibrotic stimulus. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1832, 940-947, 2013.
- Tanyolaç A: Özel histoloji. Yorum Basım Yayın Sanayi Şirketi, Ankara, 1999.
- Tao Z, Shi A, Zhao J: Epidemiological perspectives of diabetes. *Cell biochemistry and biophysics* 73, 181-185, 2015.
- Torres-González E, Bueno M, Tanaka A, Krug LT, Cheng DS, Polosukhin VV, Sorescu D, Lawson WE, Blackwell TS, Rojas M: Role of endoplasmic reticulum stress in age-related susceptibility to lung fibrosis. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 46: 748-756, 2012.
- Tropp BE: *Molecular Biology*. Jones & Bartlett Publishers, 2011.
- Türker M, Süzmeçelik EE: Türkiye ve dünyada rakamlarla diyabet. *Diyabet ve Obezite*, 62, 2010.
- Van Antwerp DJ, Martin SJ, Kafri T, Green DR, Verma IM: Suppression of TNF-alpha-induced apoptosis by NF-kB. *Science*, 274: 787, 1996.
- Wang R, Chen X, Liao H, Wan L, Li J, Chen L, Chen X, Chen G: The relationship between the expression of NF-kB, TGFbeta1, FN and hepatic fibrosis in diabetic rats. *Zhonghua gan zang bing za zhi= Zhonghua ganzangbing zazhi= Chinese journal of hepatology*, 18: 194-198, 2010.

- Wang CM, Hsu CT, Niu HS, Chang CH, Cheng JT, Shieh JM: Lung damage induced by hyperglycemia in diabetic rats: The role of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3). *Journal of diabetes and its complications*, 30: 1426-1433, 2016a.
- Wang H, Zhao J, Xue G, Wang J, Wu J, Wang D, Dong L: Regulatory effect of cytokine-induced neutrophil chemoattractant, epithelial neutrophil-activating peptide 78 and pyrrolidine dithiocarbamate on pulmonary neutrophil aggregation mediated by nuclear factor- κ B in lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome mice. *Experimental and therapeutic medicine*, 12: 1785-1794, 2016b.
- West JB: *Respiratory physiology: the essentials*. Lippincott Williams & Wilkins, 2012.
- Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J: IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes research and clinical practice* 94: 311-321, 2011.
- Wiertz E, Kikkert M: *Dislocation and degradation of proteins from the endoplasmic reticulum*. Springer Science & Business Media, 2006.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care*, 27: 1047-1053, 2004.
- 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.
- Yamazaki H, Hiramatsu N, Hayakawa K, Tagawa Y, Okamura M, Ogata R, Huang T, Nakajima S, Ya J, Paton AW: Activation of the Akt-NF- κ B pathway by subtilase cytotoxin through the ATF6 branch of the unfolded protein response. *The Journal of Immunology*, 183: 1480-1487, 2009.
- Yerlikaya A, Dokudur H: Protein yıkımının önemi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 35: 93-99, 2009.
- Zhang K: Endoplasmic reticulum stress response and transcriptional reprogramming. *Frontiers in genetics*, 5: 460, 2015.
- Zhang S, *An atlas of histology*. Springer Science & Business Media, 2013.
- Zhao Y, Yan Y, Zhao Z, Li S, Yin J: The dynamic changes of endoplasmic reticulum stress pathway markers GRP78 and CHOP in the hippocampus of diabetic mice. *Brain research bulletin*, 111: 27-35, 2015.
- Zhong Q, Zhou B, Ann DK, Minoo P, Liu Y, Banfalvi A, Krishnaveni MS, Dubourd M, Demaiio L, Willis BC: Role of endoplasmic reticulum stress in epithelial-mesenchymal transition of alveolar epithelial cells: effects of misfolded surfactant protein. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 45: 498-509, 2011.
- Zuo XR, Wang Q, Cao Q, Yu YZ, Wang H, Bi LQ, Xie WP, Wang H: Nicorandil prevents right ventricular remodeling by inhibiting apoptosis and lowering pressure overload in rats with pulmonary arterial hypertension. *PLoS One* 7, e44485, 2012.

EK 1: ÖZGEÇMİŞ

1980 yılı Ankara/Altındağ doğumluyum. İlk-orta ve lise eğitimimi Ankara'da gördüm. Lisansımı Ankara Hacettepe Hemşirelik Yüksekokulunda 2004 yılında tamamladım. Yüksek Lisansımı Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalında 2014 yılında tamamladım. Aynı yıl Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Doktora eğitimine başladım. Evli ve bir çocuk annesiyim. Ankara Yenimahalle Devlet Hastanesinde hemşire olarak çalışmaktayım.



EK 2: ETİK KURUL**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(KAÜ-HADYEK)**

Sayı: 2017/90
Konu: Araştırma

03.09.2017

Sayın Prof. Dr. Şahin ASLAN
Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi - KARS

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK)'nce değerlendirilip çalışma onayı istenen **KAÜ-HADYEK/2017- 082** kodlu ve "**Deneysel Tip 1 Diyabet Oluşturulan Fare Akciğer Dokularında Görülen Histopatolojik Değişikliklerin Oluşumunda Endoplazmik Retikulum Stresi Rolü**" adlı araştırmanızın KAÜ-HADYEK yönergesi ilkelerine uygun olarak planlandığı anlaşılmış ve projenin deney hayvanı kullanım etiği 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 :	18.09.2017	TOPLANTI SAYISI :	2017/09
Araştırmanın Kodu :	KAÜ-HADYEK/2017-082	Başvuru Tarihi :	07.09.2017
Araştırmanın Adı :	<i>Deneysel Tip 1 Diyabet Oluşturulan Fare Akciğer Dokularında Görülen Histopatolojik Değişikliklerin Oluşumunda Endoplazmik Retikulum Stresi Rolü</i>		

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN, başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararı almıştır.

KARAR 90

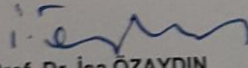
KAÜ-HADYEK'e müracaat eden Prof. Dr. Şahin ASLAN'ın "*Deneysel Tip 1 Diyabet Oluşturulan Fare Akciğer Dokularında Görülen Histopatolojik Değişikliklerin Oluşumunda Endoplazmik Retikulum Stresi Rolü*" adlı 07.09.2017 tarih ve KAÜ-HADYEK/2017-082 kodlu başvuru formu görüşüldü

Yapılan görüşmelerden sonra; Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK) nca değerlendirilip çalışma onayı istenen ve yukarıda adı belirtilen araştırma projesi KAÜ-HADYEK Yönergesi kapsamında değerlendirilmiş olup, projenin Kafkas Üniversitesi deney hayvanı kullanım etiği açısından "**UYGUN**" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN
Başkan

Prof. Dr. Mehmet Ali KIRPIK Başkan Yrd.	İMZA	Yrd. Doç. Dr. Cihan ÇİTİL Üye	İMZA
Yrd. Doç. Dr. Yasemen ADALI Üye	İMZA	Doç. Dr. Ali YİĞİT Üye	İMZA
Yrd. Doç. Dr. Mustafa SERTÇELİK Üye	İMZA	Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni EROĞLU Üye	İMZA
Doç. Dr. Sevda ELİŞ YILDIZ Üye	İMZA	İbrahim YILDIZ Sivil Üye	İMZA
Yrd. Doç. Dr. Sezen HARMANKAYA Üye	İMZA	Suat ÇALIŞ Sivil Üye	İMZA

ASLININ AYNIDIR
18.09.2017


Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN
KAÜ-HADYEK Başkanı