

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN
RATLARDA BÖBREK VE TESTİS
HASARINDA İRİSİN ve ASPROSİN
DAĞILIMINA HIPPOPHAE
RHAMNOİDES L. (YALANCI İĞDE) 'nin
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Merve PEKİNCE ÖZÖNER

2022

FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULAN RATLARDA BÖBREK VE
TESTİS HASARINDA İRİSİN ve ASPROSİN DAĞILIMINA HIPPOPHAE
RHAMNOİDES L. (YALANCI İĞDE) 'nin ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Merve PEKİNCE ÖZÖNER

2022

ELAZIĞ

ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Adı Soyadı: Merve PEKİNCE ÖZÖNER

Tarih:

İmza:

Prof. Dr. Sema TİMURKAAN

Danışman

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

ELAZIG

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve birikiminden her zaman yararlandığım, tezimin her aşamasında katkılarından dolayı, iyi niyetiyle hoşgörüsü ile her zaman yanımda olan, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sema TİMURKAAN 'a,

Tezime sağladığı katkılar ve sonsuz manevi desteğinden dolayı Prof. Dr. Berrin TARAKÇI GENÇER 'e, Lisansüstü eğitimimde yanımda olup gelişimime katkı sağlayan saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Aydın GİRĞİN, Prof. Dr. Mine YAMAN 'a,

Tez izleme komisyonumda yer alan, katkılarıyla tezime yön veren değerli hocam Prof. Dr. Hatice ERÖKSÜZ 'e

Lisans ve lisansüstü eğitim hayatım boyunca katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen, eğitim hayatımda her zaman yol gösterici olan Prof. Dr. Mustafa İSSİ 'ye

Doktora süreci boyunca çok kıymetli tecrübelerinden faydalandığım Dr. Öğr. Üyesi Fatih Mehmet GÜR ve Dr. Öğr. Üyesi Tuba PARLAK AY' a

Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim dalı başkanı Nurhayat GÜLMEZ ve diğer Öğretim Üyelerine,

Deney sürecinde her türlü yardımıyla yanımda olan Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinde görevli olan Öğr. Gör. Ebru GÖKDERE, Lütfi DEMİREL ve Muhammed Furkan CAN' a

Tüm eğitim hayatım boyunca yanımda olan maddi ve manevi destekleri ile bu günlere yetişmemi sağlayan babam Vaddin PEKİNCE, annem Birgül PEKİNCE, ablam Meltem PEKİNCE KUCUR, abim Erhan PEKİNCE ve kardeşim Sedanur PEKİNCE 'ye

Üniversite hayatının bana kazandırdığı güzel arkadaşım Vet. Hek. Nazlı Gül ÖZDEMİR' e

Desteğini her zaman yanımda hissettiğim, doktora sürecim boyunca her an yanımda olan, tüm stresimi, kaygılarımı alan yol arkadaşım canım eşim Dr. Arş. Gör. Özgür ÖZÖNER' e

Son olarak Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine tezime katkılarından dolayı teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI.....	i
ONAY SAYFASI	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xvii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT.....	5
3. GİRİŞ.....	9
3.1. Diyabet.....	9
3.2. Diyabetin Tarihçesi.....	9
3.3. Diyabetin Epidemiyolojisi	10
3.4. Diyabet Semptomları	11
3.5. Diyabet Hastalığının Tanı ve Sınıflandırılması	11
3.6. Etiyolojik Olarak Diyabetes Mellitusun Sınıflandırması.....	12
3.6.1. Tip 1 Diyabetes mellitus (T1DM):	13
3.6.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM):	13
3.6.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM):	14
3.7. Diyabetin Risk Faktörleri.....	15
3.8. Deneysel Diyabet Modelleri ve Streptozosin	16
3.9. Diyabette Oksidatif Stres Şekillenmesi	19
3.10. Erkek Üreme Sistemi ve Testis.....	20
3.10.1. Testis.....	21
3.10.2. Testis içi Genital Kanallar	22
3.10.3. İnfertilite ve Diyabet.....	23
3.11. Üriner Sistem	24
3.11.1. Böbrekler	25
3.11.2. Korteks ve Medulla.....	25
3.11.3. Nefron	26

3.11.4.	Korpuskulum Renis- Malpighi Cisimciği- Böbrek Cisimcikleri.....	26
3.11.5.	Glomerulus.....	26
3.11.6.	Bowman Kapsülü.....	27
3.11.7.	Böbrek Tubulleri.....	27
3.11.7.1.	Proksimal Kıvrımlı ve Düz Tubuller	27
3.11.7.2.	Henle kulpu.....	28
3.11.7.3.	Tubulus Distalis	29
3.11.7.4.	Toplayıcı Borucuklar	29
3.11.8.	Nefropati	29
3.11.8.1.	Diyabetik Nefropatinin Klinik Özellikleri ve Evreleri	31
3.11.8.1.1.	Glomerüler Hiperfiltrasyon ve Hipertrofi (Evre 1)	31
3.11.8.1.2.	Sessiz Dönem (Evre 2)	32
3.11.8.1.3.	Mikroalbuminüri Gelişimi (Evre 3)	32
3.11.8.1.4.	Azotemik Dönem (Evre 4)	32
3.11.8.1.5.	Belirgin Nefropati Dönemi (Evre 5)	33
3.12.	İrisin.....	33
3.13.	Asprosin.....	36
3.14.	Yalancı İğde (Hippophae Rhamnoides L. Sea Buckthorn, SBT)	39
4.	GEREÇ ve YÖNTEM	44
4.1.	Deneyde Kullanılan Hayvanların Temini, Bakımı ve Beslenmesi	44
4.2.	Deney Grupları ve Araştırmanın Yürütülmesi.....	45
4.3.	Diyabet İndüksiyonu.....	47
4.4.	SBT Yağının İçeriği ve Uygulanması.....	48
4.5.	Araştırmanın Sonlanması.....	49
4.5.1.	Vücut Ağırlıklarının Ölçümü.....	50
4.5.2.	Rölatif Testis Ağırlığı Ölçümü	50
4.5.3.	Rölatif Böbrek Ağırlığı Ölçümü	50
4.5.4.	Spermatolojik Muayeneler.....	51
4.5.4.1.	Sperm Yoğunluğunun İncelenmesi.....	51
4.5.4.2.	Sperm Motilitesi Ölçümü.....	51
4.5.4.3.	Anormal Spermatozoon Oran Tespiti	52
4.5.5.	Histolojik İncelemeler İçin Doku Hazırlanması	52
4.5.5.1.	Testis Dokusunun Değerlendirilmesi.....	53
4.5.5.2.	Johnsen Skoru	54

4.5.5.3.	Morfometrik Ölçümler.....	55
4.5.5.3.1.	Seminifer Tubul Çapı ve Germinatif Epitel Kalınlığı Ölçümü.....	55
4.5.5.4.	Böbrek Dokusunun Değerlendirilmesi;	55
4.5.6.	İmmünohistokimyasal İncelemeler.....	56
4.5.6.1.	Kantitatif Skorlama.....	58
4.6.	Biyokimyasal İncelemeler	59
4.6.1.	Kan-Glikoz Değerinin Ölçülmesi	59
4.6.2.	Total Antioksidan (TAS) Total Oksidan (TOS) Seviyelerinin Ölçümü	59
4.6.3.	Oksidatif Stres İndeksinin (OSİ) Hesaplaması	60
4.7.	İstatistiksel Analiz.....	60
5.	BULGULAR.....	61
5.1.	Canlı Ağırlık Bulguları	61
5.2.	Rölatif Böbrek Ağırlığı Bulguları.....	62
5.3.	Rölatif Testis Ağırlığı Bulguları	62
5.4.	Spermatojenik Muayene Bulguları	63
5.4.1.	Sperm Motilitesinin Değerlendirmesi.....	63
5.4.2.	Sperm Yoğunluğunun Değerlendirmesi	64
5.4.3.	Sperm Anormalitesinin Değerlendirmesi	65
5.5.	Histopatolojik Bulgular.....	66
5.5.1.	Testis Dokusunun İncelenmesi	66
5.5.1.1.	Testis Dokusu Hematoksilen Eosin Boyama Bulguları.....	66
5.5.1.2.	Testis Dokusu Crossman Triple Boyama Bulguları	72
5.5.1.3.	Testis Dokusu Periyodik Asit Schiff (PAS) Boyama Bulguları	77
5.5.1.4.	Johnsen Skoru Değerlendirilmesi	81
5.5.1.5.	Morfometrik Bulgular.....	82
5.5.1.5.1.	Germinal Hücre Kalınlığı- Tubul Çapı Değerlendirmesi	82
5.5.2.	Böbrek Dokusunun İncelenmesi.....	84
5.5.2.1.	Böbrek Dokusu Hematoksilen Eosin Boyama Bulguları	84
5.5.2.2.	Böbrek Dokusu Crossman Triple Boyama Bulguları	92
5.5.2.3.	Böbrek Dokusu Periyodik Asit Schiff (PAS) Boyama Bulguları.....	98
5.6.	İmmünohistokimyasal Bulgular.....	104
5.6.1.	Testis Dokusu İrisin İmmünoreaktivitesi.....	104
5.6.2.	Böbrek Dokusu İrisin İmmünoreaktivitesi	111

5.6.3.	Testis Dokusu Asprosin İmmünoreaktivitesi.....	117
5.6.4.	Böbrek Dokusu Asprosin İmmünoreaktivesi.....	124
5.7.	Biyokimyasal Bulgular	131
5.7.1.	Kan-Glikoz Değerlendirilmesi.....	131
5.7.2.	TAS- TOS Değerlendirme Sonuçları.....	132
5.7.2.1.	Oksidatif Stres indeksi (OSİ) Hesaplanması	133
6.	TARTIŞMA	135
7.	KAYNAKLAR	150
8.	ÖZGEÇMİŞ	162



TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Diyabetes mellitus teşhisinde kullanılan kan-glikoz parametreleri	12
Tablo 2: Deneysel Tip I ve Tip II diyabet modelleri	17
Tablo 3: Grupların dağılımı ve yapılan deneysel uygulamalar	46
Tablo 4: 0.1 M Sodyum sitrat tamponu hazırlanması	47
Tablo 5: SBT Besin İçeriği	49
Tablo 6: Tris buffer solüsyonu hazırlanması.....	51
Tablo 7: Eozin-Nigrozin boyası yapımı	52
Tablo 8: %10'luk tamponlu formalin solüsyonunun hazırlanması.	53
Tablo 9: Johnsen Skoru	54
Tablo 10: Tubuler hasar skrolama tablosu	56
Tablo 11: İnterstisyel fibrözis varlığı skrolama tablosu.....	56
Tablo 12: 0.01 M Sitrat Buffer solüsyonunun hazırlanması	58
Tablo 13: Primer antikor marka ve sulandırma oranı	58
Tablo 14: Gruplar Arası Canlı Ağırlık Değişimleri	61
Tablo 15: Gruplar Arası Rölatif Böbrek Ağırlığı.....	62
Tablo 16: Gruplar Arası Rölatif Testis Ağırlıkları	63
Tablo 17: Sperm motilite miktarı değerlendirilmesi	64
Tablo 18: Gruplar Arası Sperm Yoğunluğu Değerlendirmesi	65
Tablo 19: Gruplar Arası Sperm Anormalitesi	66
Tablo 20: Testis dokusu histopatolojik değişimlerin skorlanması	72
Tablo 21: Johnsen Skoru Değerlendirilmesi	82
Tablo 22: Testis germinal epitel kalınlığı değerlendirmesi.....	83
Tablo 23: Testis tubul çapı ölçümü değerlendirmesi	84
Tablo 24: Böbrek dokusu histopatolojik değişimlerin skorlanması	93
Tablo 25: Testis dokusunun İrisin immunoreaktivitesi skrolaması	105
Tablo 26: Böbrek dokusunda İrisin immünohistokimyasal boyama skor tablosu	112
Tablo 27: Testis dokusunun Asprosin immunoreaktivitesi skrolaması	118
Tablo 28: Böbrek dokusunda Asprosinin immunoreaktivitesinin skrolaması ...	125
Tablo 29: Gruplar Arası Kan-Glikoz Değişimleri.....	131
Tablo 30: Serum TAS değeri.....	132

Tablo 31: Serum TOS değeri.....	133
Tablo 32: Serum OSI değeri.....	134



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Testiste seminifer tubuller ve rete testisin şematize görüntüsü	21
Şekil 2: İrisinin salgılandığı ve etkilediği doku ve organlar	33
Şekil 3: İrisin hormonunun metabolizması	35
Şekil 4: Asprosinin olası merkezi ve çevresel etkileri	38
Şekil 5: Yalancı İğde (Hippophae Rhamnoides L., Sea Buckthorn, SBT	40
Şekil 6: SBT içerisinde bulunan flavanoidler, vitaminler	41
Şekil 7: Deney gruplarının ayrı kafeslere alınması ve muhafazası.....	45
Şekil 8: Deney hayvanlarına SBT'nin gavaj yolu ile uygulanması.....	48
Şekil 9: Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (H-E).....	68
Şekil 10: Sitrat grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (H-E)	69
Şekil 11: SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (H-E).	69
Şekil 12: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (H-E).....	70
Şekil 13: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (H-E).....	70
Şekil 14: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü.(H-E)	71
Şekil 15: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü.(H-E).	71
Şekil 16: Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (Crossman).	73
Şekil 17: Sitrat grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (Crossman). 74	
Şekil 18: SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (Crossman). . 74	
Şekil 19: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (Crossman).	75
Şekil 21: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (Crossman).	76
Şekil 22: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (Crossman).	76
Şekil 23: Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (PAS).....	78
Şekil 24: Sitrat grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (PAS).....	78
Şekil 25: SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (PAS).	79
Şekil 26: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (PAS).....	79

Şekil 27: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (PAS).....	80
Şekil 28: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (PAS).....	80
Şekil 29: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü.. (PAS).....	81
Şekil 30: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).....	86
Şekil 31: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).....	87
Şekil 32: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).	87
Şekil 33: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).	88
Şekil 34: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).	88
Şekil 35: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).	89
Şekil 36: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).....	89
Şekil 37: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).....	90
Şekil 38: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).....	90
Şekil 39: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).....	91
Şekil 40: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (H-E).....	91
Şekil 41: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).....	93
Şekil 42: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).....	93

Şekil 43: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).	94
Şekil 44: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).	94
Şekil 45: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).	95
Şekil 46: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).	95
Şekil 47: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).	96
Şekil 48: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).	96
Şekil :49 Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).	97
Şekil 50: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).	97
Şekil 51: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (Crossman).	98
Şekil 52: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (PAS).	99
Şekil 53: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (PAS).	100
Şekil 54: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (PAS).	100
Şekil 55: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (PAS).	101
Şekil 56: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (PAS).	101
Şekil 57: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (PAS).	102
Şekil 58: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (PAS).	102

Şekil 59: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. (PAS)	103
Şekil 60: Negatif kontrol grubuna ait testis dokusunun immunohistokimyasal boyaması..	105
Şekil 61: Kontrol grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi.	106
Şekil 62: Kontrol grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi.....	106
Şekil 63: Sitrat grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi.....	107
Şekil 64: Sitrat grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi.....	107
Şekil 65: SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi.....	108
Şekil 66: SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi.....	108
Şekil 67: Diyabet grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi.....	109
Şekil 68: Diyabet grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi.....	109
Şekil 69: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi.....	110
Şekil 70: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi.....	110
Şekil 71: Negatif kontrol grubuna ait böbrek korteksinin immunoreaktivitesi..	112
Şekil 72: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi.....	113
Şekil 73: Kontrol grubuna ait böbrek medullasının İrisin immunoreaktivitesi..	113
Şekil 74: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi.....	114
Şekil 75: SBT grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi.	114
Şekil 76: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi....	115
Şekil 77: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi.....	115
Şekil 78: Diyabet grubuna ait böbrek medullasının İrisin immunoreaktivitesi..	116

Şekil 79: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi.....	116
Şekil 80: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi.....	117
Şekil 81: Negatif kontrol gruba ait testis dokusunun immunoreaktivitesi	119
Şekil 82: Kontrol grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi.	119
Şekil 83: Kontrol grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi.....	120
Şekil 84: Sitrat grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi.....	120
Şekil 85: Sitrat grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi.....	121
Şekil 86: SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi.....	121
Şekil 87: SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi.....	122
Şekil 88: Diyabet grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi.....	122
Şekil 89: Diyabet grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi.....	123
Şekil 90: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde immunoreaktivitesi.....	123
Şekil 91: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi.	124
Şekil 92: Negatif kontrol grubuna ait böbrek korteksinin immunoreaktivitesi. 126	
Şekil 93: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi.	126
Şekil 94: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi.	127
Şekil 95: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi. .	127
Şekil 96: SBT grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi....	128

Şekil 97: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi..	128
Şekil 98: Diyabet grubuna ait böbrek medullasının Asprosin immunoreaktivitesi.	129
Şekil 99: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi.....	129
Şekil 100: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi.....	130
Şekil 101: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek medullasının Asprosin immunoreaktivitesi.....	130



KISALTMALAR LİSTESİ

ADA	Amerikan Diyabet Birliği
AEC	Aminoethyl Carbazole
AGRP	Agouti ile İlişkili Peptit
DM	Diabetes Mellitus
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
FBN1	Profibrillinin
FNDC5	Fibronectin Type Iı Domain Containing 5
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
FÜDAM	Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
GADPH	Gliseraldehit-3 Fosfat Dehidrogenaz
GDM	Gestasyonel Diabetes Mellitus
GLUTs	Glucose Transporter Protein
H-E	Hematoksilen – Eozin
HSL	Hormon Sensitive Lipaz
IDDM	İnsülin Bağımlı Diyabetes Mellitus
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IGF	Bozulmuş Açlık Glikozu
i.p.	İntraperitoneal
LH	Lüteinleştirici Hormon
mmol	milimol
MSCS	Miyokardial Mezenşiyal Hücrelerde
NADH	Nikotinamid Adenin

NIDDM	İnsülin Bağımlı Olmayan Diyabetes Mellitus
NPS	Yeni Doğan Progeria Sendromu
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
OLFR 734	Olfaktör Reseptör 734
PAS	Periyodik Asit Schiff
PBS	Phosphate Buffered Saline
POMC	Hipotalamusta Pro-Opiomelanocortin
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SBT	Sea Buckthorn
STZ	Streptozosin
T1 DM	Tip 1 Diyabetes Mellitus
T2 DM	Tip 2 Diyabetes Mellitus
UCP1	Uncoupling Protein 1
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
µm	Mikrometre
TAS	Total Oksidan Seviyesi
TOS	Total Antioksidan Seviyesi

1. ÖZET

Diyabet pankreastan salgılanan insülin hormonunun yetersizliği ya da insülinin vücutta yeterince kullanılamaması sonucu kan ve idrarda artan glikoz miktarının kalp, karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokuları başta olmak üzere bütün organizmayı etkilediği bir hastalıktır. Serbest radikal dengesinin bozulmasına bağlı olarak şekillenen oksidatif stresin, diyabet etiyolojisinde rol oynadığı tespit edilmiştir. Serbest radikal/antioksidan dengesinin düzelmesi için yalancı iğdenin kullanıldığı çalışmalar dikkat çekmiştir.

Çalışmada, Streptozosin (STZ) ile indüklenmiş diyabet sonrası böbrek ve testis dokularında meydana gelen oksidatif strese karşı yalancı iğdenin biyokimyasal, spermatojenik ve histopatolojik etkisinin incelenmesi hedeflendi. Ayrıca enerji ve glikoz metabolizması ile ilişkisi son yıllarda keşfedilen İrisin ve Asprosinin testis ve böbrek dokusunda immunoreaktivitesinin incelenmesi ve Yalancı iğdenin (*Hippophae Rhamnoides L.*) bu proteinler üzerine antioksidan yönünden koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı.

Bu amaçla; 7 haftalık 39 adet Sprague-dawley ırkı erkek ratlar kullanıldı. Gruplar; Kontrol grubu, Sitrat Grubu, SBT grubu, Diyabet grubu ve Diyabet + SBT olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Deneyin başlangıcında tüm ratların kan-glikoz değerleri ve canlı ağırlıkları ölçüldü. Kontrol grubuna (n:7) herhangi bir işlem uygulanmadı; Sitrat grubuna (n:7) 0,01 M sitrat tamponu intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. SBT grubuna (n:7) deney süreci boyunca yalancı iğde yağı gün aşırı olacak şekilde 70 mg/kg dozunda 8 hafta boyunca oral gavaj yöntemi ile uygulandı. Diyabet grubuna (n:9) 50 mg/kg dozda STZ i.p. yolla enjekte edildi.

Enjeksiyondan 72 saat sonra kan-glikoz değeri 250 mg/dl olan ratlar diyabetik olarak kabul edildi. Diyabet + SBT grubu (n:9) ratlara 50 mg/kg dozda i.p. yolla STZ enjekte edildi. Enjeksiyondan 72 saat sonra kan-glikoz değeri 250 mg/dl olan ratlar diyabetli olarak kabul edildi. Diyabet kabul edilen ratlar gün aşırı yalancı iğde yağı (SBT) 70 mg/kg dozunda oral gavaj yöntemi ile verildi. 8 hafta sonunda kan-glikoz değeri ile vücut ağırlığı ölçülen ratlar sakrifiye edilerek testis ve böbrek ağırlıkları ölçüldü. Biyokimyasal incelemeler için serum örneği ve spermatojenik muayene için sperm örnekleri alındı. Testis ve böbrek dokuları histopatolojik (Hematoksilen-Eosin, Periyodik Asit Schiff ve Crossman boyama) ve immünohistokimyasal yöntemlerle incelendi.

Deney sonunda canlı vücut ağırlığının diyabet grubunda azaldığı, Diyabet + SBT grubunda ise artmış olduğu gözlemlendi. Kan-glikoz değerinin ise Kontrol grubuna göre Diyabet grubunda arttığı belirlendi. Diyabet + SBT grubunda ise kan glikoz değerinin Diyabet grubuna göre düştüğü görüldü.

Histopatolojik incelemeler için uygulanan; Hematoksilen-Eosin, Periyodik Asit Schiff ve Crossman boyamaları sonucunda böbrekte meydana gelen hiperemi, bowman aralığında daralma, bazal membranda kalınlaşma ve bağ dokuda artış gibi değişikliklere karşı, yalancı iğde uygulamasının azaltıcı etkisinin olduğu görüldü. Diyabet grubunda artan böbrek ağırlığına karşı, Diyabet + SBT grubunda böbrek ağırlığının azaldığı görüldü. Böbrek İrisin düzeyinin kontrol grubuna göre diyabet grubunda azaldığı, buna karşı Diyabet + SBT grubunda arttığı gözlemlendi. Böbrek Asprosin immunoreaktivitesinin kontrol grubuna göre diyabet grubunda arttığı, Diyabet + SBT grubunda ise Asprosin immunoreaktivitesinin benzer olduğu gözlemlendi. Diyabetle ilişkili oksidatif strese

bakıldığında ise en düşük TOS değerinin diyabetik grupta en yüksek TAS değerin ise SBT grubunda olduğu görüldü. Oksidatif stres indeksinin Diyabet grubunda en düşük olduğu ve Diyabet +SBT grubunda arttığı görüldü.

Testis dokularına uygulanan Hematoksilen-Eosin, Periyodik Asit Schiff ve Crossman boyama sonuçlarına göre histopatolojik olarak seminifer tubuller ve Leydig hücrelerinde meydana gelen dejenerasyon, interstisyel hiperemi, bağ doku artışı, bazal membranda kalınlaşma gibi değişikliklere karşı, yalancı iğdenin azaltıcı etkisi olduğu görüldü. Ancak testis ağırlığına etkisi görülmedi. Testis dokusuna yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonunda, İrisin düzeyinin kontrol grubuna göre diyabet grubunda azaldığı buna karşı Diyabet + SBT grubunda arttığı gözlemlendi. Testis dokusunda Asprosin seviyesinin kontrol grubuna göre diyabet grubunda azaldığı, Diyabet + SBT grubunda ise Asprosin immunoreaktivitesinin arttığı gözlemlendi. Alınan sperm örneklerinden Diyabet grubuna göre Diyabet + SBT grubunda sperm motilite ve yoğunluğunda artış görülürken, anormalite de etkisi görülmedi. Ancak sadece SBT uygulanan hayvanların anormalite değeri en düşük bulundu.

Sonuç olarak; deneysel diyabet oluşturulmuş hayvanlara uygulanan SBT yağının diyabet kaynaklı canlı ağırlık kaybını azalttığı, kan-glikoz değerini düşürdüğü ve SBT'nin diyabet sonrası oluşan oksidatif stresin zararlı etkilerini azalttığı görüldü. Bunun yanında diyabetik hayvanların spermatojenik muayane sonucunda SBT yağının iyileştirici etkisinin olduğu tespit edildi. Son olarak ise; diyabet kaynaklı testis ile böbrek dokularında meydana gelen histopatolojik hasarlar üzerinde SBT'nin azaltıcı etkisinin olduğu ve İrisin ve Asprosin üzerine SBT'nin pozitif etkisi olduğu izlendi.

Anahtar Kelimeler: İrisin, Asprosin, Diyabet, Hippophae Rhamnoides, Oksidatif Stres, Yalancı İğde.



2. ABSTRACT

Investigation of Effect of Hippophae Rhamnoides L. (Sea Buckthorn) on Distribution of Irisin and Asprosin in Kidney and Testicular Injury in Rats with Experimentally Induced Diabetes

Diabetes is a disease which increased amount of glucose in blood and urine affects the whole organism, especially heart, liver, brain, kidney and testicular tissues due to insufficiency of insulin hormone secreted from pancreas or as a result of insufficient use of insulin in the body. Studies have shown that oxidative stress, which occurs due to imbalance of free radicals, plays in etiology of diabetes. Studies which sea buckthorn was used to improve free radical/antioxidant balance drew attention.

In this study, examination of biochemical, spermatogenous and histopathological effects of sea buckthorn against oxidative stress in kidney and testicular tissues after STZ-induced diabetes was aimed. In addition, examination of immunoreactivity of Irisin and Asprosin, whose relationship with energy and glucose metabolism has been recovered in recent years, in kidney and testicular tissues, and investigation of possible protective effects of antioxidant-rich sea buckthorn was aimed.

For this purpose; 39 Sprague-Dawley male rats at 7 weeks of age were used. These animals were divided into 5 groups as Control group, Citrate group, SBT group, Diabetes group and Diabetes + SBT group. At the beginning of experiment, blood-glucose levels and body weights of all rats were measured. No procedure was applied to control group rats (n:7); Citrate groups rats (n:7) received 0,01 M citrate buffer intraperitoneally. SBT group animals (n:7) received seabuckthorn oil via oral gavage with dose of 70 mg/kg every other day for 8

weeks. Diabetes group rats (n:9) injected intraperitoneally with STZ with dose of 50 mg/kg. After 72 hours, rats with blood-glucose level higher than 250 mg/dL were considered diabetic. Diabetes+SBT group rats (n:9) injected with STZ with dose of 50 mg/kg. After 72 hours, animals with blood-glucose level higher than 250 mg/dL were considered diabetic. The rats considered as diabetic were received seabuckthorn oil with dose of 70 mg/kg every other day via oral gavage method. And the end of 8 weeks, blood-glucose levels, body weight were measured and all rats were sacrificed and testicular and kidney weight of animals were measured. Serum samples for biochemical examinations and sperm samples for spermatological examination were taken. Testicular and kidney tissues examined with histopathological (Hematoxylin-Eosin, Periodic Acid-Schiff and Crossman stains) and immunohistochemical methods.

As a result of experiment, body weight values decreased in diabetes group and increased in Diabetes+SBT group. Also blood glucose levels were higher in Diabetes group compared to Control group. In diabetes+SBT group, blood-glucose levels were decreased when compared to Diabetes group.

As a result of Hematoxylin-Eosin, Periodic Acid Schiff and Crossman stains in kidney tissues, SBT has been shown to reducing effect against changes such as hyperemia, narrowing of Bowman's space, thickening of basement membrane and increase of connective tissue. It was observed that the kidney weight decreased in the Diabetes + SBT group against increased in the Diabetes group. Irisin immunoreactivity in kidney was observed to be decreased in diabetes group, whereas increased in Diabetes+SBT group when compared to Control group. It was observed that kidney Asprosin immunoreactivity was increased in

Diabetes group and was similar in Diabetes + SBT group when compared to control group.

When oxidative stress associated with diabetes was examined, lowest TOS values were detected in Diabetes group and highest TAS values were detected in SBT group. Also, highest and lowest oxidative stress index were observed in Diabetes+SBT and Diabetes groups, respectively.

According to results of Hematoxylin-Eosin, Periodic Acid Schiff and Crossman stains in testicular tissues, SBT has shown to reducing effect against histopathological changes such as degeneration, interstitial hyperemia, increase of connective tissue and thickening of the basement membrane which occurred in the seminiferous tubules and Leydig cells. However, no effect was observed in testicular weight as a result of SBT treatment. In immunohistochemical stains of testicular tissue, it was observed that Irisin level decreased in the diabetes group compared to the control group, whereas it increased in the Diabetes + SBT group. Immunohistochemical staining of Asprosin in testis showed decreased levels of immunoreactivity in Diabetes group when compared to control group, and increased immunoreactivity in Diabetes+SBT group. Sperm motility and density were increased in the Diabetes + SBT group compared to the Diabetes group, but there was no effect on the abnormality. However, the lowest abnormality value was found in animals treated with only SBT.

As a result, SBT oil treatment to animals with induced diabetes, has been found to reduce weight loss as a result of diabetes, decrease blood-glucose levels and it was observed that SBT reduced the harmful effects of oxidative stress after

diabetes. In addition, it was determined that SBT oil had a healing effect on result of spermatogenic examination of diabetic animals. Finally, it was observed that SBT had a decreasing effect on histopathological damage in testicular and kidney tissues caused by diabetes, and had a positive effect on Irisin and Asprosin.

Keywords: Irisin, Asprosin, Diabetes, Hippophae Rhamnoides, Oxidative Stress, Sea Buckthorn



3. GİRİŞ

3.1. Diyabet

Diyabet, genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle vücutta insülin hormonunun salgılanmaması veya insülin hormonunun yetersizliğinden kaynaklanan karbonhidrat ile birlikte protein ve yağ metabolizmasının da etkilendiği hiperglisemi ile karakterize bir hastalıktır (1)

Diyabet son derece önemli bir hastalık olup, kan ve idrarda artan glikoz miktarı sonucu, birçok komplikasyon ardından teşhisi konulan (1), önlemi alınmadığı takdirde akut ve kronik komplikasyonların beraberinde getirdiği ölümle sonuçlanabilen önemli bir toplum hastalığı olarak karşımıza çıkmaktadır (2). Diyabetin uzun süreli etkilerinden kaynaklı; retinopati, nefropati ve nöropati olmak üzere birçok işlev bozukluğuna rastlanılmaktadır. Bununla beraber periarteriyel ve kardiyovasküler sistem hastalıkları, obezite, erektil fonksiyon bozuklukları, karaciğer yağlanması gibi hastalıklarda görülmektedir (1,3,4).

3.2. Diyabetin Tarihçesi

Diyabetes Mellitus (DM) kelime anlamı olarak Diyabetes (Yunanca “akıp gitmek”) Mellitus (Latince “bal kadar tatlı”) bal kadar tatlı sıvının fazla olması anlamıyla tarihi antik çağlara dayanmaktadır (5). M.Ö.1500 yıllarında Mısır Ebers papirusunda çok idrara çıkma (poliüri) şeklinde rastlanmaktadır. Milattan sonraki yıllarda Kapadokyalı Arateus, ‘Diabetes’ kelimesini ilk defa ‘vücudun bazı uzuvlarını eritmesi sonucu içi boşalan’ anlamında kullanmıştır (3,5). MS 1000’li yıllarda İbni Sina’nın kayıtlarında diyabetli hastaların idrarlarının tatlı olduğu ve

susuzluk hissinden bahsedilen kaynaklara rastlanılmıştır. 1674 yılında Thomas Willis diyabet hastalarının idrarlarının tatlı olduğunu kanıtlamıştır. İdrarla birlikte şeker atıldığı ise İngiliz Matthew Dobsoy tarafından ilk kez 1776 yılında gösterilmiştir (5,6,7).

1860'da pankreasın langerhans adacıklarının incelenmesi, 1875'de Claud-Bernard'ın diyabetin nöro-hormonal mekanizmasının incelenmesi; ardından 1889'da V. Mering ve Minkowski'nin pankreotektomi yöntemi ile diyabet oluşumunu ortaya konulması diyabet için önemli adımlardandır. Ardından 1921'de deneysel diyabetik köpeklerde, pankreatik ekstrakt enjeksiyonları ile düşük kan şeker seviyelerinin gösterilmesi ve 1922'de Best ve Banting'in pankreas hücrelerinden insülini izole etmesi sonucu insülinin ilk kez insanlarda kullanılması ile diyabet hastalığının tedavisinde önemli yol kat edilmiştir (6,7).

3.3. Diyabetin Epidemiyolojisi

Hem vaka sayısı hem de diyabet prevalansı son birkaç yılda giderek artmaktadır. Bu bağlamda ekonomik giderleri ve insan sağlığı üzerine akut ve kronik etkilerinden dolayı, diyabet her zaman üzerinde durulması gereken hastalıkların başındadır.

Diyabet, dünyada her popülasyonda ve özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerin kırsal kesimlerinde yaygın olarak görülen bir hastalıktır. Tüm dünyada Diabetes Mellitus'un prevalansında son yıllarda belirgin bir artış gözlenmiştir. Uluslararası Diyabet Federasyonuna (IDF) göre 2040'da 10 yetiştikenden 1'i diyabet hastası olacağı tahmin edilmektedir. Bu da yaklaşık olarak 642 milyon

insana tekabül etmektedir. 2045 yılında bu rakamın 700 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Her yıl dünya çapında meydana gelen 1,6 milyon ölüm diyabete atfedilmektedir (8,9).

3.4. Diyabetin Semptomları

Diyabet hastalığında klasik semptomlar olarak; Poliüri, polidipsi, polifaji, iştahsızlık, çabuk yorulma, halsizlik, ağız kuruluğu ve noktüri görülmektedir. Daha az olarak ise görme bozuklukları, kilo kaybı, tekrarlayan mantar enfeksiyonları ile kaşıntı gibi semptomlarla karşılaşılabilir (10,11).

Diyabet, insülin hormonunun yetersizliğine neden olması ve insülin direnci ile dokularda glikozun azalması sonucu, vücutta intrasellüler kısımlarda hipoglisemi, ekstrasellüler kısımlarda ise hiperglisemi ile sonuçlanmaktadır. İntrasellüler hipoglisemi sonucu glikogenezis ve glikoneogenezis oluşur ve bu da diyabetik ketozise ve protein sentezinin azalmasına neden olur. Ekstrasellüler sıvıda gerçekleşen hiperglisemi sonucunda ise hiperglisemik şok ve osmotik diürezis görülür (12).

3.5. Diyabet Hastalığının Tanı ve Sınıflandırılması

Diyabet sonrası glikoz metabolizmasında meydana gelen bozuklukların tanı ve sınıflandırması ilk olarak 1997 yılında Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından yayınlanmıştır. Hemen ardından Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 1999 yılında bazı değişiklikler yapılarak bu standartlar güncellenmiştir.

2003 yılında ADA, bozulmuş açlık glikozu (IFG) tanısında küçük değişiklikler yapmıştır. DSÖ ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından 2006 yılında yayınlanan raporda 1999 yılı koruma standartları benimsenmiştir (9). Diyabetes mellitus teşhisinde kullanılan kan-glikoz parametreleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: Diyabetes mellitus teşhisinde kullanılan kan-glikoz parametreleri

	Normal Glikoz Toleransı	Bozulmuş Glikoz Toleransı	Diyabetes Mellitus
Açlık kan glikozunun mg/dl (mmol/L)	<100 (5.6)	100-125 (5.6-6.9)	≥ 126 (7.0)
Ağızdan verilen 75 gr’lık glikoz yüklemesini (Oral glukoz tolerans testi-OGTT) takiben 2 saat sonraki mg/dl (mmol/L)	<140 (7.8)	≥140-199 (7.8-11.0)	≥200 (11.1)
HbA 1 c (%) Glikozillenmiş hemoglobin)	<5.7	5.7-6.4	≥ 6,5

3.6. Etiyolojik Olarak Diyabetes Mellitusun Sınıflandırması

Diyabetes Mellitus öncelikle 1980’lerde dünya çapında ilk defa WHO tarafından sınıflandırılmıştır. İnsülin bağımlı Diyabetes Mellitus (IDDM) veya Tip 1 Diyabet ve İnsülin Bağımlı Olmayan (NIDDM) veya Tip 2 diyabet şeklinde sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırma 1997 de Tip 1 diyabet ve Tip 2 Diyabet olarak güncellenmiştir (11).

3.6.1. Tip 1 Diyabetes mellitus (T1DM):

Pankreasın β hücrelerinin yıkımı ve mutlak insülin hormonu eksikliğinden kaynaklı insülin hormonunun yeterince salgılanmaması sonucu oluşan çoğunlukla otoimmün kaynaklı diyabet çeşididir. Bu tip model diyabet hastalığının %5-10'unu oluşturur. Hastalık patogenezi henüz tam olarak ortaya konulamamıştır. Hastalığın meydana gelmesinde genetik yatkınlık ile çevresel tetikleyici faktörlerin (toksinler, virüsler ve stres faktörleri) etkisi sonucu β hücrelerinde hasara rastlanılmaktadır. β hücre rezervinin %80-90 azalması sonucu diyabetin klinik semptomları ortaya çıkmaktadır (12). β hücre kaybı bebek ve çocuklarda hızlı, yetişkinlerde ise yavaş gelişmektedir Çocuk ve bebeklerde daha fazla görülmesinden dolayı bu tip diyabet juvenil diyabet olarak da bilinmektedir (2,13,14). Hastalık genellikle 30 yaş altı, obez olmayan, ketozis eğimli hastalarda daha fazla görülmektedir (13,14). Tip 1 diyabet hastalarında insülin tedavisi uygulanır. Hastalık teşhis edildikten sonra hastalar uzun yıllar insülin tedavisi ile hayatta kalabilirler (1).

Hastalıkla beraber kanda artan glikoz miktarı, glomerüller tarafından glikozun geri emilimi için yetersiz kalır ve idrarla birlikte glikoz atımı gerçekleşir. Glikoz, ozmotik basınç etkisiyle su atılmasına neden olarak poliüri ve polidipsiye neden olur (14,15).

3.6.2. Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM):

Diyabet hastalığının en yaygın görülen şekli Tip 2 diyabet formudur. İnsülin direnci sonucu meydana gelen insülin yanıtındaki yetersizlik ve beta

hücrelerinde meydana gelen bozukluklar sonrasında insülin sekresyonunun gerçekleşmemesi sonucu ketozis ile sonuçlanan durumdur. Te hisi zor olup, uzun yıllar teşhis edilemez. Diyabet hastalı n komplikasyonlarından olan makrovasküler ve mikrovasküler bozuklukların fark edilmesi sonucu meydana gelen semptomlar ile teşhis edilir (1,12). Genellikle obezite ile ilişkili olup vücutta özellikle abdominal bölgesi ya lı olan fiziksel aktivitesi yetersiz, hipertansiyona sahip ve gebelikte diyabet öyküsüne sahip bireylerde daha fazla rastlanmaktadır (10).

3.6.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM):

Gebeliğin başlangıcında hiperglisemi ile karakterize olup, karbondi rat intoleransı şeklinde değerlendirilir. Özellikle ileri ya  gebeliklerde ve T2DM geçmişi bulunan gebelerde daha fazla rastlanmaktadır. Yavru ve anne için oldukça risk teşkil etmektedir. Gebeliğin son 4-8 haftaları arasında do masal anomalilerin ortaya çıkmasına ve f tal ölüm riskinin artması gibi birçok komplikasyonlara neden olmaktadır (1,12). Genellikle asemptomatik bir seyir halinde ilerler. Do umla birlikte çoğunlukla ortadan kalkar ancak bir sonraki gebelikte tekrarlandığı g r lm  t r. Daha önce özellikle diyabet öyküsü bulunan kadınlar, gebeliğinin ilk 3 ayında glikoz tespitinden geçirilmelidir (1).

Diğer Diyabetes Mellitus Tipleri:

- a. Beta hücre fonksiyonunun genetik bozuklukları
- b. İnsülin hormonu etkisindeki genetik bozukluklar
- c. Ekzokrin Pankreas Hastalıkları
- d. Endokrinopatiler
- e. Kimyasal ve ilaçlar ile oluşturulan diyabet
- f. Enfeksiyonlar
- g. İmmün ilişkili diyabetin sık olmayan formları
- h. Diyabetle birlikte görülebilen diğer genetik sendromlar (10,14).

3.7. Diyabetin Risk Faktörleri

Diyabetin ortaya çıkması için birçok risk faktörü etkili olmaktadır. Bunlardan bazıları aşağıda sıralanmıştır;

Genetik: Her iki tip diyabet türü için genetik önemli bir faktördür. Ebeveynlerinde Tip 1 diyabet hikayesi bulunan ya da otoimmün hastalığa sahip bireylerin Tip 1 diyabet hastalığına yakalanma oranı artmaktadır. Tip 2 diyabet için de genetik faktör önemli olmakla beraber Tip 2 diyabet hastalığının oluşmasında karmaşık bir yapı olduğu bilinmektedir (14,15).

Obezite: Anne-baba diyabet öyküsüne sahip olanlar dışında, obezite diyabet için büyük bir risk meydana getirmektedir. Vücut kitle indeksi (BMI)

olanlar $>25 \text{ kg/m}^2$ daha yüksek diyabet riski taşımaktadır. Bu kişilere egzersiz yapması ve sağlıklı beslenmesi yönünde tavsiyelerde bulunulmalıdır (14,15).

Yaş: Yaşın ilerlemesi ile birlikte β hücrelerinde yıkımın arttığı görülmektedir. Yaşlanma ile diyabete yakalanma oranı artmaktadır (14,15).

Etnik Köken: Diyabet hastalığı etnik kökenlere göre farklı dağılım göstermektedir. Bu dağılım da diyabet riskini belirlemektedir (14,15).

3.8. Deneyisel Diyabet Modelleri ve Streptozosin

Vücudumuzda meydana gelen birçok hastalığın oluşturduğu fizyolojik ve patolojik hasarların anlaşılması ve farklı tedavi mekanizmalarının ortaya konulabilmesi için birçok deneyisel hayvan modelinden yararlanılmaktadır. Farklı tip diyabet modellerine göre deneyisel diyabet modelleri geliştirilmiştir. Laboratuvar hayvanlarında deneyisel diyabet modeli oluşturmak için; cerrahi yöntemler, kimyasal maddeler, diyet ve besin aracılığıyla oluşturulan modeller, spontan modeller ve transgenik hayvan modelleri kullanılan farklı çalışmalar bulunmaktadır (16). Deneyisel Tip I ve Tip II diyabet modelleri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2: Deneysel Tip I ve Tip II diyabet modelleri (16)

Tip 1 Diyabet Modelleri	Tip 2 Diyabet Modelleri
1-Cerrahi yöntemler ile oluşturulan diyabet modeli a. Total pankrektomi	1- Cerrahi yöntemler ile oluşturulan diyabet modelleri a. Partial Pankrektomi
2- Kimyasallar ile indüklenen diyabet modelleri a. Yüksek tek doz streptozotosin b. Alloksan	2- Kimyasallar ile indüklenen diyabet modelleri a. Düşük tekrarlayan doz streptozotosin b. Alloksan c. Goldthioglucose
3- Diyet ve Besin Aracılığıyla Oluşturulan Modeller a. Glukoz Yükleme 4- Spontan Tip 1 Diyabet Modelleri a. Non-Obez Diyabetik Fare b. Bio Breeding sıçan 5- Transgenik Knockout Diyabet Modelleri	3- Diyet ve Besin Aracılığıyla Oluşturulan Modeller 4- Spontan Tip 2 Diyabet Modelleri a. Obez modeller b. Non-obez modeller 5- Transgenik Knockout Diyabet Modelleri

Deneysel diyabet modellerinin en yaygın olarak kullanılan formu kimyasal ajanlar ile oluşturulan diyabet formudur. Alloksan ve Streptozosin (STZ) deneysel diyabette kimyasal ajan olarak kullanılır (16).

STZ ilk olarak '*Streptomyces achromogenes*' adlı bakteriden izole edilmiş olan, geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (17,18). 1959 yılında keşfinden beri STZ, deneysel çalışmalarda ve klinik öncesi uygulamalarda sıkça kullanılmıştır STZ ile oluşturulan diyabet modelleri insan diyabet modeline en yakın sonuç vermesi dolayısıyla yapısal, fonksiyonel ve biyokimyasal değerlendirme yapılmasına olanak sağlar (19).

STZ'nin diyabetik aktivitesi ilk defa tam anlamıyla 1963 yılında kullanılmıştır. STZ, Glucose Transporter 2 (GLUT2) adı verilen taşıyıcı ajanlar aracılığı ile taşınıp hücre içinde birikir. Hücrelerde biriken STZ, DNA metilasyonuna neden olarak, diyabetojenik etkisini diazomethane adı verilen alkilasyon maddesini oluşturarak ortaya çıkarır (20).

STZ Nötral pH'da hızla parçalandığı için pH'sı 4-4.5 olmalıdır. Bu nedenle STZ çözündürülürken Sitrat tamponu kullanılmaktadır (21,22,23). Hem Tip 1 hem de Tip 2 diyabet modelinin oluşturulmasında sitrat tamponu kullanılmaktadır (22).

Yetişkin sıçanlarda insüline bağlı diyabet modeli (Tip 1 diyabet) oluşturmak için i.p. olarak tek doz olacak şekilde 40-60-mg/kg doz STZ uygulanır. İnsüline bağlı olmayan diyabet (Tip 2 diyabet) oluşturmak için yeni doğan sıçanlara tek doz 100 mg/kg uygulanır (22). Uygun yöntemler ile diyabet modellemesinin ardından kan şekeri düzeyi 250 mg/dl'nin üzerinde olan hayvanlar diyabetli olarak kabul edilmektedir (24).

STZ, β hücrelerinde meydana getirdiği değişikliklerin yanında kan-insülin seviyesi ve kan-glikoz değerinde değişikliklere de yol açmaktadır. Enjeksiyondan 2 saat sonra karaciğerde glikojenin ani yıkılımı ile kanda insülin seviyesi düşer ve hiperglisemi sonucunda kan şekerinin yükseldiği gözlenir. Hipergliseminin ardından yaklaşık 6 saat sonra β hücrelerinin ölümüyle kandaki insülin seviyesinde yüksek artış sonucu şiddetli hipoglisemi oluşur. Finalde ise 10-12 saat insülin seviyesinin tamamen azalması ile hiperglisemi şekillenir ve aylarca devam

eder. STZ öncelikle β hücrelerinin, glikoza tepkisini ortadan kaldırır, ardından β hücrelerinde kalıcı kayıp ve hasar görülür (20,24).

3.9. Diyabette Oksidatif Stres Şekillenmesi

Canlı organizmada serbest radikallerin oluşumu ile ve bu durumun antioksidan savunma sistemleri tarafından etkisiz hale getirilmesi vücutta bir denge oluşturmaktadır. Organizmada serbest radikal/antioksidan denge halinde olduğu sürece dokular serbest radikallerden etkilenmemektedir (25,26,27). Reaktif nitrojen türleri (RNS), Reaktif oksijen türleri (ROS) gibi reaktif özelliği yüksek moleküllerin ortaya çıkması ve oluşan metabolitlerin antioksidan savunma mekanizma cevabının yetersiz olması sonucunda denge bozulur ve oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif stres sonucunda hücrede DNA, lipid, karbonhidrat, protein ve enzim molekülleri zarar görebilir (25).

Organizmada normal şartlar altında pankreasta bulunan β hücrelerinden insülin salgılanarak kandaki glikoz seviyesi düşürülür. Ancak vücutta meydana gelen lipid peroksidasyonu, proteinlerin enzimatik olmayan glikolizasyonu ve glikoz oksidasyonuna neden olan enerji metabolizmasındaki değişiklikler, metabolik stres ile ROS/RNS artışına neden olarak diyabete ve beraberindeki komplikasyonlara yol açar (28).

Hücrede hiperglisemi durumunda, yolakların aktive olması sonrası, mitokondride Nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) birikir. Biriken bu NADH konsantrasyonunu azaltmak için mitokondrilerde NADH oksidasyonu artırılır.

NADH'in NAD'a yükseltgenmesi için süperoksit radikalleri oluşur. Süperoksit seviyelerinin artışı oksidatif stres oluşumunda rol oynar (30).

NADH seviyelerindeki değişim sonrası oluşan ROS, gliseraldehit-3 fosfat dehidrogenaz (GADPH) enzim aktivitesini de bozar. GADPH enzimi glikoliz ve Krebs Siklusunun etkinliğini azaltır. Gliseraldehit 3 fosfatın da dahil olduğu yollarda meydana gelen aksaklıklar sonucu ara metabolitlerin de biriktiği görülür. Bu metabolitler alternatif yollar ile metabolize edilmeye çalışılır. Organizmanın stabil olduğu durumlarda alternatif yolların metabolizma üzerine etkisi çok minimal derecededir. Ancak, hiperglisemi koşullarında glikoz metabolizmasında ROS üretimi; oksidatif stres, diyabet ve komplikasyonlarının patogeneğinde önemli bir rol oynar (30).

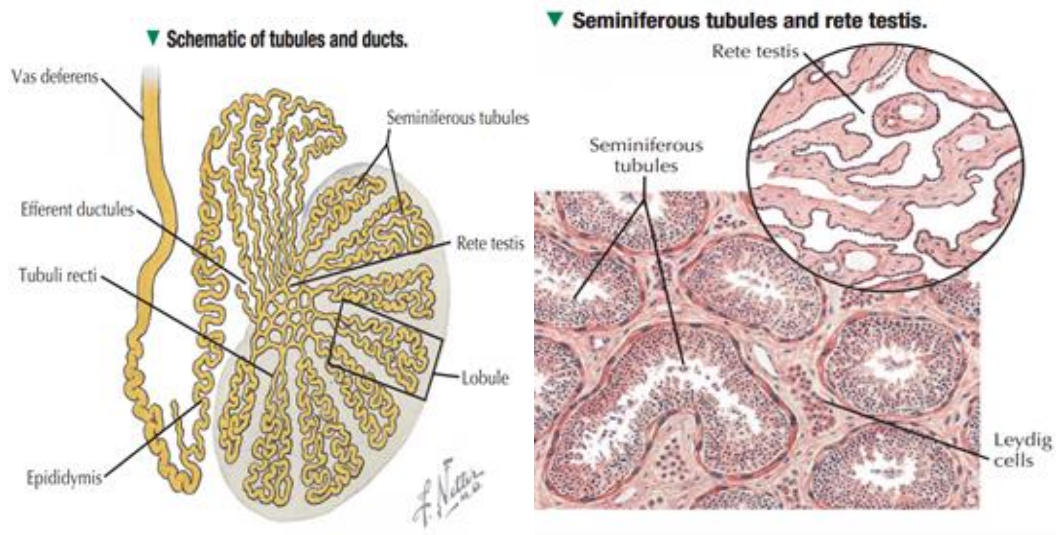
3.10. Erkek Üreme Sistemi ve Testis

Erkek üreme sistemi; erkek cinsiyet hücrelerinin üretilmesi ve erkek cinsiyet hormonlarının salgısında görev alan scrotuma asılı duran sağlı sollu yerleşik halde bir çift organ olan testisler, cinsiyet hücrelerinin taşınması ve depolanmasında görev alan genital kanallar ve aksesuar organ olan eklenik genital bezler (prostat bezi, bulboüretreal bezler ve seminal vesiküler bezler) ve penisden meydana gelmektedir (31,32).

3.10.1. Testis

Testisler; yarım ay şeklinde epididymis'in (epididimis) eklenik olduğu yaklaşık 15 g ağırlığında fibroelastik bir zar ile çevrili olan, stroma ve paranşim olmak üzere iki kısımdan oluşan bir organdır (33,34). Paranşim kısmı testisin asıl işlevinin gerçekleştiği bölmedir. Erkek cinsiyet hücrelerin yapıldığı, erkek cinsiyet hormonların üretildiği ve taşındığı (tubulus seminiferus contortus, tubulus seminiferus rectus ve rete testis) yapılardan oluşmuştur

Paranşimi temsil eden tubulus seminiferus contortus arasındaki bağ dokuya intertubuler intersitisyum denilmektedir. Bu bölgelerde interstisyel hücreler (endocrinocytus interstitialis, Leydig hücreleri) yer alır. Leydig hücreleri testislerin paranşiminde bulunan, tubulus seminiferus contortuslar arasındaki bağ dokuda bulunan polihedral şekilli tek ya da kümeler halinde bulunan hücrelerdir. Eozinofilik sitoplazmalı, iri, yuvarlak, çok köşeli (poligonal) şekillere (Şekil 1) sahiptir (31,33).



Şekil 1: Testiste seminifer tubuller ve rete testisin şematize görüntüsü (34)

Tubulus Seminiferus Contortus (TSC): Etrafı düzleşmiş yuvarlak çekirdekli myleoid şekilli, hücre ve basement membrandan oluşmuştur (35). Erkek cinsiyet hücreleri tubulus seminiferus kontortuslar içinde üretilir. TSC içinde miyofibroblast hücreler bulunur. Bu hücreler peristaltik hareketler ile gelişimini tamamlayan spermatozoonların tubul içerisinde ilerlemesine yardımcı olur. Tubulun içinde gelişmekte olan erkek cinsiyet hücreleri ve aralarında bulunan sertoli hücreleri (epitheliocytus sustentans) bulunur. (35). Hücrenin bazalinde yerleşmiş olan sertoli hücreleri, üçgen şekilli açık renkli çekirdeği ile belirgin çekirdekçiğe sahip hücrelerdir (31,35,36). Sertoli hücrelerinin destekleme, fagositoz, sekresyon ve en önemlisi kan-testis bariyerini oluşturma gibi çeşitli görevleri vardır (35).

3.10.2. Testis içi Genital Kanallar

Testis içi genital kanallar, Tubulus seminiferus recti, rete testis ve ductuli eferentisden meydana gelmektedir. Bu kanallar seminifer tubullarda oluşan sıvı ve spermatogenetik hücrelerin epididimise taşınmasında rol oynar (36).

Tubulus seminiferus recti: Tubulus seminiferi contortusları, rete testise bağlayan kısımdır. Kısa ve düz tüplerden oluşmuştur. Kübik ve yassı epitel hücreleri ile döşenmiş hücrelerden meydana gelmiştir (31). Kanalcıklar arasında bağ doku kılcal damarları, lenf damarları, sinirler, fibroblastlar, mast hücreleri ve makrofajların yanında hormon salgılayan Leydig hücrelerine rastlanır.

Rete testis: Testisin mediastinum bölgesinde tubulus seminiferus rectilerin birleşerek meydana getirdiği kanallar bütünüdür. Tek katlı kübik ve yassı epitel ile

çevrilmiş olup bazen iki katlı bir görüntü oluşturmaktadır. Rete testisler 10-20 adet duktuli eferentes ile epididimise bağlanmıştır (31,37).

3.10.3. İnfertilite ve Diyabet

Erkek hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalar sonucu cinsel işlev bozukluğu, Tip 1 ve Tip 2 diyabetli hastalarda yaygın komplikasyon olarak karşımıza çıkmaktadır (38,39).

Diyabetli hastalardan alınan sperm numuneleri incelendiğinde nükleer ve mitokondriyal DNA'da yapısal bozukluklar görülmüştür. Spermin yapısında hiperglisemi sonucu meydana gelen bozuklukların oksidatif stresten kaynaklandığı düşünülmektedir. Böylelikle sperm kalitesinin düşüklüğü implantasyon oranında azalmaya, bozuk embriyonun ise ileriki yaşlarda meydana gelecek hasarlara neden olduğu bilinmektedir (40,41).

Diyabet, erkeklerde hipotalamik-hipofizden salgılan hormon dengesini bozmakta ve cinsel davranış parametrelerinde düşüş meydana getirmektedir. FSH ve LH salınımında meydana gelen aksaklıklar, erkek eşey hücrelerinde olgunlaşma bozukluklarına yol açar (41).

Deneysel diyabet modellerine bakıldığı zaman, diyabetli hayvanların testosteron düzeyinde azalma meydana geldiği gözlenmiştir. Testosteron seviyesinde meydana gelen azalma cinsiyet hücrelerinde azalmaya ve devamında anormal spermatogenezise neden olur. Bu etki ise insülin üzerindeki negatif etkiden kaynaklandığını düşündürmektedir (42).

Diyabete bağlı testislerde histolojik olarak tunika albugineada, seminifer tubullerde interstisyel bağ dokuda ve Leydig hücrelerinde histopatolojik değişikler gözlenmiştir (39,45).

Oksidatif stres kaynaklı dokularda artan ROS miktarı, antioksidan savunma mekanizmasında azalma olduğunu göstermiştir. Bu azalma erkeğin üreme kalitesi bakımından çok önemlidir. Yüksek hiperglisemi ile artan oksidatif stres, hücrelerde DNA hasarına yol açmaktadır (46).

DM tarafından meydana gelen testis hasarında glikoz metabolizması ile doğrudan ilişkili olan insülin hormonu eksikliği ile bağdaştırılmıştır. Bunun da glikoz metabolizmasında meydana gelen sorunlardan kaynaklandığı düşünülmektedir (47).

Son verilere göre dünya üzerinde diyabetli hasta sayısı günden güne artmaktadır. Bu artışın üreme çağında bulunan bireylerin etkilenmesi ile ileriki dönemlerde fertilité problemlerinin de olacağını düşündürmektedir. Bu nedenle diyabet ve üreme sağlığı ile yapılacak her bir çalışmayı daha kıymetli hale getirmektedir.

3.11. Üriner Sistem

Üriner sistem; iki böbrek, iki üretra, sidik kesesi ve üretradan meydana gelen, kandan artık ürünleri böbrek vasıtasıyla süzerek idrarı meydana getiren sistemdir.

Böbrekler salgılama, homeostaz ve endokrin olmak üzere 3 fonksiyona sahiptir. Erkeklerde aynı zamanda semenin boşaltımında da üretra görev aldığı için aynı zamanda üreme sisteminin de bir bölümünü oluşturmaktadır (31,32).

3.11.1. Böbrekler

Böbrekler bir dışbükey ve bir içbükey kenarlara sahiptir. Atardamarların girdiği ve toplardamarların böbreği terk ettiği yere hilus adı verilir. Her bir böbrek dış lifli katman ve iç hücresel katmandan oluşan kapsüle sahiptir (31).

3.11.2. Korteks ve Medulla

Böbrekler korteks ve medulla olmak üzere iki kısımdan meydana gelmiştir. Korteks; renal cisimcik, proksimal kıvrımlı tubul, distal kıvrımlı tubul, proksimal düz tubul, distal düz tubul, toplayıcı kanaldan oluşur. Medulla ise dış medulla ve iç medulladan meydana gelir.

Dış medulla: Proksimal düz tubul, distal düz tubul, toplayıcı kanal, inen ince tubul ve toplayıcı kanaldan meydana gelir.

İç medulla: İnen ve çıkan ince tubul -Henle kulpu-, toplayıcı kanaldan oluşur (35).

3.11.3. Nefron

Nefron Yunanca: nephros-böbrek anlamına gelen, böbreğin yapısal ve fonksiyonel birimi olup; renal korpüskül ve renal tubul olmak üzere iki ana bileşenden meydana gelen bir yapıdır (31).

3.11.4. Korpuskulum Renis- Malpighi Cisimciği- Böbrek Cisimcikleri

Korteksin kortikal labirentine yerleşen glomerulus ve bowman kapsülünden meydana gelen, nefronun ilk bölümüne Malpighi Cisimciği- Böbrek Cisimcikleri denilmektedir. Böbrek cisimciği afferent ve efferent damarların girdiği damar kutbu (vasküler kutup) ve damar kutbunun tam karşısında bulunan süzülen sıvıyı ileten idrar kutbundan oluşur (31).

3.11.5. Glomerulus

Böbrek lopçukları arasında uzanan afferent arteriyoller kendi etrafında kıvrımlar yaparak yumak halinde glomerulusu şekillendirmektedir. Bu kıvrılan yapı daha sonra tekrar arteriyole dönerek efferent arteriyolü oluşturur. Damar yumağı şeklinde bir yapı oluşmuştur. Kılcal damar duvarı etrafında bol miktarda endotel hücreleri bulunmaktadır (33,35).

3.11.6. Bowman Kapsülü

Bowman kapsülü visseral (iç) ve parietal (dış) tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur. Kılcal damar yumağından meydana gelen visseral tabaka, podosit adı verilen sitoplazmik uzantılara sahiptir. Podosit hücreleri, yassı çekirdeğe sahip mikrotubulus barındıran ayakcıklı hücrelerdir. Podositler pedisel adı verilen birçok sekonder uzantılar meydana getirir (31). Dış tabaka (visseral) damar kutbunda pariyetal yaprağın devamı şeklindedir. Böbrek cisimciğinin dıştan sınırını belirleyen retiküler bağ doku hücreleri ve bazal lamina ile beslenen yassı epitel hücrelerinden meydana gelen tabakadır.

Bowman kapsülünün kapiller damarlar tarafından süzülen sıvısı, podositlerin arasındaki açıklıktan mikrotubuluslar aracılığı ile bowman aralığına geçer (31). Glomerulusun kapillar damar ağı arasında yerleşen ana yapısını oluşturan mezentere benzer bağ doku oluşumuna mezangiyum denir (35).

3.11.7. Böbrek Tubulleri

Fizyolojik işlev ve şekilleri bakımında 4 farklı tubul bulunur;

3.11.7.1. Proksimal Kıvrımlı ve Düz Tubuller

Proksimal kıvrımlı tubuller, endoteldeki tek katlı yassı epitelin tek katlı kübik epitele dönüşmesi ile glomerulusun idrar kutbu ile başlar. Yapısında barındırdığı mikrovilluslardan dolayı fırçamsı kenarlar bulunmaktadır. Çok sayıda mikrovillusun varlığı glomerular filtratta su, Na, K, Cl ve diğer iyonların geri emiliminin burada çok fazla gerçekleştiğini gösterir. Distal tubullere göre

organeller bakımından zengin oluğu proksimal tubullerin daha koyu boyanmasını sağlar. ekirdekleri büyük ve k re  eklinindedir (31).

Proksimal kıvrımlı tubuller daha sonra düz tubul halini alır ve proksimal düz tubuller ( nen kalın kol) olarak isimlendirilir. Bu yapı henle kulpunun başlangıcını oluşturur. Mikrovillusları daha kısa ve organelleri az olup medullaya doğru ince tubul haline gelerek sonlanır. Bu değişim kübik epitelin tek katlı yassı epitele dönüşmesi şeklinde gözlemlenir (35).

3.11.7.2. Henle Kulpu

Yaklaşık olarak glomerüler filtratta suyun %15'ini ve NaCl, K⁺, Ca⁺² ve HCO₃ ise %25'inin geri emiliminden sorumludur. Henle kulpu, inen kol ve çıkan kol diye ikiye ayrılır. Her bir kol ince ve kalın şekilde isimlendirilir (35,36).

Önen henle; çapı en dar olan tubul olup, medullaya yerleşir, yassı çekirdekli hücrelere sahip olup dışarıya doğru çıkıntı yapar. Kesitlerde inen henle kulpu kılcal damarlar ile karıştırılabilir. Kılcallarının sitoplazmaları az ve çekirdekleri heterokromatik yapı gösterir. Önen henlenin suya geçirgenliği çok fazla olup suda erimiş maddeler için geçirgen değildir.  ıkan henlenin ise; duvarında bulunan kübik epitel hücreleri belirgin olmayıp sitoplazmaları asit boyalarla koyu tonda boyanır.  ıkan henle bölümü, inen henlenin tam tersine sodyuma geçirgen olup su geçişine izin vermez.

3.11.7.3. Tubulus Distalis

Henle kulpunun çıkan kolu kortekse girdiğinde kıvrımlar yaparak distal kıvrımlı tubulleri meydana getirir. Işık mikroskobu altında incelenen histolojik kesitlerde epitel yüzeylerinde fırçamsı kenarlar bulunmadığından distal tubullerin daha soluk ve geniş olduğu, boylarının da daha kısa ve dar olduğu görülür. Ayrıca proksimal tubullere göre daha seyrek (31,36).

Distal düz tubuller glomerulusa geldiğinde özelleşmiş epitelyal hücrelerden meydana gelen makula densa adı verilen bir yapı meydana getirir. Makula densalar su hacmine ve hücre içi sıvıdaki klor iyonu içeriğine karşı duyarlıdır. Dolaşıma renin salgılanmasını uyaran moleküllere sahiptir (31,36).

3.11.7.4. Toplayıcı Borucuklar

Tubulus distalislerden sonra oluşan sınırları çok fazla belirgin olmayan kübik hücrelerden meydana gelir. Bu yapılar birleşerek medullaya geçer ve toplayıcı borucukların oluşmasını sağlar (31). Tek katlı kübik epitele sahip olan toplayıcı borucuklar, distal kıvrımlı tubuller ile birleşir. Hücrede eğer sıvı alınması sınırlı sayıda ise antidiüretik hormon salgılanır ve toplayıcı borucuklar vücutta su tutulması için su emilimini sağlar (31,35).

3.11.8. Nefropati

Kronik hiperglisemi ve glikoz intoleransı, insülin aktivasyonunu etkilemektedir. Bu da organizmada mikro ve makrovasküler komplikasyonlara yol

açılmasını sağlar (1). Makrovasküler komplikasyonlar diyabetik hastalarda mortalite ile sonuçlanan koroner kalp hastalığı, iskemik inme ve periferik vasküler hastalıkları barındırır (48). Mikrovasküler bozukluklar ise, diyabetik nefropati, nöropati ve retinopatiden sorumludur. Diyabetin en yaygın ve en önemli komplikasyonlarından birisi diyabetik nefropatidir. Diyabet hastalarının son aşamasında nefropati görülür ve bu hastaların yaklaşık %40'ı diyalize ihtiyaç duyar (12,49). Diyabetik nefropati, her iki Tip 1 ve Tip 2 diyabette sık görülen bir komplikasyondur. Diyabetik böbrek hastalığı genellikle mikroalbüminüri ve hipertansiyon ile birlikte ilerler daha sonra nefrotik sendrom ve kronik böbrek yetmezliği gelişir (50).

Deneyssel olarak STZ ile oluşturulan diyabetik nefropati modellerinde mezengiyal hücrelerde dejenerasyon, glomerullarda atrofi, bowman aralığında genişleme, bazı glomeruluslarda skleroz, tubul epitellerinde dökülme ve dejenerasyon görülmüştür (51,52). Klasik diyabetik nefropati, kademeli olarak artan üriner albümin artışıyla ve karakterize uzun yıllar boyunca albümin atılımı ve kan basıncı artışıyla gelişen kronik bir durumdur. Nefropati ilerledikçe, diğer kronik komplikasyon riski artar (53).

Nefropatinin oluşması ve ilerlemesinde oksidatif stresin önemli bir etkisi olduğu düşünülmektedir. Daha önce yapılmış olan çalışmalarda yüksek hipergliseminin vücuttaki antioksidan dengesinde bozulmaya, düşüşe ve bununla beraber vücutta oksidan/antioksidan seviyesinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (54,55). Diyabet ile maruz kalınan yüksek hiperglisemi ile savaşmak ve glikoz metabolizması üzerindeki olumsuz etkileri ortadan kaldırmak adına antioksidan olarak kullanılan bitkilerde bulunan bazı maddelerin çalışmalarda

kullanılması diyabetin olumsuz etkilerini önlemekte yararlı olacağı düşünülmüştür (56).

3.11.8.1. Diyabetik Nefropatinin Klinik Özellikleri ve Evreleri

Nefropatinin en erken belirtisi idrarda albüminüri varlığıdır. 3 ve 6 aylık periyotlarda incelenen idrarın albümin miktarı >300 mg/24 saat olması ya da günlük >500 mg proteinüri bulunması diyabetik nefropati olarak tanımlanmaktadır (9,57). Yoğun egzersiz yapanlarda ve yoğun protein ile beslenenlerde, üriner sistem enfeksiyonları, hipertansiyon, diyabet ve kalp yetmezliği hastalarında ve ayrıca gebelik durumunda idrarda albümin atımında daha fazla artış meydana gelir. Albümin dışında protein miktarındaki artış klinik nefropatinin başladığını gösterir (50). Diyabetik nefropatinin gelişim süreci, Mogensen'in tanımlamasına göre, beş evreden oluşmaktadır (50). Bu evreler;

3.11.8.1.1. Glomerüler Hiperfiltrasyon ve Hipertrofi (Evre 1)

Diyabet tanısının konulması ile başlayan evredir. Bu evrede renal hipertrofi ve hiperfiltrasyon vardır. Yaklaşık olarak glomeruler filtrasyon %20-40 artmıştır. Böbreklerde %20 oranında büyüme ultrasonik muayene ile farkedilir. Morfolojik olarak glomerular bazal membranda az miktarda kalınlaşma görülmektedir (49,50).

3.11.8.1.2. Sessiz Dönem (Evre 2)

Bu dönemde klinik belirtinin olduğu ve yaklaşık 10-15 yıl sürdüğü bildirilmiştir. Glomerular bazal membran filtrasyon hızı bu dönemde yüksek olmasına rağmen, bu durum yavaş yavaş normale döner. İdrar da albümin miktarı ve kan basıncı normal seyreder. Kapiller filtrasyon azalması sonucu, glomerular bazal membranın kalınlaşması ve mezangiyumun sınırlı genişlemesi ile glomerular skleroz görülebilir. Bu evrede gliseminin kontrol altına alınması, glomerular filtrasyonu azaltmaktadır (49,50).

3.11.8.1.3. Mikroalbuminüri Gelişimi (Evre 3)

Böbreklerden albümin atılımı 30-300 mg/gün veya 20–200 g/dk arasında görülmektedir. Bu aşamada bazal membran kalınlaşır, mezenşimal hücrelerde artış ve filtrasyon yüzeyinde kalınlaşma gözlenir. Bu evre 1-20 yıl sürebilir. (49,50).

3.11.8.1.4. Azotemik Dönem (Evre 4)

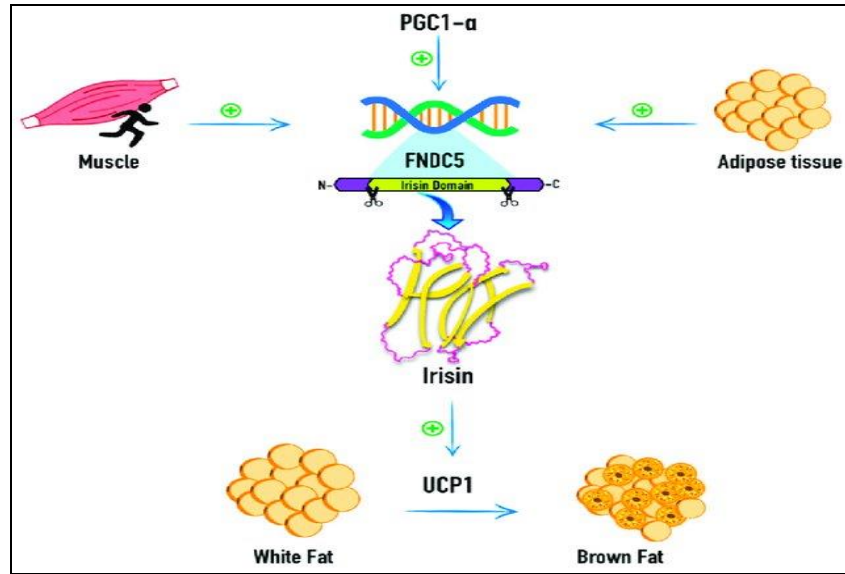
Kalıcı proteinüri ve devamında hipertansiyon ile karakterizedir. Tedavi edilmeyen hipertansiyon böbreklerde fonksiyon bozukluğuna neden olur. Bu dönemde >300mg/gün albuminüri ve kalıcı proteinüri görülür. Histolojik değişiklikler oldukça belirgin olup, glomerüllerde yaygın skleroz bulunmaktadır (49,50).

3.11.8.1.5. Belirgin Nefropati Dönemi (Evre 5)

Ödem ile sıvı retensiyonunun beraberinde getirdiği üremi sonucu birçok komplikasyon görülmektedir. Yoğun hipertansiyon, hipoalbuminemi, üre ve kreatini yüksek olan hastalarda böbrek yetmezliği olduğu kabul edilmektedir (49,50).

3.12. İrisin

İrisin, Böström ve ark. (2012) tarafından iskelet kasından keşfedilmiş olup, kelime anlamını, Tanrıdan insanlara güzel haber getiren gökkuşağı anlamında, Antik Yunan Tanrıçası olan İris'den alan bir miyokindir (58). Biyokimyasal olarak, 12,587 kDa ağırlığında ve 112 amino asitten meydana gelen ve peptit yapıya sahip bir hormondur (58).



Şekil 2: İrisinin salgılandığı ve etkilediği doku ve organlar (70).

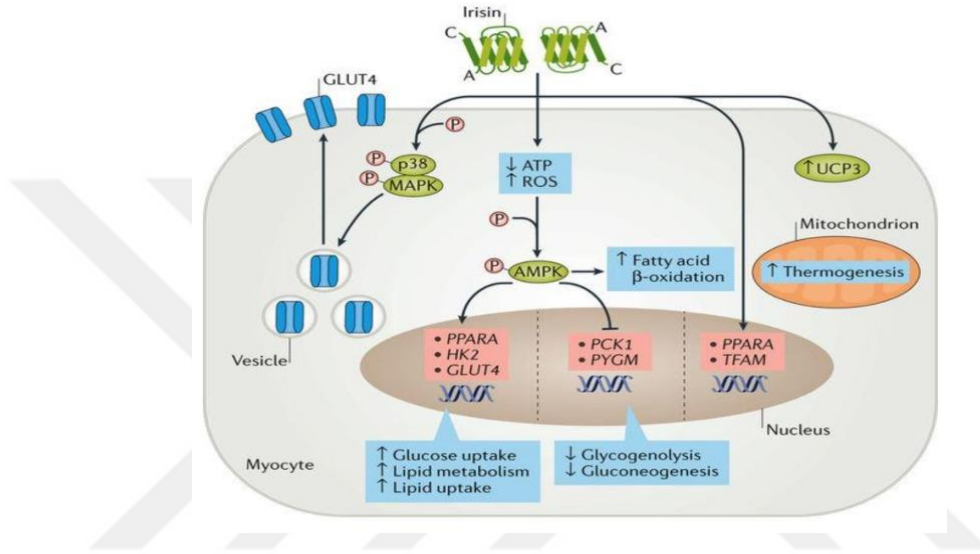
Bu miyokinin, kaslarda fibronektin tip III domain 5 (FNDC5) şeklinde adlandırılan membran proteini olduğu tespit edilmiştir. İnsan ve farelerde FNDC5 proteininin proteolitik ürününe irisin denilmiştir (58,59). İrisin başlangıçta Böström ve ark. (2012) tarafından ana kaynak olarak kas dokusunda sentezlendiği iddia etmiş olursa da vücutta salgılanan İrisinin %72'si kas kaynaklı olduğu geriye kalan %28 kısmı ise adipoz dokudan salgılandığı tespit edilmiştir (Şekil 2) (59-61).

İrisin hem kas ve hem de yağ dokusunda sentezlendiği için hem adiponektin hem miyokin olarak kabul edilir (59,61).

Glikoz, organizma için önemli enerji kaynağıdır. Glikoz molekülü hücre membranından kolayca diffüze olmamaktadır. Bu nedenle, hücreler glikozu içeri alabilmek için taşıyıcı proteinlere ihtiyaç duymaktadır. Glikoz transport proteinleri (GLUTs) bütün hücre türlerinde taşıyıcı proteinler olarak bulunmaktadır. GLUT4 özellikle kas, iskelet ve adipoz dokuda taşıyıcı proteinler olarak bulunur. İrisin salınımının artması ile yüksek GLUT4 ekspresyonu, miyositler tarafından glikoz alımını indükler (71).

İrisin beyaz yağ dokusu hücresinde 2 şekilde etki eder. İlk olarak hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlandığında hücre membranındaki adenilat siklaz enzimi aktive olur ve hücre içerisinde cAMP artışı olur. cAMP artışı protein kinazı aktive ederek Hormon Sensitive Lipazın (HSL) aktive edilmesini sağlar. Aktive olan HSL etkisi ile lipoliz ve enerji harcanması artar. İkinci olarak ise adipositlerde; İrisin beyaz yağ dokusu hücre yüzeyine bağlandığında bilinmeyen bir mekanizma ile beyaz yağ dokusu hücre çekirdeğini uyarır. Beyaz yağ

dokusunun hücre çekirdeğinin uyarılması ile Uncoupling Protein 1 (UCP1) mRNA ekspresyonu artar. UCP1 artışı ile beyaz yağ dokusu kahverengi yağ dokusuna dönüşür. Kahverengi yağ dokusuna dönüşmesi ile mitokondrinin iç kısmında artan H^+ iyonları ATP sentezini durdurur. Matrikse doğru proton kaçıışı ile ısı üretilir (Şekil 3) (58,71).



Şekil 3: İrisin hormonunun metabolizması (71)

İrisine adipöz yağ dokusundaki hücresel dağılımına ilaveten, böbrek, ovaryum, testis, rektum, kalp, intrakraniyal arterler, dil, optik sinir, mide, miyelin kılıfı, nöronal hücreler, tiroid, göz, deri, akciğer, ter bezleri ve testislerde rastlanılmıştır (62-66).

Yapılan son çalışmalara bakıldığında İrisinin, farelerde insülini yenileyici etkisi ve insülin reseptörünün duyarlılığını artırması yoluyla, hepatik glikoz ve lipid metabolizmasını ve pankreasın β hücrelerini apoptozdan koruyacak fonksiyonlarını düzenlediği görülmüştür. Beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna dönüştürerek insülin direncini ve Tip 2 diyabeti iyileştirici etkileri

gözlenmiştir (67). Bunun yanında β hücrelerini apoptozdan koruduğu, sayısını ve oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (68,69).

İrisin, in vivo ve in vitro deneyler sonucunda diyabetin neden olduğu arteroskleroz etkisine karşı iyileştirici olduğu ve endotel hasarına karşı koruyabileceği bulunmuştur (70).

İrisinin, yapılan başka bir çalışmada akut iskemik model ile oluşturulan akut böbrek hasarı ile ilişkisi ortaya konulmuştur (71).

3.13. Asprosin

Asprosin, Romere ve ark. (2016) tarafından beyaz yağ dokusundan açlık sonrası sentezlenen glukojenik bir adipokindir. İlk olarak beyaz yağ dokusunda tespit edildiği için, Yunanca beyaz anlamına gelen “aspros” kelimesinden türetilerek isimlendirilmiştir (72).

Yeni doğan Progeria Sendromu (NPS) tanısı konulan bireylerde yapılan çalışmalarda bu bireylerin profibrillinin (FBN1) C-terminal ucunun bölünmesi sonucu meydana gelen polipeptid yapıda bir hormondur. FBNC geninde meydana gelen mutasyondan dolayı bu hastaların serum Asprosin seviyesinde azalma meydana geldiği ortaya konulmuştur. Asprosinin kana verilmediği durumda glikoz ve insülin miktarında azalma görülmüştür. Dolaşıma salınan asprosin seviyelerinin açlık durumunda (bazal glikoz durumu) arttığı, beslenmeden (yüksek glikoz durumu) sonra ise düşüş görüldüğü gözlenmiştir (72,79).

Asprosin, hipotalamusun arcuat nükleusunda bulunup iştah merkezi olarak görev yapar. Hipotalamusta pro-opiomelanocortin (POMC) ve oreksijenik (iştah açıcı) agouti ile ilişkili peptit (AgRP) iştah düzenler. Asprosin AgRP aktivasyonunu sağlayarak, aynı zamanda POMC peptidini inhibe ederek gıda alımını uyarır ve enerji metabolizmasını düzenler. Asprosinde yoksun genlere sahip bireylerde iştahsızlık ve aşırı zayıflık gözlenmiştir (Şekil 4) (73,74).

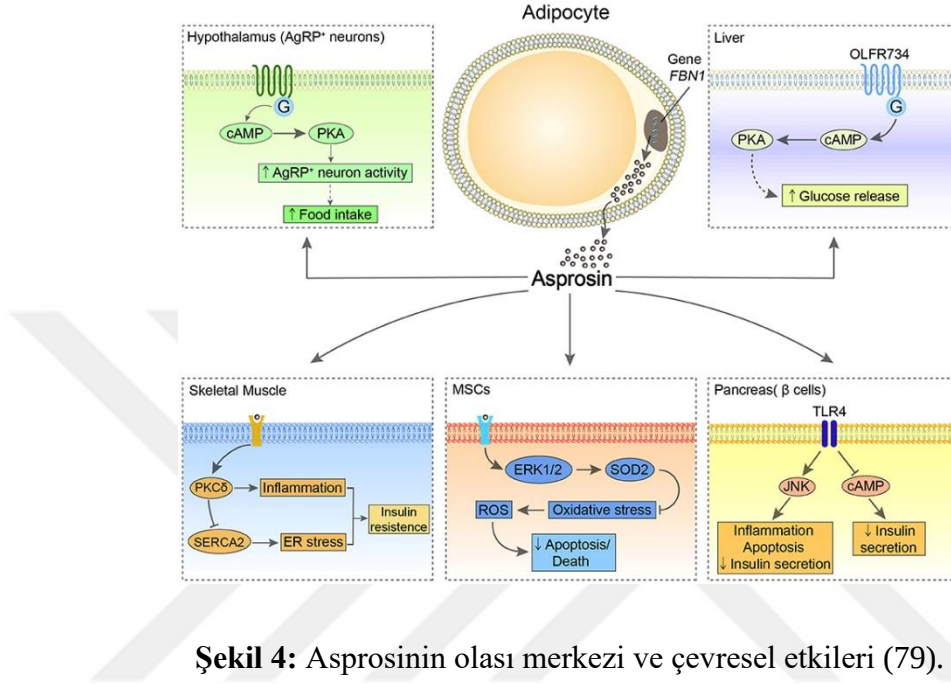
Karaciğer hücrelerinden hızlıca glikoz salınımı, G proteini-cAMP-PKA yoluyla kullanılarak yapılır (Şekil 4.) Bu yolla dokuya bol miktarda glikoz salınması gerçekleşir (74). Kan yoluyla salınarak periferik dokularda etkili olmasının yanında, kan beyin bariyerini geçerek merkezi sinir sistemini de etkiler (72,74,75).

Asprosin, pankreasın β -hücrelerinde TLR4/JNK yollarını kullanarak apoptozis ve yangıya neden olur. Ayrıca cAMP seviyesini azaltarak insülin sekresyonunu düşürür. (Şekil 4) (80).

Miyokardial mezenşiyal hücrelerde (MSCs) Asprosin, ERK1/2-SOD2 aktivasyonunu sağlayarak, bu hücrelerin oksidatif stres kaynaklı apoptozis ve hücre ölümünü engeller. Fare iskelet kasında ifade edilen Asprosin henüz tam keşfedilmeyen reseptörlere bağlanarak, protein kinaz C delta / sarcoendoplasmic reticulum Ca^{2+} (PKC δ / SERCA2) yolunu kullanarak, endoplazmik retikulum stresi ile yangı meydana getirir. Meydana gelen yangı ise insülin duyarlılığını bozar (Şekil 4) (77).

Asprosin aynı zamanda olfaktör reseptör 734 (OLFR734)' ün hepatik glikoz üretimi için reseptöre sahiptir. *Olf734* geni bulunmayan farelerde, glikoz

üretimi ve insülin duyarlılığının azaldığı ve Asprosin miktarında azalma meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4) (76).



Şekil 4: Asprosinin olası merkezi ve çevresel etkileri (79).

FBN1 geninden üretilen Asprosin, farelerde en çok beyaz yağ dokusunda ve akciğerde gözlenmiştir. İnsanlarda ise beyaz yağ dokusu, karaciğer, testis, beyin dokularında varlığı ortaya konulmuştur (72,78)

İnsan ve kemirgenlerde yapılan çalışmalar incelendiğinde açlık durumunda Asprosin seviyesinin yükseldiği bulunmuştur. Bunun yanında Asprosin enjekte edilen rekombinant farelerde enjeksiyondan 30 dakika sonra plazma glikoz ve insülin seviyesinde artış görülmüştür (72).

Uğur ve ark. (2019) obezite ile ilgili yaptığı çalışmalarda vücut beden kütle indeksi arttıkça, Asprosin seviyesinin de arttığını gözlemlemiştir. Elde

edilen bu veriler obezitede Asprosinin adipoz doku varlığını tespit etmekte bir gösterge olacağını düşündürmüştür (81).

Diyabetik dokulardaki Asprosin immnoreaktivitesine; böbrek kortikal distal tubul hücreleri, mide fundus yüzey epitel hücreleri, kalp kardiyomiyositleri, testiste Leydig hücreleri, karaciğer hepatositleri ve beyin kortikal nöronlarında rastlanılmıştır (78).

3.14. Yalancı İğde (*Hippophae Rhamnoides* L. Sea Buckthorn, SBT)

Elaeagnaceae familyasına ait, farklı iklimlerde yetişen, meyveleri (Şekil 5) sarıdan turuncuya doğru renge sahip bir çalıdır (83). Orta Asya, Hindistan, Çin, Tibet, Moğolistan, Kafkasya, Türkiye, Rusya ve Kuzeybatı Avrupa ülkelerinde yerleşim göstermektedir (84).

Olgun meyveleri oval şekilde olup ve çoğunlukla sarı, turuncu veya kırmızı renktedir. Yüksek besin içeriği, vitamin ve flavonoidlerden dolayı Sea Buckthorn (SBT), gıda maddesi olarak da yaygın olarak tüketilmektedir. Birçok Avrupa ülkesinde SBT, meyve suyu, şekerleme, jöle, reçel, alkollü veya alkolsüz içecekler veya süt ürünlerinin aroması gibi farklı şekillerde piyasada bulunabilmektedir (85) Tohumlarından elde edilen bileşikler ise, kozmetik preparatlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (85).

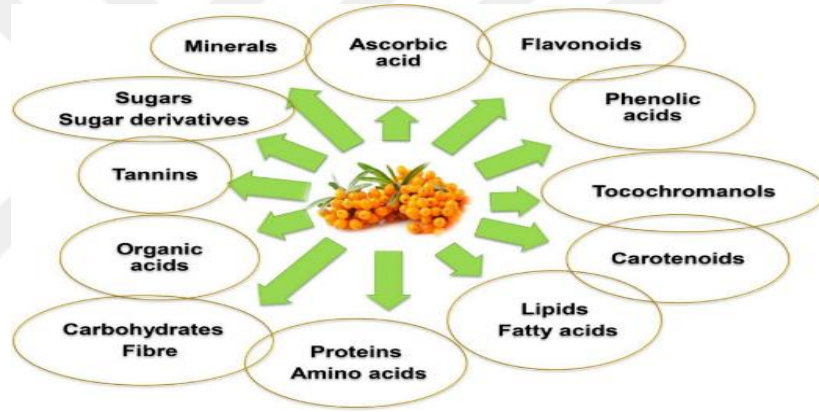


Şekil 5: Yalancı İğde (*Hippophae Rhamnoides* L. Sea Buckthorn, SBT

Ülkemizde 0-2000 metreye kadar her yükseltide yetişmekte olup bölgesel olarak; çıçırgan, cıcılık, çişkan, yalancı iğde, çay çalısı, Sincan çalısı isimleriyle bilinmektedir (86).

Hippophae terimi Yunancadan türetilmiş olup “hippo” at, “phaos” parlamak anlamına gelmektedir. Eski Yunan uygarlıklarında hayvanları yelelerinin daha da parlaması için SBT ile beslendiği bilinmektedir. SBT, Tang Hanedanlığından bu yana geleneksel Çin tıbbında 1000 yıldan daha eski bir geçmişe sahiptir. (87,88). Latince ismindeki “Rhamnos” kelimesi “dikenli” anlamında olup bitkinin bol diken içerdiğini göstermektedir. Cengiz Han ve askerlerinin seferlere çıktıklarında yanlarında “çıçırgan, yalancı iğde” götürdükleri bazı kaynaklarda bildirilmiştir (86). SBT tıbbi kullanımı için referans materyaller, Tang Hanedanlığına (618-907) kadar uzanan "Four Books of Pharmacopoeia" da dahil olmak üzere eski Tibet tıbbi belgelerinde bulunmuştur. Bunun yanında Moğolistan'da “Kralın kalp kanı” ismiyle bilinmesi diğer dikkat çekici bir husustur (87).

Çoğunlukla doymamış yağ asitlerinden oluşan SBT yağında palmitoleik (omega-7), palmitik ve oleik asitler (omega-9) açısından zengin iken, tohum yağı yüksek oranda linoleik (omega-6), α -linolenik (omega-3) ve oleik asitler içerir (87,88). SBT yağları ayrıca tokoller ve fitosteroller içerir. Bunun yanında β -karoten, likopen, lutein, zeaksantin, flavonoidler (isorhamnetin, quercetin, isorhamnetin-3) gibi değerli bileşiklerin zengin bir kaynağı olan organik asitler, amino asitler, mikro ve makro-besleyiciler ve antioksidanlar içerir. Karotenoidler meyvenin turuncu rengini verir (Şekil 6). SBT meyvelerinin en karakteristik özelliği, yüksek C vitamini içeriğidir (90,91).



Şekil 6: SBT içerisinde bulunan flavanoidler, vitaminler (92).

Bu bitki, astım, cilt hastalıkları, mide ülserleri ve akciğer hastalıklarının tedavisi için geleneksel tıp sisteminde yaygın olarak kullanılmaktadır (87).

Anti ülserojenik, antioksidan, immünomodülatör (93,94,95), kalp koruyucu, antiaterojenik (96,97,98), akut ve kronik yaralar ile karaciğer fibrozisinde (99,100,101) kullanıldığı görülmüştür. Ayrıca, antibakteriyel,

antiviral (102,103), antiradyasyon (104), antidiyabetik (88,105,106,107) gibi birçok etkisi bulunmaktadır.

Birçok araştırmacı SBT'nin diyabet üzerine etkisini incelemiştir. STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlara Zhang ve ark. (2010) (107), tarafından SBT tohumundan hazırladıkları sulu ekstratın uygulanması ile, SBT'nin serum glukozu, lipid değerleri ve antioksidan parametreleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Diyabetik sıçanlarda serum glikoz, trigliserit ve nitrik oksit seviyelerinin önemli ölçüde düştüğü gözlenmiştir. Ayrıca, serum süperoksit dismutaz aktivitesinde ve glutatyon seviyelerinde gözle görülür artışlar görülmüştür. Bu durum SBT takviyelerinin potansiyel hipoglisemik, hipotrigliseridemik ve antioksidan etkilerini göstermektedir.

Kim ve ark. (2011), (95) SBT yaprak ekstratlarının, antioksidan aktivitesini ve ayrıca bunların a-glukozidazı inhibe etme yeteneklerini incelemiştir. Yüksek miktarda radikal süpürücü aktivitesi ile güçlü antioksidan olabileceği görülmüştür.

SBT'nin olumlu etkilerine katkı sağlamak adına yaban mersini ve SBT kombinasyonları kardiyovasküler hastalıkları ve diyabet ile ilgili komplikasyonları önlemede etkili olabileceği tespit edilmiştir (106).

Sunulan çalışmamızın amacı;

- Deneysel olarak STZ ajanı ile diyabet oluşturulan erkek ratların, diyabet sonrası böbrek ve testis dokularının histopatolojik olarak değerlendirilmesi,

- Histopatolojik olarak değerlendirilecek böbrek ve testis dokularında; İrisin ve Asprosinin olası hücresel dağılımının immünohistokimyasal olarak incelenmesi,
- Antioksidan yönünden zengin olan Hippophae rhamnoides (sea buckthorn-yalancı iğde)'in, diyabetteki hasarlı dokular ile İrisin ve Asprosin zerine etkisinin araştırılmasıdır.



4. GEREÇ ve YÖNTEM

Proje kapsamında yapılmış olan tüm uygulamalar Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (FÜHADYEK) 10/06/2020 tarihli ve 2020/8 sayılı toplantısında alınan Etik Kurul Kararı doğrultusunda yürütüldü. Hayvan deneyleri Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜDAM) tarafından temin edildi. Laboratuvar analizleri ise Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana bilim Dalı, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı ve Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalında gerçekleştirildi. Sunulan tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından V.F. 21.07 proje numarası ile desteklendi.

4.1. Deneyde Kullanılan Hayvanların Temini, Bakımı ve Beslenmesi

Yapılan deneysel çalışmada 39 adet 7 haftalık, 200-250 gr ağırlığında Sprague Dawley ırkı erkek ratlar kullanılarak yapıldı. Deney hayvanları FÜDAM tarafından temin edildi. Çalışmamızda kullanılan ratlar FÜDAM hayvan laboratuvarında gerçekleşti. Oda ısısı 22-25 °C, 12 saat aydınlık (7:00–19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00–7:00) tutulacak şekilde, standart kafeslerde add libitum besleme ile beslenildi (Şekil 7). Normal çeşme suyu ile cam biberonlarda su, yemler çelik kaplarda olacak şekilde bakımı sağlandı. Çalışmada yer alan, Kontrol, Sitrat, SBT, Diyabet ve Diyabet + SBT gruplarına aynı ticari rat yemi verildi. Ratların günlük olarak altları temizlendi. Poliüriden kaynaklı ıslak kafes yatakları sık sık değiştirildi.

4.2. Deney Grupları ve Araştırmanın Yürütülmesi

FÜDAM tarafından temin edilen, ağırlıkları 220-250 gr arasında değişen 7 haftalık 39 adet Spraque Dawley erkek ratlar; Kontrol, Sitrat ve SBT grubunda 7 ve Diyabet ve Diyabet+ SBT grubunda 9 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Grupların dağılımı ve yapılan deneysel uygulamalar Tablo'3 de gösterildi. Deney başlangıcında ve deney sonunda ratların kan glikoz düzeyleri ve vücut ağırlıkları ölçülüp kaydedildi.



Şekil 7: Deney gruplarının ayrı kafeslere alınması ve muhafazası

Tablo 3: Grupların dağılımı ve yapılan deneysel uygulamalar

GRUP ADI	DENEK SAYISI	DENEYİN UYGULANIŞI
Kontrol grup	7	Deney süresi olan 8 hafta boyunca herhangi bir işleme tabi tutulmadı.
Sitrat tampon grubu	7	Tek doz 0.1 M sodyum sitrat tamponu intraperitoneal (i.p.) uygulandı.
Diyabetik grup	9	Her bir sıçana 0.1 M sodyum sitrat tamponda (pH:4.5) çözdürülmüş STZ 50 mg/kg tek doz i.p olarak uygulandı. Enjeksiyon uygulamasından 72 saat sonra kuyruk veniden alınan kandan, kan glikoz düzeyi ölçüldü. Kan- glikoz değeri 250 mg/dl üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi. STZ uygulamasında 12 saat boyunca ani hipoglisemik şoku önlemek adına %5 dektroz verildi.
SBT GRUP	7	Çalışmada kullanılan SBT yağının uygulama dozu 70mg/kg/48saat olarak belirlenip ve gruplar 8 hafta boyunca gūnaşırı olacak şekilde oral gavaj yolla uygulandı.
Diyabet+ SBT	9	Her bir sıçana 0.1 M sodyum sitrat tamponda (pH:4.5) çözdürülmüş STZ 50 mg/kg, tek doz i.p. olarak uygulandı. Enjeksiyon uygulamasından 72 saat sonra kuyruk veniden alınan kandan, kan glikoz düzeyi ölçüldü. Kan- glikoz değeri 250 mg/dl üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi. STZ uygulamasında 12 saat boyunca ani hipoglisemik şoku önlemek adına %5 dektroz verildi. Diyabet olduğu kabul edilen ratlara SBT yağının uygulama dozu 70 mg/kg/48saat olarak belirlenip ve gruplara 8 hafta boyunca gūnaşırı olacak şekilde oral yolla uygulandı

4.3. Diyabet İndüksiyonu

Çalışmamızda kullanılan ratlarda, diyabet modeli oluşturmak için STZ protokolü uygulandı. Diyabet grubunda diyabet oluşturmak için ratlar 12 saat öncesinden aç bırakıldı. Ertesi gün tüm ratların vücut ağırlıkları ölçüldü. Kuyruk veninden alınan kan örnekleri ile kan-glikoz değerleri (Rina Check AP 10) ölçüldü.

STZ 'nin çözünmesini kolaylaştırmak amacıyla sitrat tamponu (Tablo 4) kullanıldı. 0.1 M sodyum sitrat tamponu (pH 4.5) içerisinde 50 mg/kg doz STZ i.p. yolla tek doz olacak şekilde verildi. STZ uygulamasından sonra deneklere 12 saat boyunca şekerli su (%5 dektroz) verilerek yüksek hipoglisemi önlendi (51). Uygulamadan sonra deneklere pelet yem ve su vermeye başlandı. STZ uygulamasından 72 saat sonra (12 saatlik açlığı takiben) ratların kuyruk venlerinden alınan kandan glukometre cihazı ile kan-glikoz değerleri ölçüldü. Kan-glikoz değeri 250 mg/dl'yi geçen ratlar diyabetik olarak kabul edildi. Aynı protokol Diyabet + SBT grubu ratlara da uygulandı. Poliüriden kaynaklanan su kaybına karşı ratlar deney süresince sık sık kontrol edildi.

Tablo 4: 0.1 M Sodyum sitrat tamponu hazırlanması

Kimyasal	Miktar
Sitrik asit	10,384 gr
Sodium sitrate dihydrate	13.514 gr
Distile Su	1000 ml
1 N NaOH ile pH: 4,5 olacak şekilde ayarlandı.	

4.4. SBT Yağının İçeriği ve Uygulanması

Antioksidan madde olarak ‘Sea Buckthorn Oil Capsules Pharma Nord’ (Erfurt, Germany) marka yağı kullanılarak uygulandı. Bu yağın içeriği Tablo 5’de verildi.

Diyabet + SBT ve SBT grubunda bulunan ratlara, gün aşırı olacak şekilde canlı ağırlıkları dikkate alınarak 70 mg/kg dozunda SBT yağı oral gavaj yöntemiyle (Şekil 8) 8 hafta süreyle verildi (108).



Şekil 8: Deney hayvanlarına SBT’ nin gavaj yolu ile uygulanması

Tablo 5: SBT Besin İçeriği

SBT Besin İçeriği	Her 2 kapsülde (1000 mg)
Doymuş yağ asitleri	210 mg
Tek doymamış yağ asidi	480 mg
Her biri;	
Omega 7 (palmiloic asit)	240 mg
Omega 9 (oleic asit)	180 mg
Omega 7 (cis vassenik asit)	60 mg
Çoklu doymamış yağ asidi	300 mg
Her biri;	
Omega 6 (linoleic asit)	170 mg
Omega 3 (alfa linoik asit)	130 mg
Vitamin E	4,0 mg
Vitamin A	400 ug

4.5. Araştırmanın Sonlanması

Sekiz hafta süren deneyin sonunda, tüm gruplarda bulunan 39 adet erkek ratlar tartılarak canlı ağırlıkları kaydedildi. Dekapitasyon işleminden sonra tüm ratların kan, testis ve böbrek numuneleri alındı. Alınan sağ ve sol böbrek ve testis dokularının ölçümleri yapıldı. Spermatojenik muayaneler için sperm örnekleri alındı. Sonrasında testis ve böbrek dokuları immunohistokimyasal ve histopatolojik incelemeler için %10 tamponlu formalin solüsyonunda immersiyon yöntemi ile 24 saat boyunca tespit edildi. Kan serumları ise biyokimyasal testler için –20 C de muhafaza edildi.

4.5.1. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

Deney başlangıcında ve sonunda ratların vücut ağırlıkları tartılarak kaydedildi.

4.5.2. Rölatif Testis Ağırlığı Ölçümü

Sakrifiye edildikten sonra sağ ve sol testis ağırlıkları kaydedildi. Elde edilen ağırlıklar aşağıdaki formülle hesaplandı (109)

$$\text{Rölatif Testis Ağırlığı} = \frac{\text{Sağ + Sol testis ağırlıkları toplamı}}{\text{Vücut ağırlığı}} \times 100$$

4.5.3. Rölatif Böbrek Ağırlığı Ölçümü

Sakrifiye edildikten sonra sağ ve sol böbrek ağırlıkları kaydedildi. Elde edilen ağırlıklar aşağıdaki formülle hesaplandı (110).

$$\text{Rölatif Böbrek Ağırlığı} = \frac{\text{Sağ + Sol böbrek ağırlıkları toplamı}}{\text{Vücut ağırlığı}} \times 100$$

4.5.4. Spermatolojik Muayeneler

4.5.4.1. Sperm Yoğunluğunun İncelenmesi

Çalışmada ratların testislerinden ayrılan sağ kauda epididimisi 1 ml %0,9'luk NaCl ile birlikte özel bir cam petri kutusuna alınarak küçük parçalara ayrıldı. Bu karışım inkubasyon için oda sıcaklığında 4 saat kadar bekletildi. Spermatozoon ihtiva eden süpernatant 1:200 oranında sulandırılmış eozin solüsyonu (Tablo 5) ile karıştırıldı. Elde edilen bu karışımdan yaklaşık 10 µl alınarak iki alanı da kaplayacak şekilde thoma lamı üzerine dağıtıldı ve 5 dakika bekletildi. Işık mikroskop altında 200'lük büyütme ile spermatozoonların yoğunluğu değerlendirildi (111).

4.5.4.2. Sperm Motilitesi Ölçümü

Sperm motilitesinin ölçümü için, mikroskoba ait ısıtma tablası 37 °C'ye ayarlandı. Bir lam üzerine Tris buffer solüsyonu (Tablo 6) alındıktan sonra sol kauda epididimisten 1 damla kadar sperma alınarak karıştırıldı. Daha sonra 3 farklı sahada 400'lük büyütmede motilite oranı % değer olarak hesaplandı (111).

Tablo 6: Tris buffer solüsyonu hazırlanması

Kimyasal	Miktar
Tris (hidroksimetil) aminometan	3.63 g
Glukoz	0.50 g
Sitrik Asit	1.99 g
Distile Su	100 ml

4.5.4.3. Anormal Spermatozoon Oran Tespiti

Motilitede kullanılan Tris buffer- spermatozoa karışımından yaklaşık 20 µl alınarak 37 °C olacak şekilde ısıtılmış lam üzerine damlatıldı. Elde edilen bu karışımın üzerine Eozin-Nigrozin boyasından (Tablo 7) 2 damla damlatıldı ve karışım homojen hale gelinceye kadar karıştırıldı. Bu karışımdan lam üzerine ince bir froti çekilerek kuruması için oda ısısına bırakıldı. Elde edilen bu frotiler 400'lük büyütme ile ışık mikroskopun objektif alanında yaklaşık 200 spermatozoa olacak şekilde % olarak değerlendirildi (111).

Tablo 7: Eozin-Nigrozin boyası yapımı

Kimyasal	Miktar
Eozin:	1,67 g
Nigrozin	10 g
Sodyum Sitrat	2,9 g
Distile su	100 ml

4.5.5. Histolojik İncelemeler İçin Doku Hazırlanması

Alınan testis ve böbrek dokuları %10'luk tamponlu nötral formol solüsyonunda (Tablo 8) 24 saat tespit edildi. Dokular rutin doku yürütme prosedürleri için %70, %80, %90, %96'lık ve %100'lük dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi tamamlandı. Parlatma işlemi için dokular Ksilol I ve Ksilol II solüsyonunda 3 saat bekletildikten sonra etüv de sıvı parafine alındı. Ardından da dokular parafin blokları haline getirildi. Elde edilen parafin bloklardan, histolojik ve morfometrik analizler için, mikrotomda (Thermo

Scientific, HM325) 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Dokuların morfolojik özelliklerini belirlemek ve histopatolojik değişiklikleri göstermek için hematoksilen+eozin (H+E), periodik asit Schiff (PAS) ve Crossman'ın triplesi ile boyandı (112,113,114). Entellan ile kapatılan preparatlar ışık mikroskopunda incelendi ve fotoğraflandı.

Histolojik terimlerin yazımında Nomina Histologicadan yararlanıldı (115).

Tablo 8: %10'luk tamponlu formalin solüsyonunun hazırlanması (116).

Kimyasal	Miktar
Çeşme Suyu	900 ml
Formaldehid (%37):	100 ml
Sodyum fosfat, monobazik, monohidrat	4g
Sodyum fosfat, dibazik, anhidroz:	6.5 g
pH: 7.2-7,4 arasında olmalıdır.	

4.5.5.1. Testis Dokusunun Değerlendirilmesi

Sağ ve sol testis dokularından hazırlanan preparatların histolojik yapısının tespiti ve histopatolojik değişiklikler için Hematoksilen–Eozin (H&E) boyama ile; interstisyel ödem, konjesyon, subkapsuler hemoraji, epitelyal disorganizasyon, yangısal hücreler ve atretik tubul yönünden 40X objektifte değerlendirildi ve hasar yok-, hasar az +, hasar orta ++, hasar çok +++ şeklinde skorlama yapıldı (117)

Bazal membran kalınlaşmasını saptamak için PAS (periyodik asit–Schiff) boyama, peritubuler ve interstisyel fibrozisi belirlemek için de Crossman boyama yöntemleri uygulandı. Elde edilen resimler için İmaje J programı kullanıldı.

4.5.5.2. Johnsen Skoru

Hazırlanan preparatlar, mikroskop altında en az 20 tubulus 40'lık objektifte, germ hücre matürasyon derecesi bakımından Johnsen skorlamasına tabi tutuldu. Johnsen skorlamasına göre seminifer tubuller Tablo 9'da belirlenen kriterlere göre 1 ile 10 arasında skorlandı. Her tubulustan elde edilen sayısal değer toplanıp toplam tubulus sayısına bölünerek Johnsen Skoru elde edildi (118).

Tablo 9: Johnsen Skoru

Testis hasarı	SKORLAMA
Tubulus içinde hiç hücre yok (oblitere tubulus)	1
Germ hücresi yok sadece sertoli hücreleri var	2
Germ hücresi olarak sadece spermatogonia var	3
Spermatozoa, spermatid yok, 5'den az sayıda spermatosit var	4
Spermatozoa, spermatid yok, 5'den fazla sayıda spermatosit var	5
Spermatozoa yok. 5±10'den Az sayıda spermatid var	6
Çok sayıda spermatid, spermatosit ve spermatogonia var, spermatozoa yok	7
Germinal epitel kalın ancak spermatozoa sayıca 5±10'dan az	8
Spermatogenez tam ancak epitelde disorganizasyon ve lumene dökülme var	9
Komplet spermatogenez, germinal epitel kalın ve çok sayıda spermatozoa var	10

4.5.5.3. Morfometrik Ölçümler

4.5.5.3.1. Seminifer Tubul Çapı ve Germinatif Epitel Kalınlığı Ölçümü

Olympus BX-53 marka mikroskopta fotoğraflanan alanlardaki tubul çapları ve germinatif epitel kalınlığı Olympus Cell Sens Standard programı (Version 1.1.17) ile hesaplandı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi (119, 120).

4.5.5.4. Böbrek Dokusunun Değerlendirilmesi

Tubulusun hasar derecesini ortaya koymak için H&E boyama ile değerlendirilen sağ ve sol böbrek dokuları; tubuller arasında interstisyel fibrozis, tubuler dilatasyon, tubuler atrofi, tubulus epitel hücrelerinde dökülme ve vakuolizasyon yönünden 30 farklı alanda skorlama yapıldı (Tablo 10) (121).

Böbrek dokusunda glomerul bazal membran kalınlaşmasını ortaya koymak için PAS boyama yapıldı, sonuçlar değerlendirilerek resimler için İmaje J programı kullanıldı.

İnterstisyel fibrozisi tespit etmek için Crossman Triple ile boyanmış preparatlarda minimum 30 alan Tablo 11'deki kriterlere değerlendirildi. Değerlendirmeler göre yarı kantitatif şekilde yapıldı (122,123).

Tablo 10: Tubuler hasar skorlama tablosu

Skor	Histolojik Değişimler
Skor 0:	Hasar yok
Skor 1	%10'undan azı hasarlı
Skor 2	%25'i hasarlı
Skor 3	%26-50 'si hasarlı
Skor 4	%75'inden fazlasında hasar var

Tablo 11: İnterstisyel fibrözis varlığı skorlama tablosu

Skor	Histolojik Değişimler
Skor 0:	İnterstisyum ve tubuller arası bağ doku normal
Skor 1	Tubuller arasında hafif fibröz doku ve az miktarda interstisyelde kalınlaşma
Skor 2	Orta derecede interstisyel kalınlaşma ve orta derece tubullerde fibröz doku
Skor 3	Şiddetli interstisyel kalınlaşma ve tubullerde şiddetli fibröz yapı

4.5.6. İmmünohistokimyasal İncelemeler

Çalışmada uygulanan immünohistokimyasal analizler için immünperoksidaz yöntemi uygulandı (124).

Öncelikle elde edilen testis ve böbrek dokularının parafin bloklarından alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler, ksilol ile deparafinize edildi. Ardından azalan

dereceli alkol serilerinden geçirilerek rehidrasyon işlemine tabi tutuldu. Antijen retrieval için 0.01 M sitrat buffer (Tablo12) içerisinde (Ph:6) 30 dakika süre ile 90-95°C de kaynatıldı. Oda sıcaklığında 20 dakika dokular soğutulduktan sonra distile suda 5 dakika bekletildi. PAP pen yardımıyla dokuların etrafı çizildi. Phosphate Buffered Saline (PBS, Sigma-Aldrich, USA) solüsyonunda 5 dakika yıkandı.

Endojen peroksidaz aktivitesini engellemek H₂O₂ blok solüsyonu (Hydrogen Peroxide Block, Thermo Fisher Scientific, USA) ile 15 dakika 37 °C' etüvde bekletildi. Dokular inkubasyon süresinin ardından PBS solüsyonunda 3*5 dakika yıkandı.

Kesitler Ultra V Block solüsyonunda (Ultravision Detection System, Thermo Fisher Scientific, USA) 10 dk bekletildikten sonra primer antikor (Tablo 13) eklendi ve buzdolabında +4 C°'de 1 gece bekletildi. Primer antikor listesi ve sulandırma oranı Tablo 13'de verildi.

Ardından PBS solüsyonunda 3*5 dakika yıkandı. Daha sonra Sekonder antikor damlatıldıktan sonra (Biotynlated Goat Anti-Polyvalent, Ultravision Detection System, Thermo Fisher Scientific, USA) 30 dk nemli ortamda 37 °C etüvde bekletildi. Ardından PBS solüsyonunda 3*5 dakika yıkandı. Enzim konjugatı olan Streptavidin Peroxidase (Thermo Fisher Scientific, USA) ile 37 °C etüvde 30 dakika bekletildi. Kesitler, ardından tekrar 3*5 dakika olmak üzere PBS solüsyonu ile yıkandı. Kromojen substrat olarak Aminoethyl Carbazole (AEC) (AEC Substrate System, Ultravision Detection System, Lab Vision Corporation, USA) kullanıldı. Distile suda 5 dakika yıkandıktan sonra kesitler Mayer'in

Hematoksileni (M-H) ile 3 dakika boyandı. Ardından musluk suyunda yıkanıp sıvı bazlı yapıştırıcı ile (Large Volume Vision Mount, Thermo Fisher Scientific, USA) kapatıldı. Negatif kontrol için primer antikor yerine PBS damlatıldı.

Tablo 12: 0.01 M Sitrat Buffer solüsyonunun hazırlanması

Kimyasal	Miktar
*Sitrik asit	1,92 gr
*Distile Su	1000 gr
1 N NaOH ile pH: 6 olacak şekilde ayarlandı.	

Tablo 13: Primer antikor marka ve sulandırma oranı

İrisin	1/100 sulandırma, Rabbit Polyclonal, 201r-0335, Sun Red, Shingai-CHINA
Asprosin	1/200 sulandırma, Rabbit Polyclonal, 201r-5721, Sun Red, Shingai-CHINA

4.5.6.1. Kantitatif Skorlama

İrisin ve Asprosin primer antikorları ile immünohistokimyasal boyama sonrası ışık mikroskobu altında 40X objektif ile boyama dağılımının değerlendirmesi <%25 immunopozitiflik gösteren alanlara 0.1 değeri, %26-50 oranında immunopozitiflik gösteren alanlara 0.4 değeri, %51-75 immunopozitiflik gösteren alanlara 0.6 değeri ve %76-100 oranında yoğun immunopozitiflik gösteren alanlar için 0,9 olacak şekilde değer verildi.

Ayrıca boyanma yoğunluğuna göre negatif boyanma 0, çok az boyanma 1, az boyanma 2, orta derecede boyanma 3 ve güçlü boyanma 4 olacak şekilde değerlendirildi.

Histoskor; dağılım ve yoğunluğunun çarpılması ile elde edildi. (125, 126, 127).

4.6. Biyokimyasal İncelemeler

4.6.1. Kan-Glikoz Değerinin Ölçülmesi

Deney başlangıcında ve sonunda ratların kan-glikoz değeri ölçülerek kaydedildi.

4.6.2. Total Antioksidan (TAS) Total Oksidan (TOS) Seviyelerinin Ölçümü

Serum örneklerinden TAS düzeyi Rel Assay Total Oksidan Status Test Kiti (Gaziantep, Türkiye) kullanılarak, Erel'in metoduna uygun olarak (128) yapıldı. Sonuçlar mmol Trolox eşdeğeri/L şeklinde verildi.

Serum örneklerinden TOS düzeyi Rel Assay Total Oksidan Status Test Kiti (Gaziantep, Türkiye) kullanılarak, Erel'in (128) metoduna uygun olarak yapıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L şeklinde verildi.

4.6.3. Oksidatif Stres İndeksinin (OSİ) Hesaplaması

TOS ve TAS değerlerinin birimleri mmol cinsinde hesaplandı Elde edilen değerler aşağıdaki formülle hesaplandı (129, 130, 131).

$$\text{Oksidatif Stres İndeksi} = \frac{(\text{TOS mmol/L})}{(\text{TAS mmol/L})} \times 100$$

4.7. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirlendi ve istatistiksel analizler SPSS 22 programı kullanıldı. Gruplar arasındaki değerlendirme Kruskal Wallis, Posthoc Dunn testi kullanılarak yapıldı (132). $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

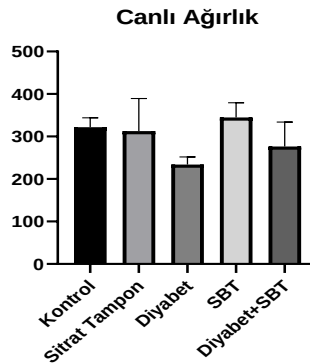
5. BULGULAR

5.1. Canlı Ağırlık Bulguları

Kontrol, Sitrat ve SBT grubuna ait ratların canlı ağırlık ölçümlerinin benzer olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Diyabetik ratların canlı ağırlıkları Kontrol grubuna göre büyük oranda azaldı. Kontrol ile Diyabet grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0.05$). Kontrol ile Diyabet + SBT grubu ratların ağırlıkları yakın değerler göstermekle beraber istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Diyabet ile SBT grubu ratların arasında canlı ağırlık kıyaslamasına göre SBT grubundaki ratların canlı ağırlığının arttığı izlendi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0.05$). Diyabet + SBT grubu ratların SBT grubu ratlara göre kıyaslanmasında ise SBT grubu ratlarda canlı ağırlığın arttığı gözlemlendi. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Deney sonrası canlı ağırlık değişimi Tablo 14’de verildi

Tablo 14: Gruplar Arası Canlı Ağırlık Değişimleri (Ort $\pm$ ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet + SBT
322 $\pm$ 22	313 $\pm$ 77	345 $\pm$ 35	234 $\pm$ 18	276 $\pm$ 58

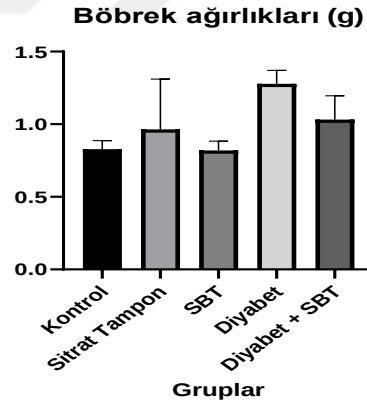


5.2. Rölatif Böbrek Ağırlığı Bulguları

Gruplarımıza ait ratlardan elde edilen böbreklerin ağırlık bulguları değerlendirildiğinde, Kontrol, Sitrat ve SBT grubuna ait böbrek ağırlıklarının benzer olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Diyabet grubu ratların böbrek ağırlıklarında Kontrol grubuna göre belirgin şekilde artış olduğu gözlendi. Diyabet + SBT grubu ratların böbrek ağırlıklarının ise Diyabet grubuna göre azaldığı görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Gruplar Arası Rölatif Böbrek Ağırlığı Tablo 15’de verildi.

Tablo 15: Gruplar Arası Rölatif Böbrek Ağırlığı (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet + SBT
0,83±0,059	0,96±0,35	0,82±0,063	1,3±0,093	1±0,16



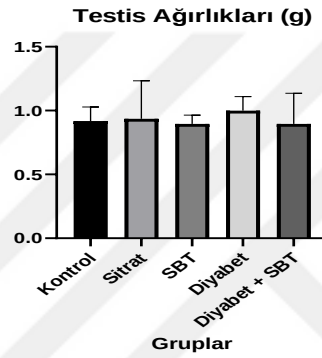
5.3. Rölatif Testis Ağırlığı Bulguları

Gruplarımıza ait ratlardan elde edilen testislerin ağırlıkları kıyaslandığında; Kontrol, Sitrat ve SBT grubu ratların testislerinin ağırlıkları Diyabet grubu hayvanlara göre azaldığı görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı

bir fark bulunmadı. Diyabet + SBT grubu ratların testis ağırlıkları Kontrol grubu ile benzer sonuçlar gösterdi. Gruplar arası rölatif testis ağırlıkları Tablo 16’da verildi.

Tablo 16: Gruplar Arası Rölatif Testis Ağırlıkları (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet + SBT
0,92±0,11	0,94±0,3	0,90±0,069	1±0,11	0,90±0,24



5.4. Spermatojenik Muayene Bulguları

Çalışmada gruplarımıza ait ratların sperm örneklerinden; sperm motilitesi, sperm yoğunluğu ve sperm anormalitesi bakımından gruplar değerlendirildi.

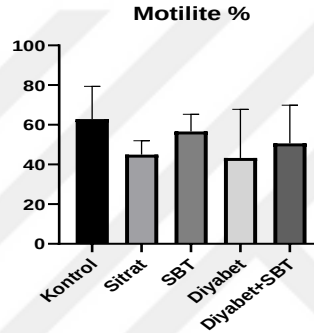
5.4.1. Sperm Motilitesinin Değerlendirmesi

Araştırmada, elde edilen sperm örneklerinde yüzde olarak motilite değerlendirildi. Kontrol, Sitrat ve SBT grubuna ait motilite değerinin benzer olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Kontrol grubuna göre, Diyabetik grupta motilite değerinde azalma görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Diyabet ve Diyabet + SBT grubu arasında

değerlendirme yapıldığında ise Diyabet + SBT grubunda motilitenin belirgin şekilde arttığı görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Sperm motilite miktarı değerlendirilmesi Tablo 17’de verildi.

Tablo 17: Sperm motilite miktarı değerlendirilmesi (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet + SBT
63±16	53±12	58±8,1	43±24	51±19

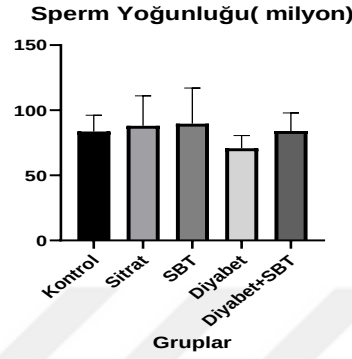


5.4.2. Sperm Yoğunluğunun Değerlendirmesi

Çalışmada elde edilen sperm örneklerinde yoğunluk değerlendirilmesi yapıldığında sperma yoğunluğunun Kontrol ve Sitrat grubundaki benzer olduğu görüldü. SBT grubunda ise yoğunluğun arttığı görüldü. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubuna göre Diyabet grubunda sperma yoğunluğunda azalma görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Diyabet ve Diyabet +SBT grubu arasında değerlendirme yapıldığında ise az da olsa Diyabet + SBT grubunda yoğunluğun arttığı görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Gruplar arası sperm yoğunluğu Tablo 18’de verildi.

Tablo 18: Gruplar Arası Sperm Yoğunluğu Değerlendirmesi (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet + SBT
84±12	88±23	90±27	71±9,7	84±14

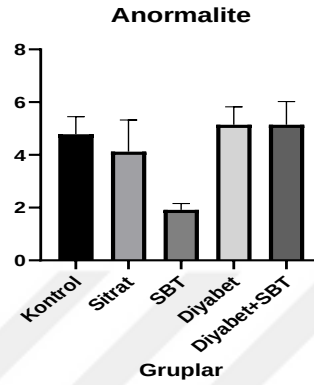


5.4.3. Sperm Anormalitesinin Değerlendirmesi

Çalışmada elde edilen sperm örneklerinde baş, boyun ve kuyruk bölgelerindeki anormalitesi değerlendirildiğinde Kontrol ve Sitrat grubu anormalite değerinin, benzer olduğu görüldü. SBT grubunda ise anormalitenin azaldığı görüldü. Kontrol grubu ile SBT grubu kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Diyabetik grup ile Kontrol grubu arasında kıyaslama yapıldığında diyabetik gruba ait spermalarda anormal baş, boyun ve kuyruk daha fazla olduğu görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. SBT grubu ile Diyabetik grup ile kıyaslandığında ise SBT grubuna ait spermaların anormalitesinin azaldığı görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. SBT ile Diyabet + SBT grubu kıyaslandığında ise SBT grubuna ait spermaların anormalitesinin azaldığı görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Gruplar arası sperm anormalitesi Tablo 19’da verildi.

Tablo 19: Gruplar Arası Sperm Anormalitesi (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat Tampon	SBT	Diyabet	Diyabet + SBT
4,8±1,8	4,1±2,4	1,9±0,58	5,1±1,8	5,1±2,3



5.5. Histopatolojik Bulgular

5.5.1. Testis Dokusunun İncelenmesi

5.5.1.1. Testis Dokusu Hematoksilen Eosin Boyama

Bulguları

Kontrol grubu

Kontrol grubuna ait sağ ve sol testis dokusunun hematoksilen-eosin boyamasında; spermatogenetik aktivitenin normal seyrettiği, sertoli hücrelerinin bazal membrana yerleştiği ve belirgin nükleolusları ile normal histolojik görünüme sahip olduğu görüldü. İntersitisyel alana yerleşmiş olan Leydig hücreleri (endocrinocytus interstitialis), poligonal şekillerini korumuş olup, eosinofilik boyanmış sitoplazmaları ve yuvarlağa yakın çekirdekleri ile normal histolojik görünümdeydi.

Tubullerin içerisinde bazal membrana en yakın koyu boyanan spermatogoniumlar normal görünümde olup düzenli dizilim gösterdi. Ardından yerleşmiş olan primer spermatositler (spermatocytus primarius), geniş sitoplazmaya ve belirgin çekirdeğe sahipti. Lumene yakın olan geç spermatidler koyu boyanmış çekirdekleri ve ardından uzun iğ şeklinde kuyrukları ile izlendi. Lumende bolca spermatozoalara rastlandı (Şekil 9). Herhangi bir histopatolojik değişikliklere rastlanmadı.

Sitrat Grubu

Sitrat grubuna ait testis dokularının H-E boyama sonucu kontrol grubu ile benzerlik gösterdi. Herhangi bir histopatolojik değişikliklere rastlanmadı (Şekil 10).

SBT Grubu

SBT grubu ratların testis dokusuna ait H-E boyamasında spermatogenetik seri hücrelerin varlığını koruduğu görüldü. Kontrol ve Sitrat grubu ile benzerlik gösterdi. Herhangi bir histopatolojik değişikliklere rastlanmadı (Şekil 11).

Diyabet Grubu

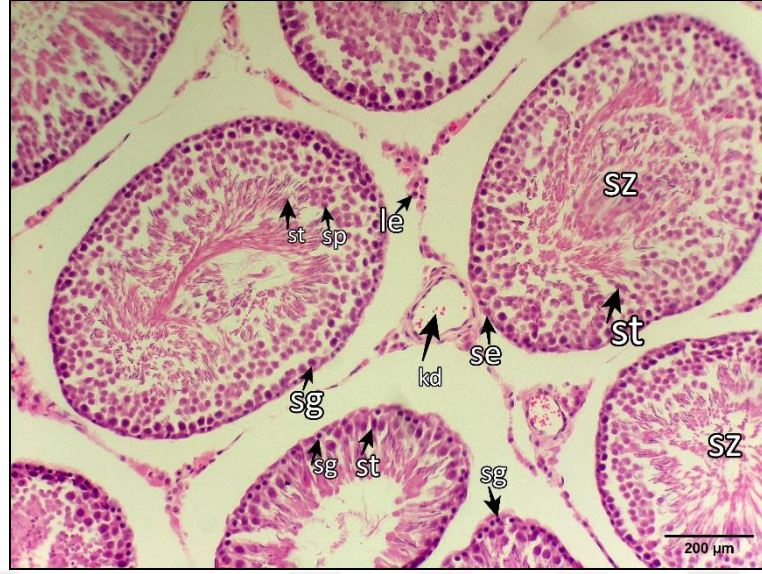
Diyabet grubuna ait testis dokuları kontrol grubu ile kıyaslandığında spermatogenetik aktivitede azalma meydana geldiği görüldü. Bazı seminifer tubullerde atrofiler gözlemlendi. İnterstisyel alanda ödematöz bölgelere rastlandı. Aynı zamanda interstisyel alanda bulunan kan damarlarında hiperemi gözlemlendi (Şekil 12,13).

Diyabet + SBT Grubu

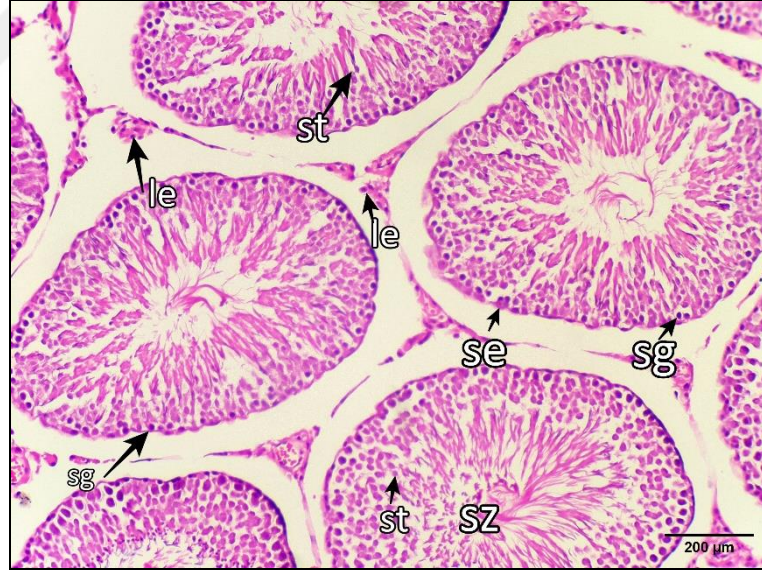
Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun H-E boyama sonucunda; Diyabet grubuna göre Diyabet + SBT grubunda düzelmeler dikkati çekti. Spermatogenetik aktivitenin diyabetik gruba göre artışı ve aynı zamanda spermatogenetik seri hücrelerinin varlığını koruduğu gözlemlendi. Seminifer tubullerde atrofik tubul sayısının azaldığı gözlemlendi. Aynı zamanda interstisyel alanda bulunan kapillar damarlarda dolgunluk ve hiperemiye rastlandı. Bazı bölgelerde subkapsüler alanda kanama alanlarına rastlandı (Şekil 14,15).



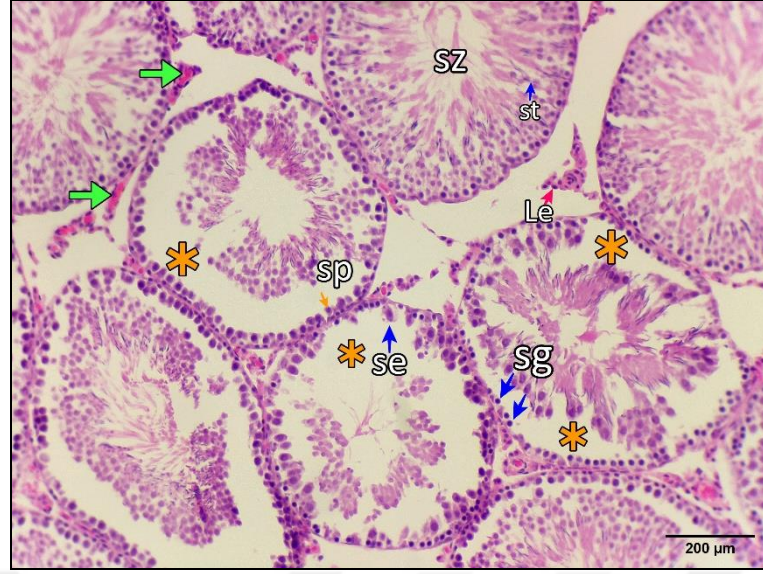
Şekil 9: Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü (Spermatogonium (sg), spermatosit (sp), spermatid (st), spermatozoa (sz), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se). (H-E, bar:200 µm).



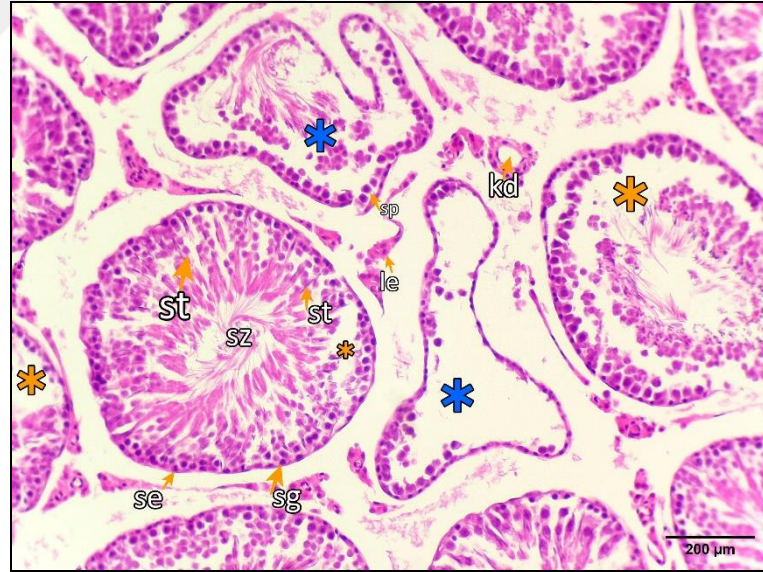
Şekil 10: Sitrat grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatogonium (sg), spermatosit (sp), spermatid (st), spermatozoa (sz), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se), kan damarı (kd). (H-E, bar:200 µm).



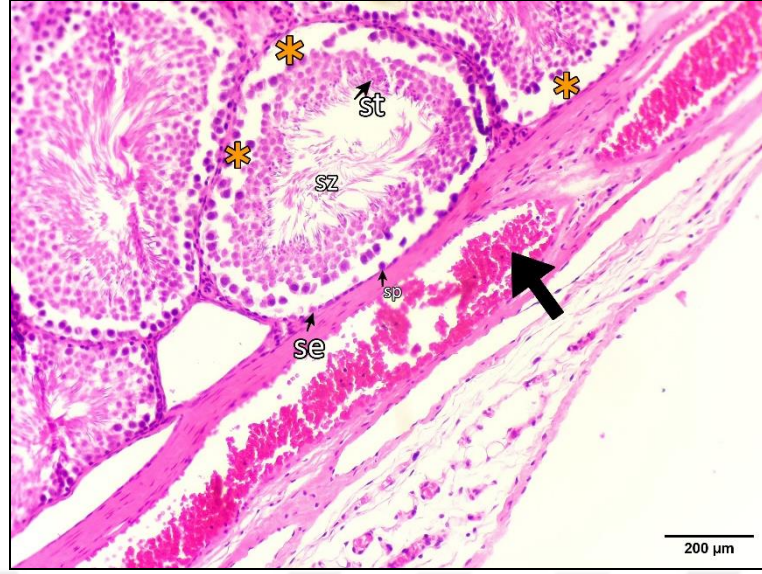
Şekil 11: SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatogonium (sg), spermatosit (sp), spermatid (st), spermatozoa (sz), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se). (H-E, bar:200 µm).



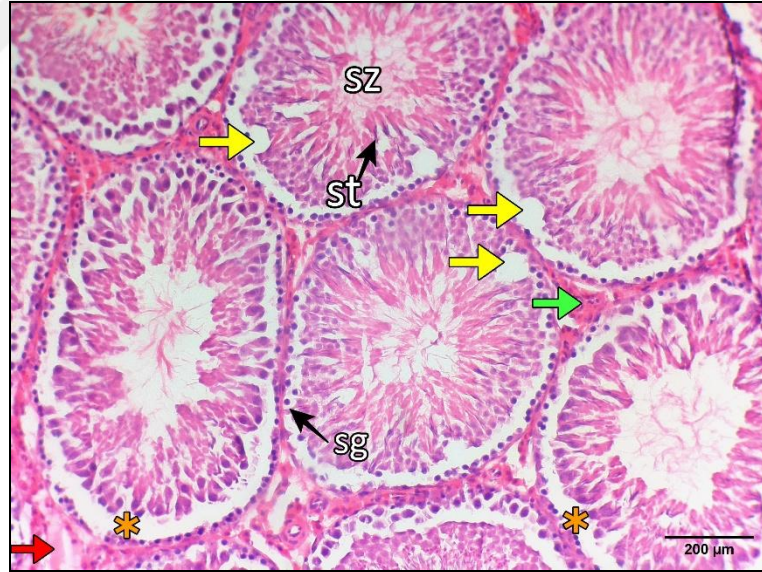
Şekil 12: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatogonium (sg), spermatozoa (sz), spermatid (st), spermatozoa (sz), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se). Bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (turuncu yıldız), interstisyel alandaki kapillar damarlarda hiperemi (yeşil ok). (H-E, bar:200 µm).



Şekil 13: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatogonium (sg), spermatozoa (sz), spermatid (st), spermatozoa (sz), kan damarı (kd), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se), bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (turuncu yıldız), dejenere tubuller (mavi yıldız). (H-E, bar:200 µm).



Şekil 14: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatozit (sp), spermatid (st), spermatozoa (sz), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se), bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (turuncu yıldız), subkapsüler hemoraji (siyah ok). (H-E, bar:200 µm).



Şekil 15: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatogonium (sg), spermatid (st), spermatozoa (sz), Bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (sarı yıldız), interstisyel ödem (kırmızı ok), tubullerde vakuolizasyon (sarı ok), interstisyel alanda hiperemi (yeşil ok). (H-E, bar:200 µm).

Gruplara ait testis dokusunun intersitsiyel ödem, konjesyon, subkapsüler hemoraji, epitel disorganizasyon, yangısal hücreler yönünden yapılan skorelama sonucundan elde edilen veriler Tablo 20’de gösterildi.

Tablo 20: Testis dokusu histopatolojik değişimlerin skorlanması

Histopatolojik değişimler		Diyabet	Diyabet+SBT	SBT	Sitrat	Kontrol
İntersitsiyel ödem	Ort± SS	1,2±0,83	1,1±0,93	0,57±0,53	0,86±0,69	0,71±0,76
Konjesyon	Ort± SS	1,2 ±0,67	0,44±0,53	0,86±0,38	0,29±0,49	0,86±0,69
Subkapsüler Hemoraji	Ort± SS	0,11±0,33	0±0	0±0	0±0	0±0
Epitel Disorganizasyon	Ort± SS	1,3±1	1,6±1	0,71±0,95	1,1±0,69	0,86±0,69
Spermatojenik Aktivite	Ort± SS	2,1±0,6	2,3±0,76	2,6±0,79	2,8±0,41	3±0

Ort: Ortalama değer, SS: standart sapma

5.5.1.2. Testis Dokusu Crossman Triple Boyama

Bulguları

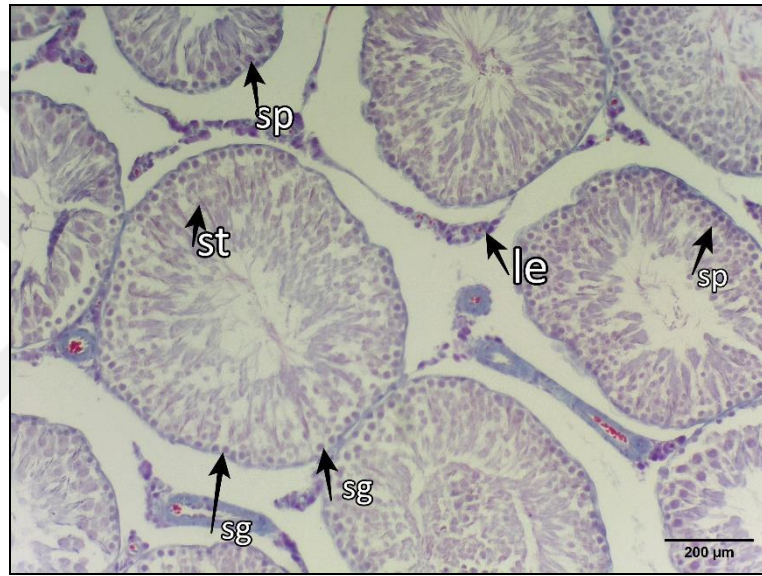
Kontrol grubuna ait testis dokusunda Crosman boyası değerlendirildiğinde interstisyel alanda bağ dokusu artışı görülmedi (Şekil 16).

Sitrat grubu kontrol grubu ile benzer yapıda olup, interstisyel bağ dokusunun normal olduğu gözlemlendi (Şekil17).

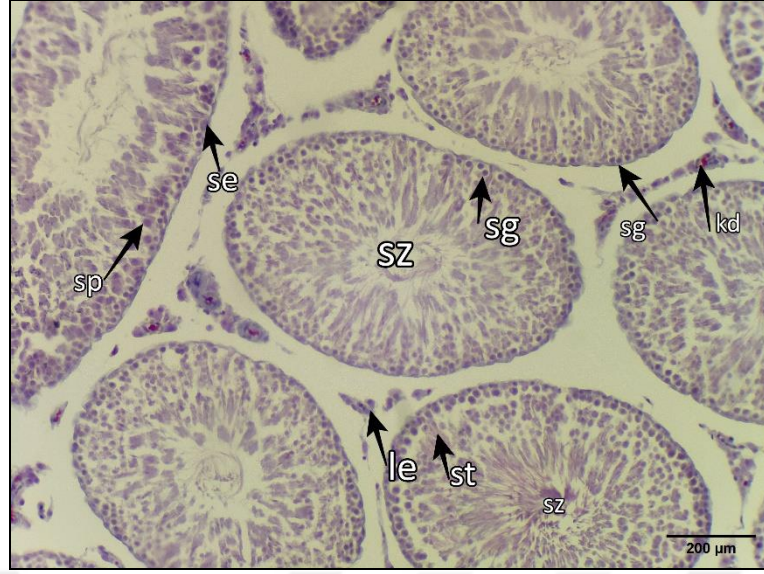
SBT grubu testis dokuları kontrol grubu ile benzer yapıda olup, interstisyel bağ dokusunun normal olduğu gözlemlendi (Şekil 18).

Diyabet grubuna ait testis dokusunun Crossman boyamasında bağ doku artışı ve interstisyel alanlarda ödematöz değişiklikler görüldü. Tubul epitelinde ayrılmalara rastlanıldı (Şekil 19,20).

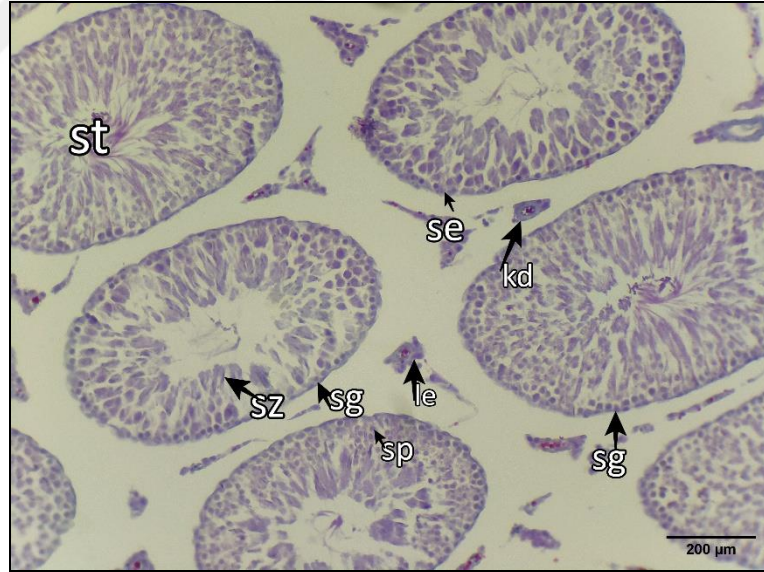
Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun Crossman boyaması incelemelerinde tubullerde bağ doku artışı gözlemlendi (Şekil 21,22).



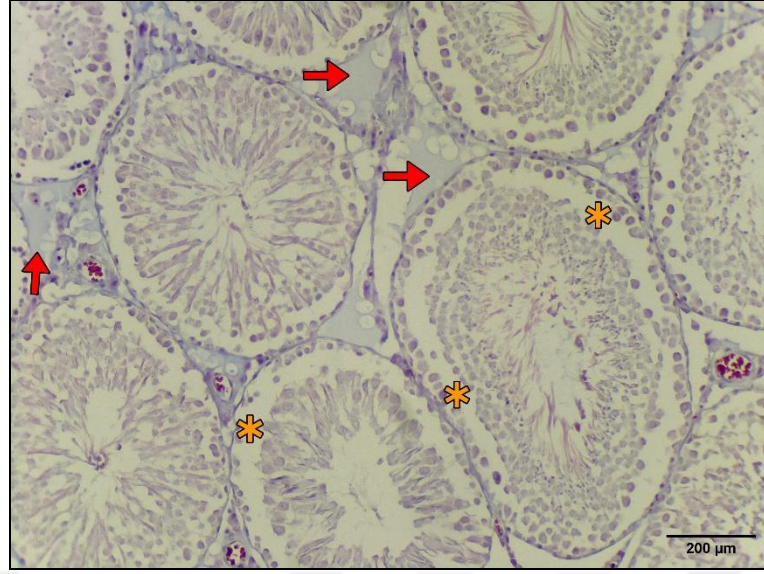
Şekil 16: Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatogonium (sg), spermatosit (sp), spermatid (st), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le). (Crossman, Bar:200 µm).



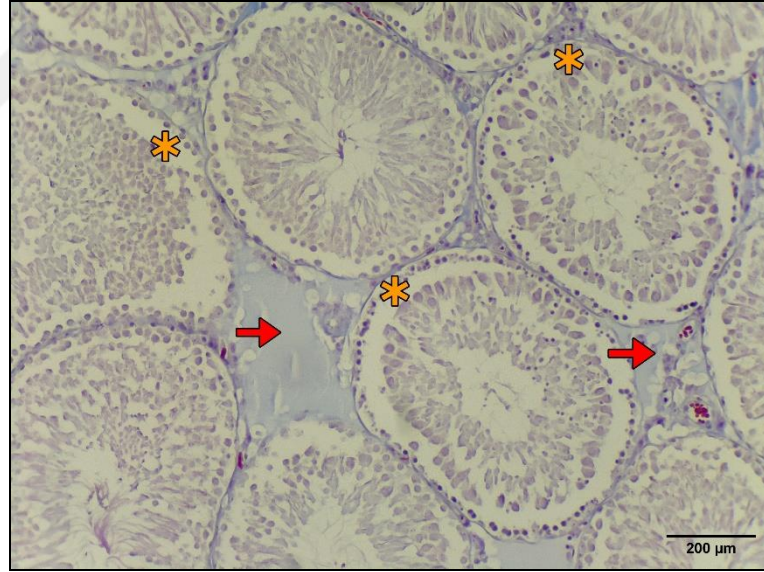
Şekil 17: Sitrat grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatogonium (sg), spermatosit (sp), spermatid (st), spermatozoa (sz endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se), kan damarı (kd). (Crossman, bar:200 µm).



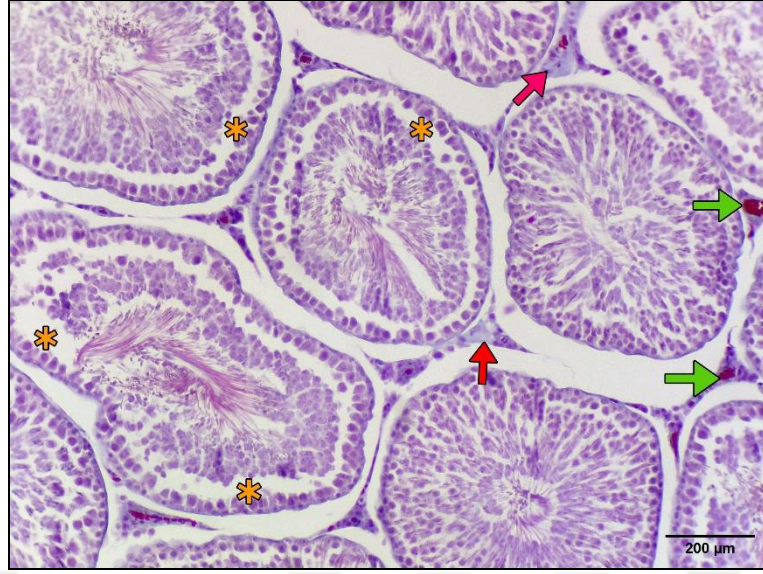
Şekil 18: SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatogonium (sg), spermatosit (sp), spermatid (st), spermatozoa (sz), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se), kan damarı (kd). (Crossman, bar:200 µm).



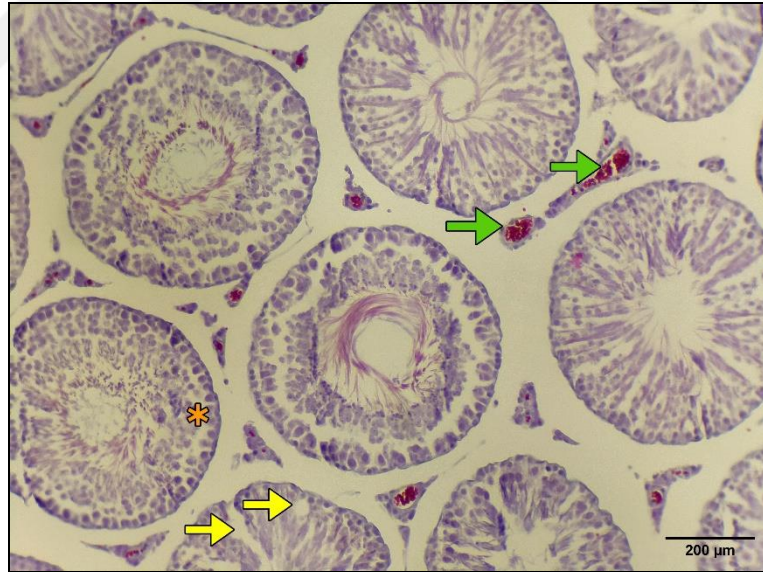
Şekil 19: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (turuncu yıldız), interstisyel ödem (kırmızı ok) (Crossman, bar:200 µm).



Şekil 20: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (turuncu yıldız), interstisyel ödem (kırmızı ok) (Crossman, bar:200 µm).



Şekil 21: Diyabet +SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (sarı yıldız), interstisyel ödem (kırmızı ok) kılcal damarlarda hiperemi (yeşil ok). (Crossman, bar:200 µm).



Şekil 22: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (turuncu yıldız), tubullerde vakuolizasyon (sarı ok), kılcal damarlarda hiperemi (yeşil ok). (Crossman, bar:200 µm).

5.5.1.3. Testis Dokusu Periyodik Asit Schiff (PAS) Boyama Bulguları

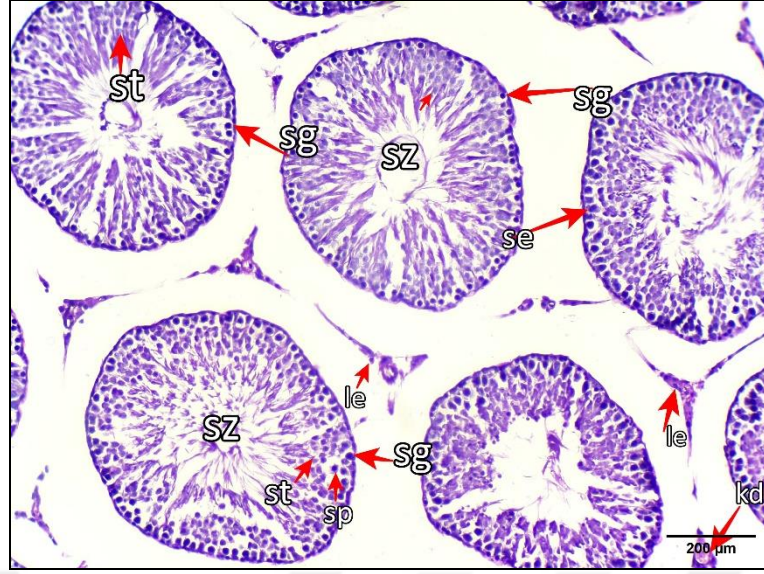
Kontrol grubuna ait PAS ile boyanmış testis kesitlerinde, seminifer tubullere (tubulus seminiferus contortus) ait bazal membran yapısı kuvvetli PAS (+) reaksiyon vermiş olup, bazal membranın düzenli ve devamlı olduğu görüldü (Şekil 23).

Sitrat grubuna ait testis dokularının PAS boyaması kontrol grubu ile benzer sonuçlar göstermiş olup, PAS (+) görüldü. (Şekil 24).

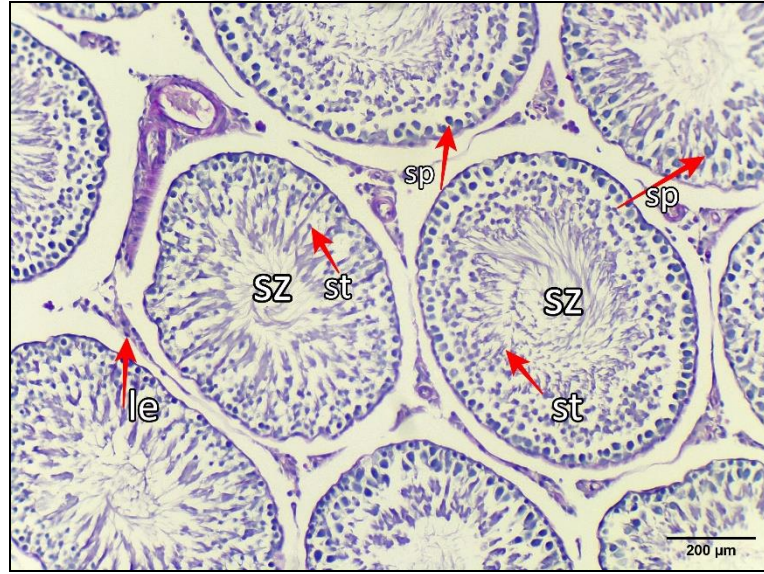
SBT grubu testis kontrol grubu ile benzer yapıda ve PAS (+) görüldü (Şekil 25).

Diyabet gruba ait PAS boyamalarda bazal membranda kalınlaşmalar, tubul epiteline dökülme ve bozulmalara rastlandı (Şekil 26,27).

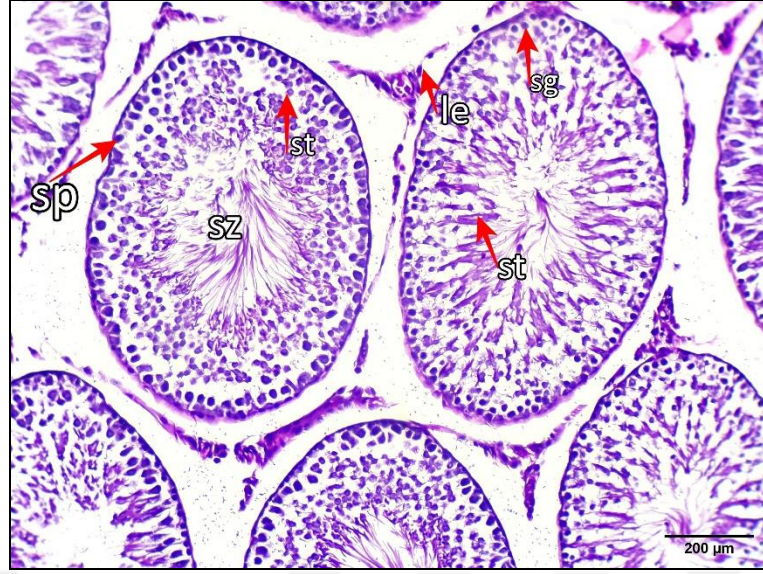
Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun PAS boyamasında yer yer tubul bazal membranında kalınlaşma görülse de yaygın bir görünüme sahip değildi (Şekil 28,29).



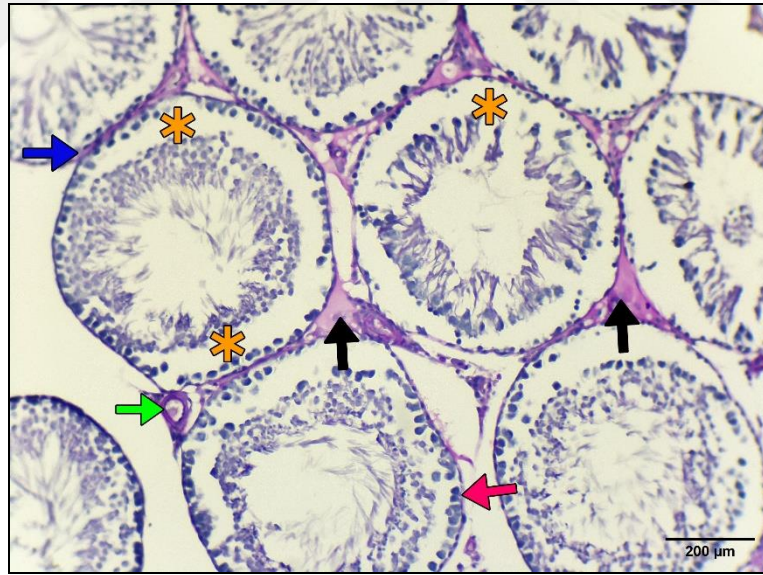
Şekil 23: Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatogonium (sg), spermatosit (sp), spermatid (st), spermatozoa (sz), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se). (PAS, bar: 200 µm).



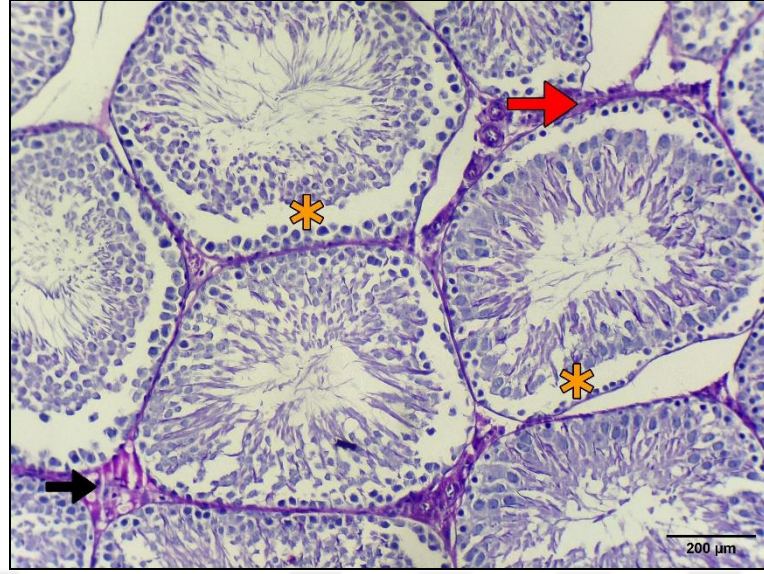
Şekil 24: Sitrat grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Spermatogonium (sg), spermatosit (sp), spermatid (st), spermatozoa (sz), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le). (PAS, bar:200 µm).



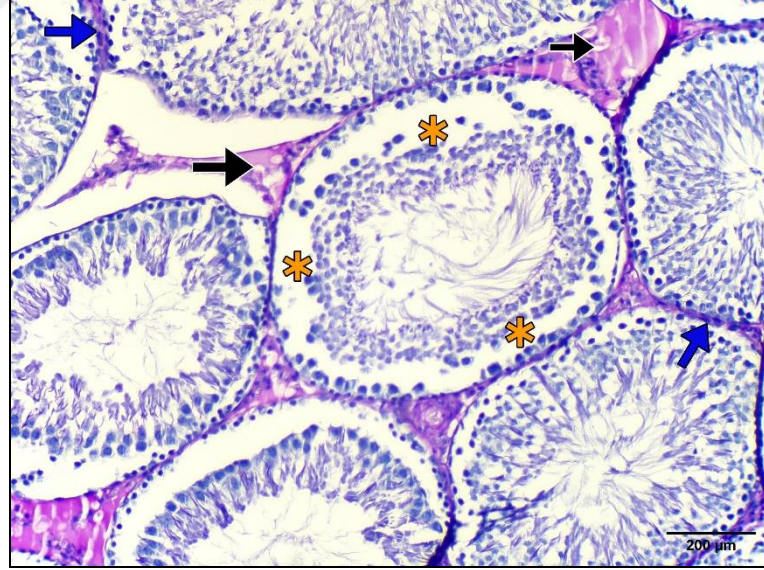
Şekil 25: SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. (Spermatogonium (sg), spermatozoa (sp), spermatid (st), spermatozoa (sz), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le). (PAS, bar:200 µm).



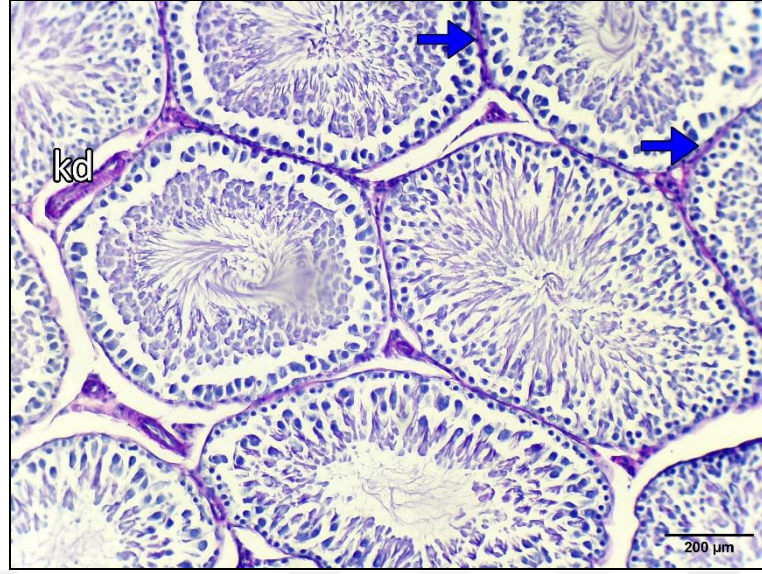
Şekil 26: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Kan damarı (yeşil ok), bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (turuncu yıldız), bazal membranda kalınlaşma (mavi ok) tubul epitelinde dökülme (pembe ok), interstisyel ödem (siyah ok). Kan damarı (yeşil ok) (PAS, bar:200 µm).



Şekil 27: Diyabet grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (turuncu yıldız), bazal membranda kalınlaşma (kırmızı ok), interstisyel ödem (siyah ok). (PAS, bar:200 µm)



Şekil 28: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Bazal membrandan ayrılan spermatojenik hücreler (turuncu yıldız), bazal membranda kalınlaşma (mavi ok), interstisyel ödem (siyah ok). (PAS, bar:200 µm).



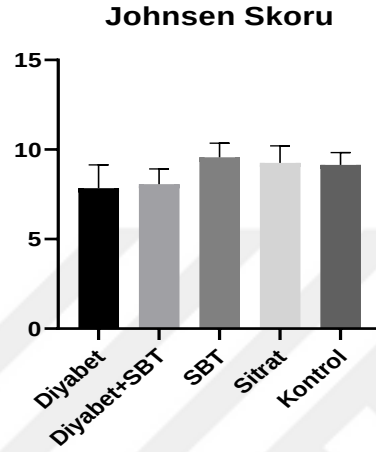
Şekil 29: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü. Kan damarı (kd), bazal membranda kalınlaşma (mavi ok). (PAS, bar:200 μ m).

5.5.1.4. Johnsen Skoru Değerlendirilmesi

Her bir grubun testislerinden yapılan Johnsen skor değerlendirmesine göre Kontrol, Sitrat ve SBT grubu ratların Johnsen skorunun benzer olduğu görüldü. Diyabet grubunun Johnsen değeri, Kontrol, Sitrat ve SBT grubuna göre azaldığı izlendi. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Diyabet + SBT grubunun, Johnsen değeri Diyabet grubuna göre arttığı görüldü. Ancak oluşan bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Johnsen skoru değerlendirilmesi Tablo 21’ de verildi.

Tablo: 21: Johnsen Skoru Değerlendirilmesi (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet+SBT
9,1±0,69	9,3±0,96	9,6±0,79	7,8±1,3	8,1±0,86



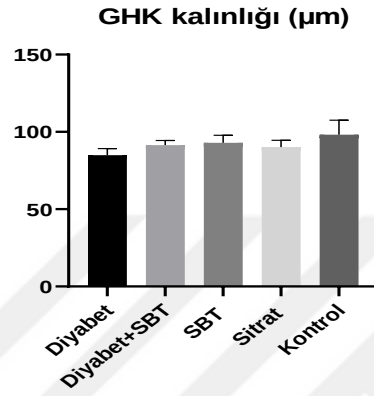
5.5.1.5. Morfometrik Bulgular

5.5.1.5.1. Germinal Hücre Kalınlığı- Tubul Çapı Değerlendirmesi

Diyabet grubuna ait ratların germinal hücre kalınlığı, Kontrol ve Sitrat grubu ratlara göre azalmış olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). SBT grubu ratların testis GHK kalınlığının diyabetik ratlara göre artmış olduğu görüldü. Kontrol grubuna göre, Diyabet + SBT grubunda GHK kalınlığının azaldığı görüldü. Bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Testis germinal epitel kalınlığı Tablo 22’de verildi.

Tablo 22: Testis germinal epitel kalınlığı değeri (Ort $\pm$ ss)

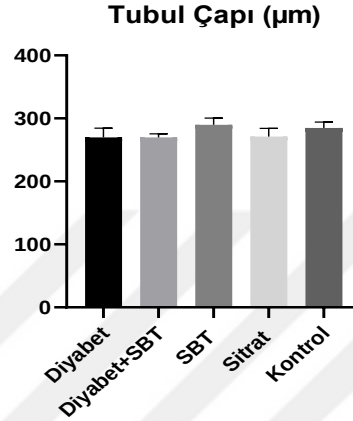
Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet+SBT
98 $\pm$ 9,3	90 $\pm$ 4,4	93 $\pm$ 4,8	85 $\pm$ 4,3	91 $\pm$ 2,4



Tubullerden elde edilen tubul çapları değerlendirildiğinde ise; Diyabet ve Diyabet + SBT grubunda herhangi bir tubul çapı farkına rastlanmadı. Ancak kontrol grubuna göre tubul çaplarının azaldığı gözlemlendi. En yüksek tubul çapı oranına SBT grubunda rastlandı. SBT grubu ile Diyabet + SBT Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,05$). Testis tubul çapı ölçümü değerlendirilmesi Tablo 23’de verildi.

Tablo 23: Testis tubul çapı ölçümü değerlendirilmesi (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet+SBT
285±9,3	271±13	290±10	270±15	270±5,8



5.5.2. Böbrek Dokusunun İncelenmesi

5.5.2.1. Böbrek Dokusu Hematoksilen Eosin Boyama

Bulguları

Kontrol Grubu

Korteks ve medulladan oluşan sağ ve sol böbrekler, histolojik olarak normal görünümündeydi. Kortekste yer alan böbrek cisimcikleri normal bir histolojik görünüme sahipti. Bowman kapsülü (Capsula glomeruli) histolojik olarak normal görüntü sergiledi. Yer yer bazı ratlarda hiperemi görülmesi bireysel farklılıktan kaynaklandığını düşündürdü. Lumenleri dar etrafı asidofilik sitoplazmaya sahip olan proksimal tubullerin etrafındaki kübik-silindirik epitel normal görünümündeydi. Proksimal tubullere göre lumenleri daha geniş seyreden distal tubuller kübik epitel yapısı ile normal histolojik görünümündeydi. (Şekil

30,31). Böbrek medullasında ise henle kulpları, proksimal ve distal tubuluslar ve tubulus kollektivuslar normal görünümdeydi. Histopatolojik değişikliklere rastlanılmadı.

Sitrat Grubu:

Kontrol grubu ile benzer görünüme sahip olup, histopatolojik değişikliklere rastlanılmadı (Şekil 32,33).

SBT Grubu

SBT grubuna ait ratların böbrek dokularının H-E boyamasında bazı ratlarda hiperemi dışında histopatolojik değişikliklere rastlanılmadı, kontrol grubu ile benzerdi (34,35).

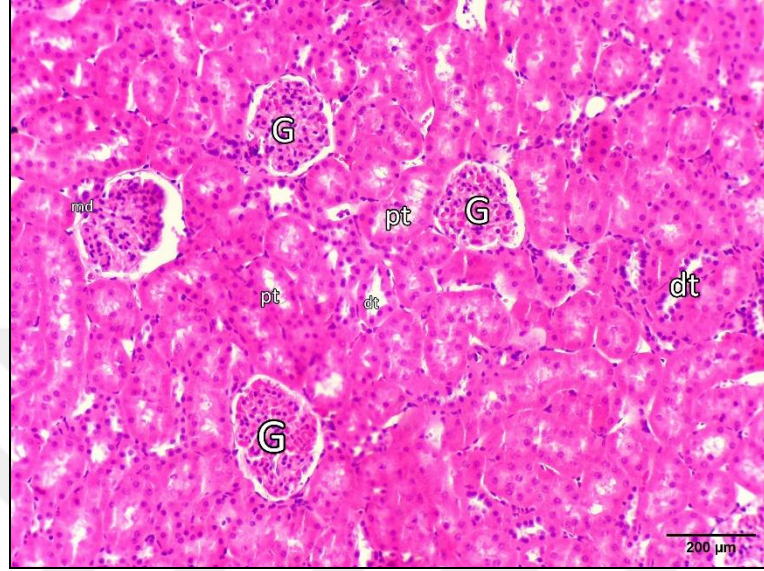
Diyabet Grubu

H-E boyama sonucunda glomeruluslarda ve tubullerde kontrol grubu ile kıyaslandığında bazı hasarlar gözlemlendi. Glomerulusların bazılarında atrofi, bowman kapsülünde (capsula glomeruli) genişleme, tubullerde vakuolizasyon (Armani Epstein lezyonları), tubullerde atrofi, tubullerde proteinöz filtrat ve bazı alanlarda yoğun hemorajik bölgelere rastlanıldı (36,37,38).

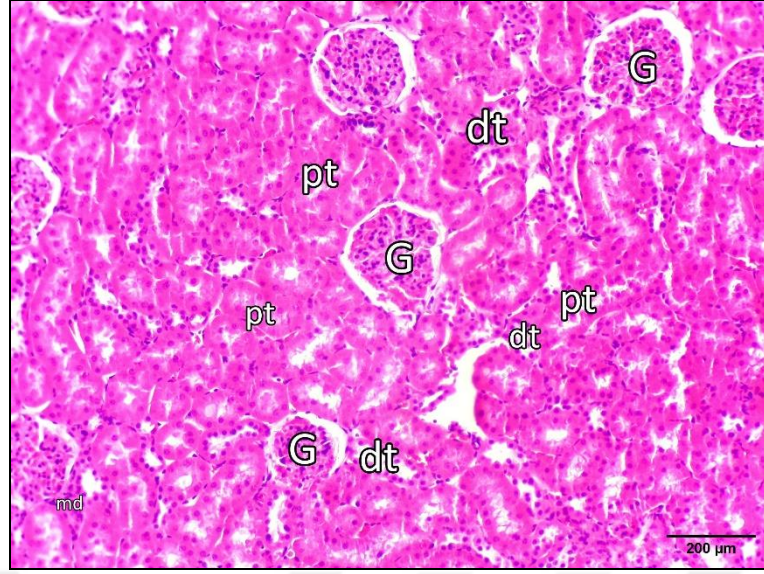
Diyabet + SBT Grubu

H-E boyamalarının sonucunda tubuler alanda ve glomeruluslarda bazı hasarlar gözlemlendi. Bu hasarların diyabet grubuna göre azalmış olduğu fark edildi. Bu ratların tubullerinde dejenerasyon ve vakuolizasyon ile şeffaf tubuler yapılar gözlemlendi. Ancak diyabetik gruplar kadar yoğun değildi (Şekil 39).

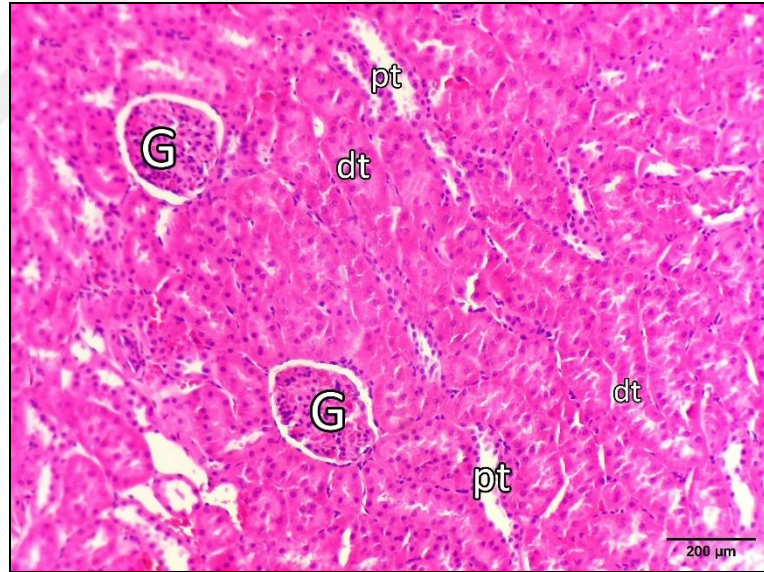
Glomerular yapılar da bowman mesafesinde genişleme, tubullerde bazı bölgelerde vakuolizasyon, hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlanıldı (Şekil 40).



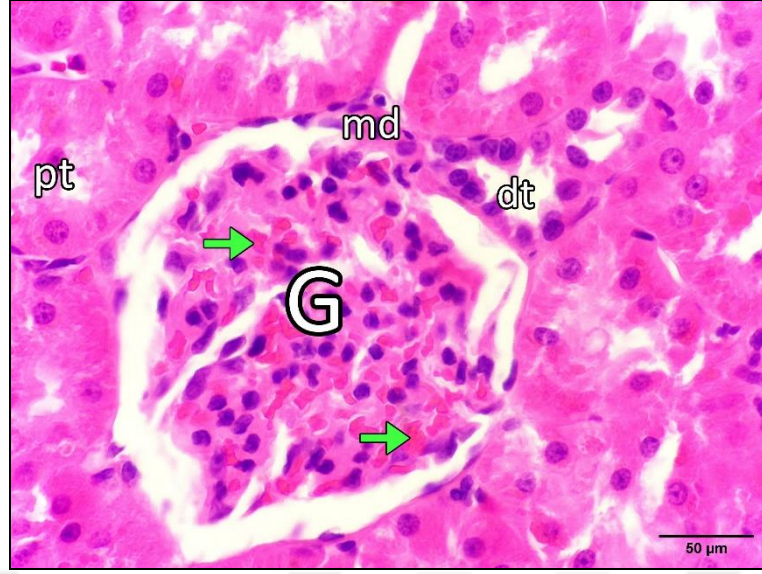
Şekil 30: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renalis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (pt), distal tubul (dt), makula densa (md). (H-E, Bar:200) µm).



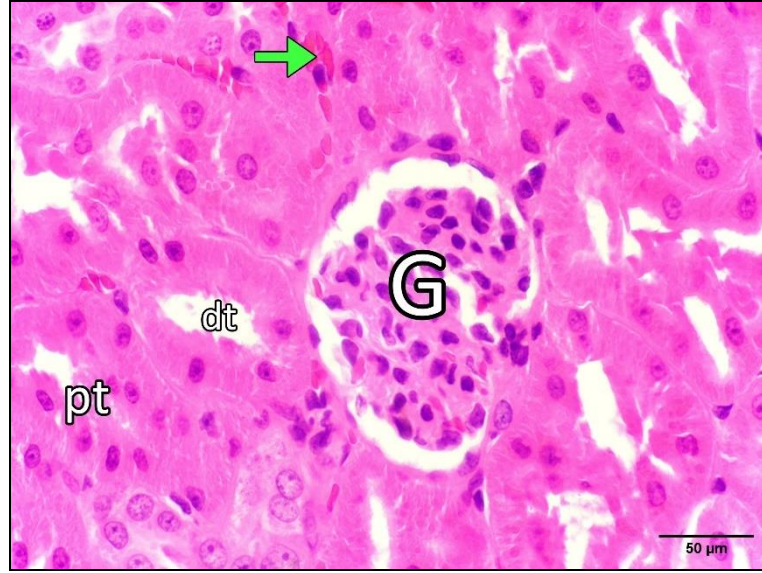
Şekil 31: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), makula densa (md) (H-E, Bar:200 µm).



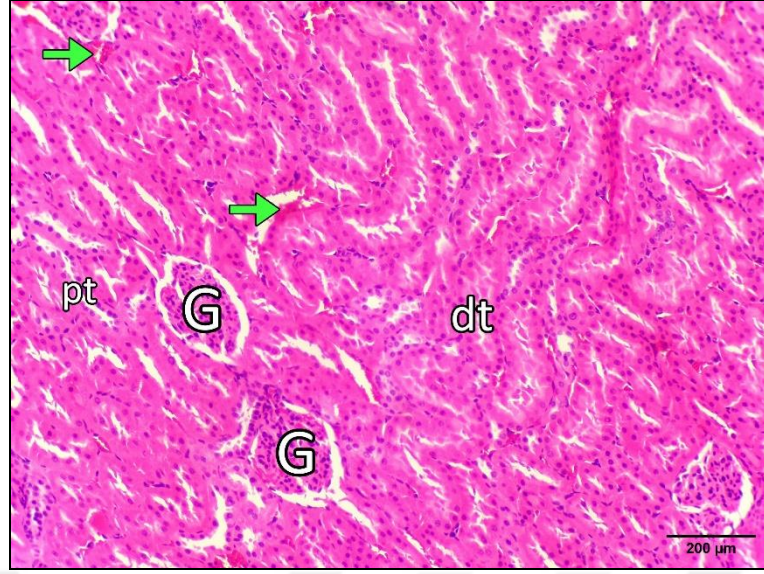
Şekil 32: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt). (H-E, Bar:200 µm).



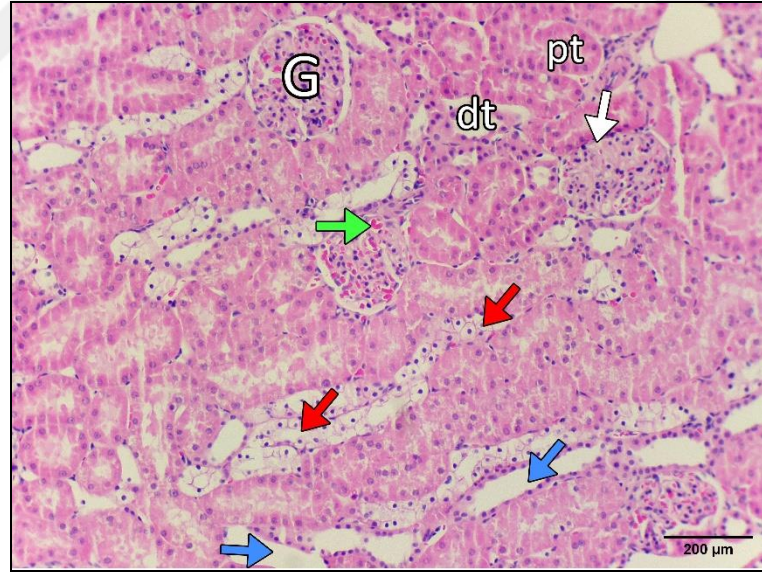
Şekil 33: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), makula densa (md), hiperemi (yeşil ok). (H-E, Bar:50 µm).



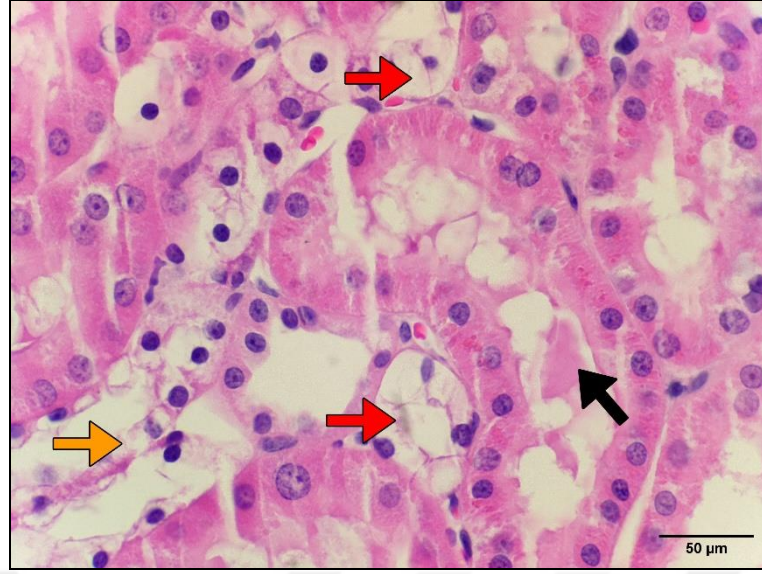
Şekil 34: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), hiperemi (yeşil ok). (H-E, Bar: 50 µm).



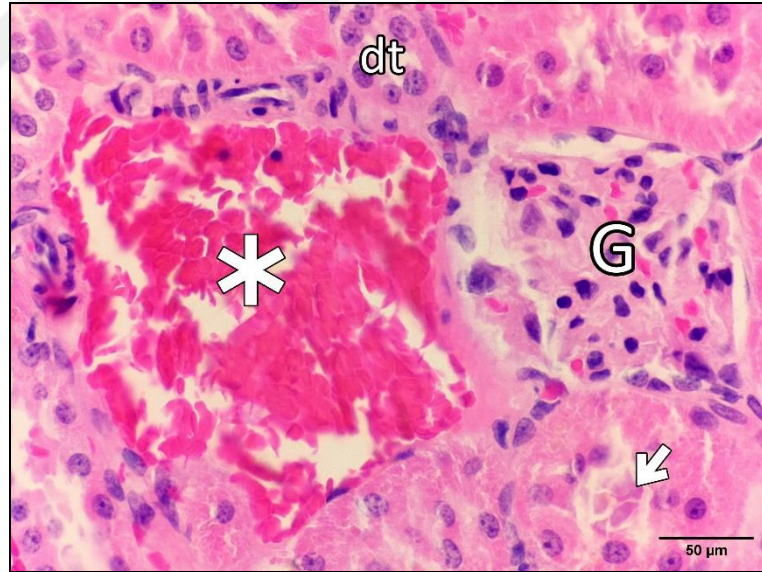
Şekil 35: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), hiperemi (yeşil ok). (H-E, Bar: 200 µm).



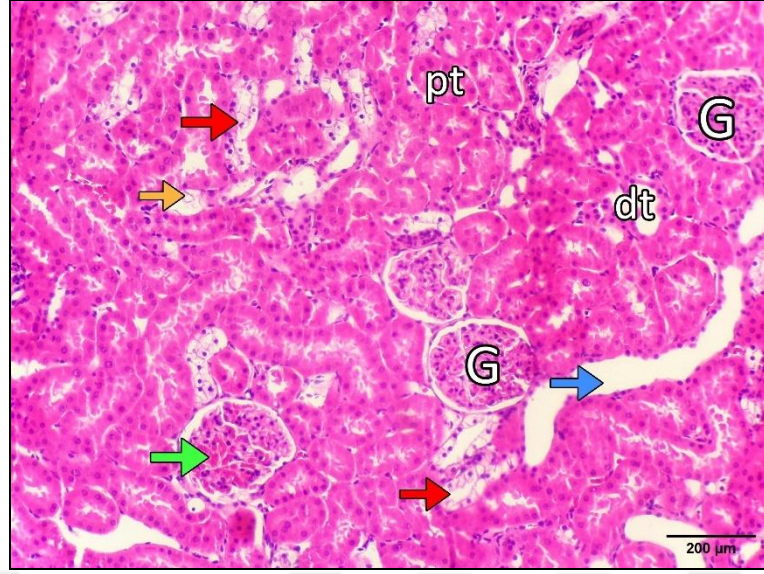
Şekil 36: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), hiperemi (yeşil ok), tubuler dilatasyon (mavi ok), tubullerde vakuolizasyon (Armani Ebstein lezyonları) (kırmızı ok), bowman aralığında daralma (beyaz ok). (H-E, Bar: 200 µm).



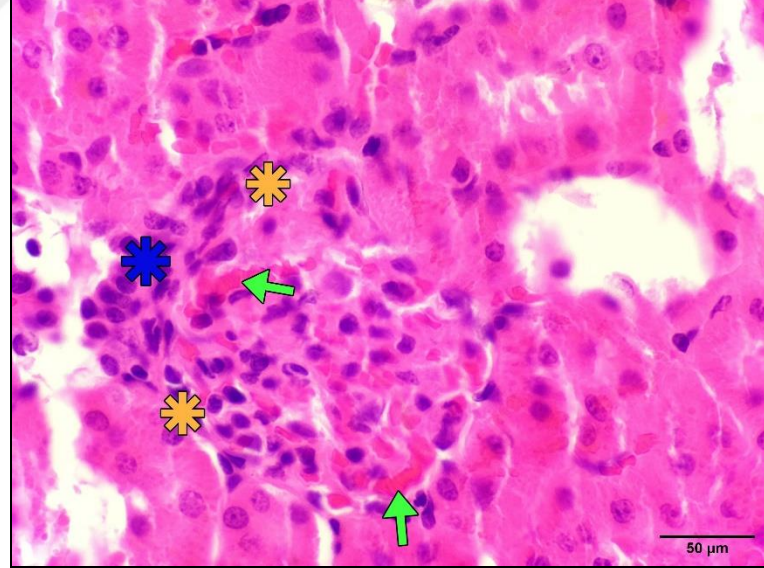
Şekil 37: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Tubullerde vakuolizasyon (Armani Ebstein lezyonları) (kırmızı ok), tubul epitelinde dökülme (turuncu ok), proteinöz filtrat (siyah ok). (H-E, Bar: 50 µm).



Şekil 38: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), distal tubul (dt), hiperemi (beyaz yıldız), proteinöz filtrat (beyaz ok). (H-E, Bar: 50 µm).



Şekil 39: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), tubuler dilatasyon (mavi ok), tubullerde vakuolizasyon (Armani Ebstein lezyonları) (kırmızı ok), tubul epitelinde dökülme (turuncu ok), hiperemi (yeşil ok). (H-E, Bar: 200 µm).



Şekil 40: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Bowman mesafesinde daralma (sarı yıldız), Periglomerular alanda mononükleer hücre infiltrasyonu (mavi yıldız), hiperemi (yeşil ok). (H-E, Bar: 50 µm).

Glomerular atrofi ve lobulasyon, hemoraji, bowman kapsülünde (capsula glomeruli) genişleme, influmatur hücre infiltrasyonu, fibrozis, vakuolizasyon ve tubuler hasar yönünden grupların skor değerleri Tablo 24' de verildi



Tablo 24: Böbrek dokusu histopatolojik değişimlerin skorlanması

Histopatolojik değişimler		Diyabet	Diyabet+SBT	SBT	Sitrat	Kontrol
Glomerular Atrofi	Ort±SS	0,67±0,71	0,22±0,44	0±0	0±0	0±0
Glomerular Lobulasyon	Ort±SS	0,56±0,53	0,11±0,33	0,14±0,38	0,14±0,38	0±0
Hemoraji	Ort±SS	0,89±0,93	0,56±0,73	0,86±0,38	0,86±0,38	0,86±0,38
Bowman kapsülünde Genişleme	Ort±SS	1,6±0,53	1,2±0,83	1,9±0,9	0,43±0,53	0,71±0,49
İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	Ort±SS	0,78±0,67	0,56±0,88	1,7±0,76	0,86±0,69	0,29±0,76
Fibrozis	Ort±SS	0,56±0,53	0,63±0,52	0,71±0,76	0,67±0,52	0,33±0,52
Vakuolizasyon	Ort±SS	1,4±1,2	1,1±0,83	0,14±0,38	0±0	0,14±0,38
Tubuler Hasar	Ort±SS	3,7±0,87	2,8±1,2	1,4±0,53	1,3±0,52	0,71±0,49

Ort: Ortalama değer, SS: standart sapma

5.5.2.2. Böbrek Dokusu Crossman Triple Boyama

Bulguları

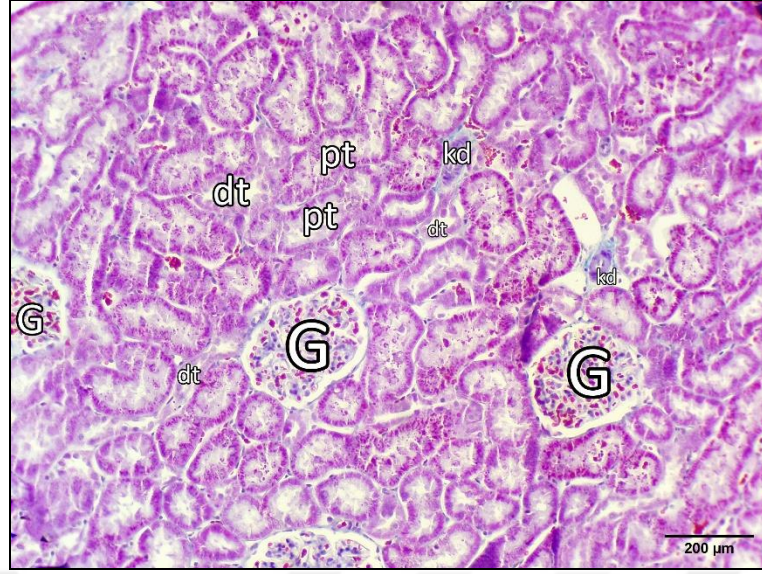
Kontrol grubuna ait Crossman boyamasında interstisyel fibrozis alanlarına bakıldı. Tubuller arasında herhangi bir fibroze rastlanmadı (Şekil 41,42).

Sitrat grubuna ait böbrek dokuları kontrol grubu ile benzer olup, fibrotik alanlara rastlanmadı (Şekil 43,44).

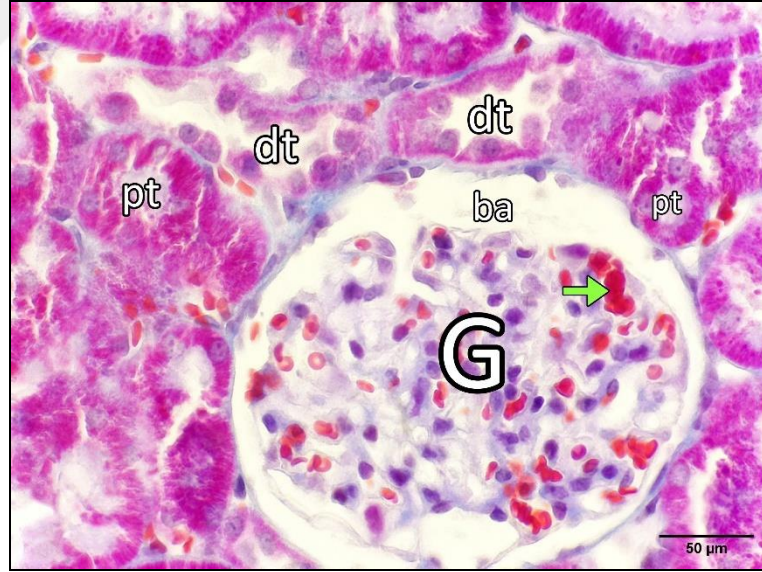
SBT grubu değerlendirmesinde yer yer bazı alanlarda kollajen bağ doku artışına ve interstisyel alanda hiperemiye rastlanıldı (Şekil 45,46).

Diyabet grubunda interstisyel bağ dokusunda kısmen kollagen madde artışı ve fibrozis gözlendi (Şekil 47,48,49).

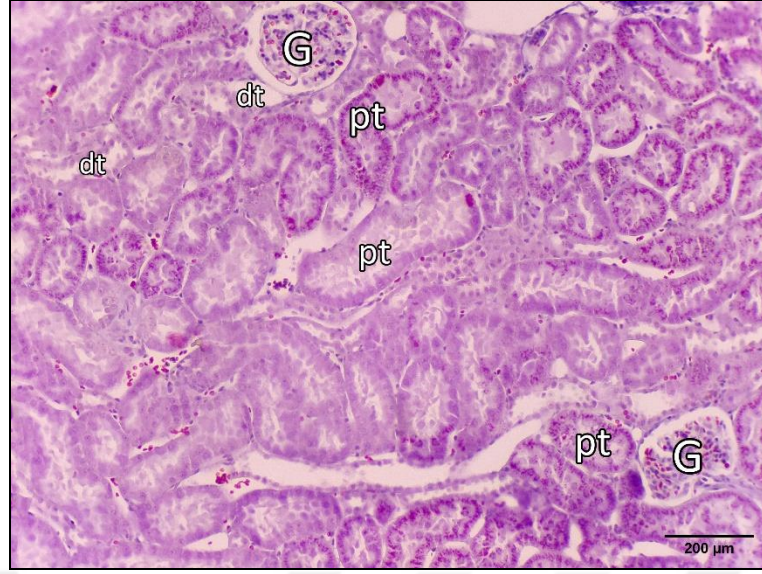
Diyabet + SBT grubuna ait böbrek dokusunun Crossman boyamasında interstisyel bağ dokusunda kısmen kollagen madde artışı ve fibrozis gözlendi (Şekil 50,51).



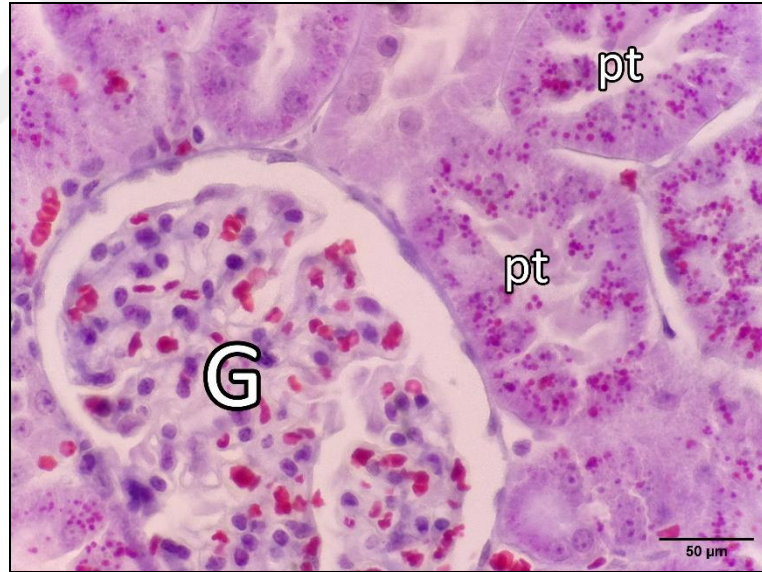
Şekil 41: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), kan damarı (kd). (Crossman- bar:200 µm).



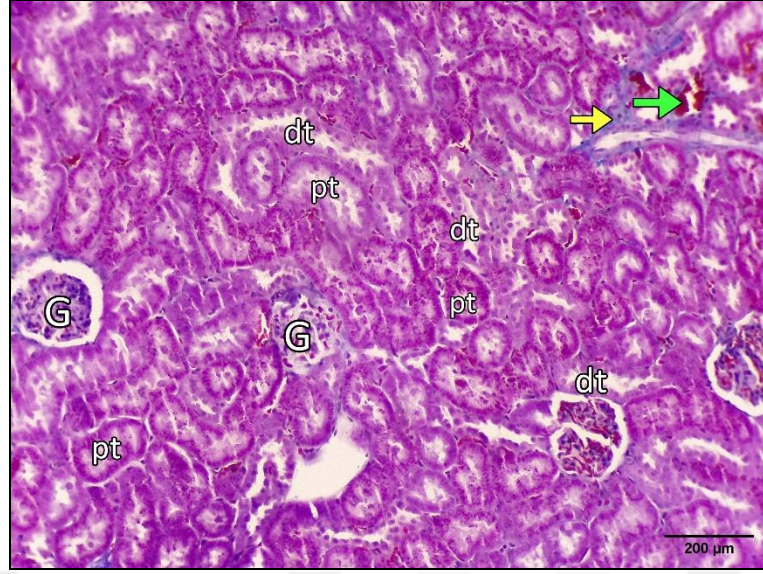
Şekil 42: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), hiperemi (yeşil ok), Bowman aralığı (ba) glomeruluslarda hafif hiperemi (yeşil ok). (Crossman- bar:50 µm).



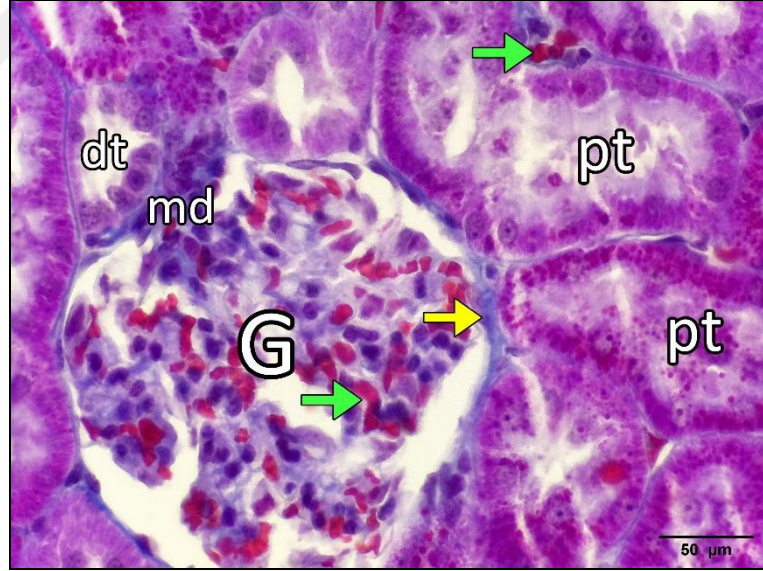
Şekil 43: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt). (Crossman – bar:200 µm).



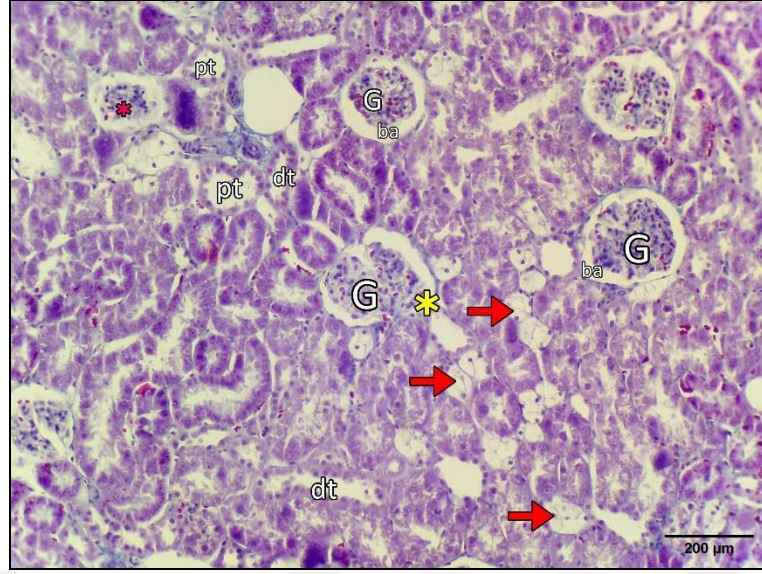
Şekil 44: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt). (Crossman- Bar: 50 µm).



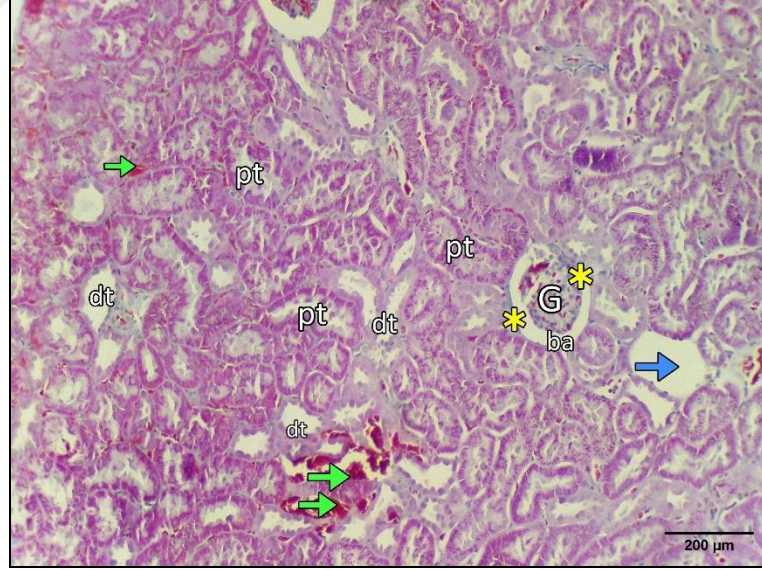
Şekil 45: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt). İnterstisyel kılcal damarlarda hiperemi (yeşil ok), interstisyel alanda bağ dokusu artışı (sarı ok). (Crossman- Bar: 200 µm).



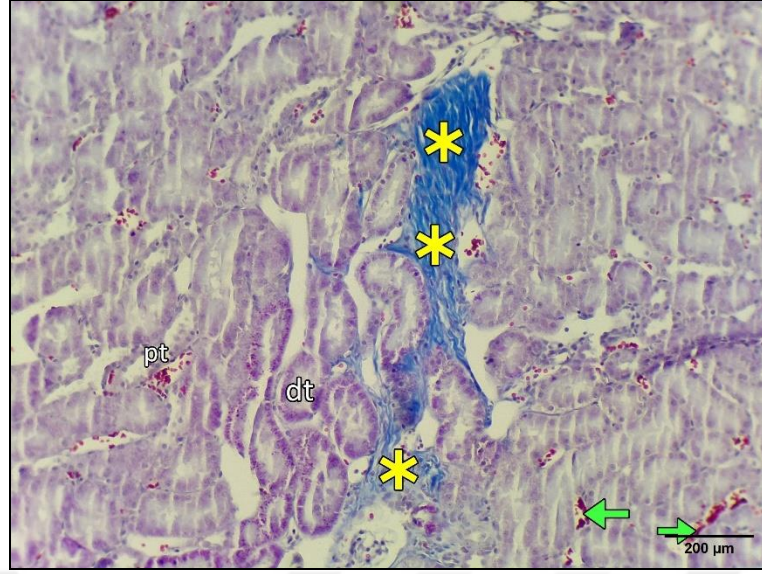
Şekil 46: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), makula densa (md), kılcal damarlarda hiperemi (yeşil ok), bağ dokusu artışı (sarı ok, sarı yıldız). (Crossman- Bar: 50 µm).



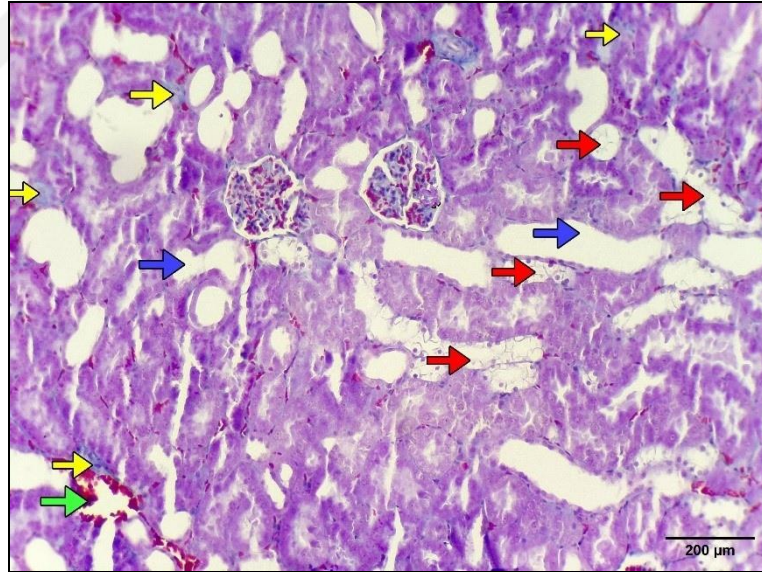
Şekil 47: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), bowman aralığı (ba), tubullerde vakuolizasyon (Armani Ebstein lezyonları) (kırmızı ok), bağ dokusu artışı (sarı yıldız), glomerulda atrofi (kırmızı yıldız). (Crossman- Bar: 200 µm).



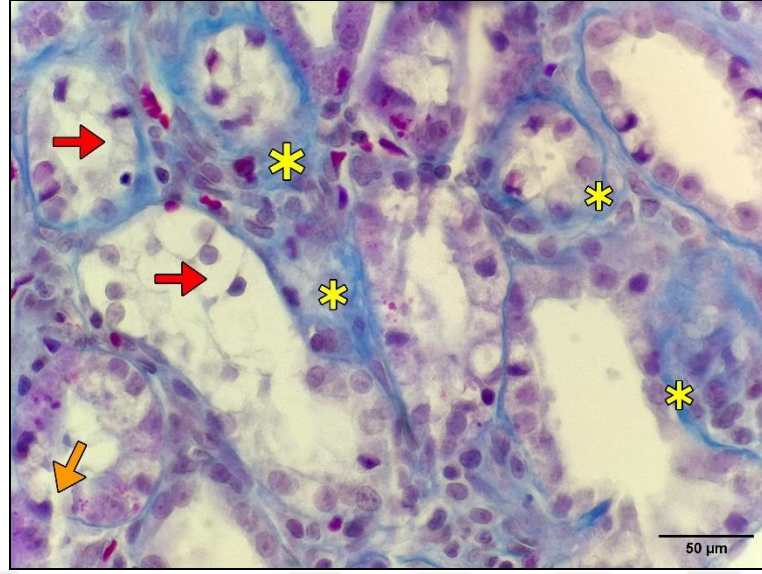
Şekil 48: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), bowman aralığı (ba), bağ dokusu artışı (sarı yıldız), tubullerde dilatasyon (mavi ok), interstisyel kılcal damarlarda hemoraji (yeşil ok). (Crossman- Bar: 200 µm).



Şekil :49 Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt), bağ dokusu artışı (sarı yıldız), interstisyel kılcallarda hiperemi (yeşil ok). (Crossman- Bar: 200 μm).



Şekil 50: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Tubullerde vakuolizasyon (Armani Ebstein lezyonları) (kırmızı ok), tubullerde dilatasyon (mavi ok), interstisyel kılcal damarlarda hiperemi (yeşil ok), bağ dokusu artışı (sarı ok). (Crossman- Bar: 200 μm).



Şekil 51: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Tubullerde vakuolizasyon (Armani Ebstein lezyonları) (kırmızı ok), bağ dokusu artışı (sarı yıldız), tubul epitelinde dökülme (turuncu ok). (Crossman- Bar: 50 µm)

5.5.2.3. Böbrek Dokusu Periyodik Asit Schiff (PAS)

Boyama Bulguları

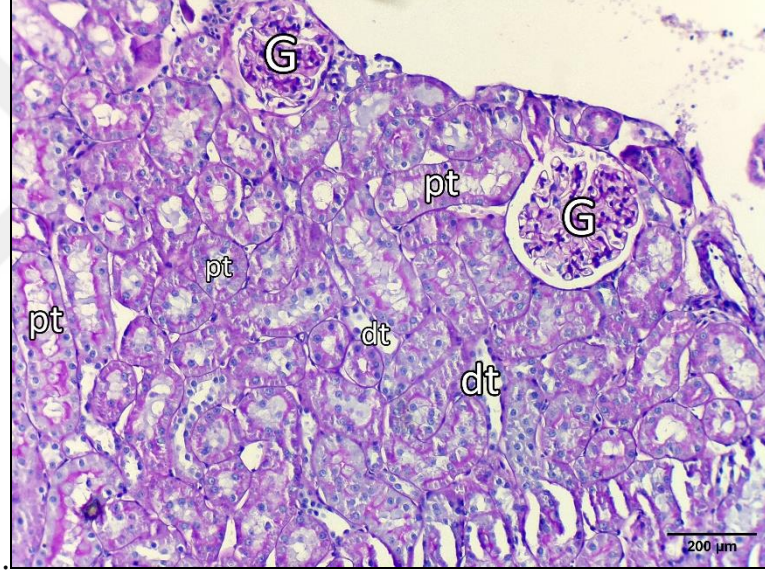
Kontrol grubuna ait PAS boyanmasında, böbreğin proksimal tubullerinde (tubulus proximalis) bulunan mikrovilluslarda fırçamsı kenarlar belirgin ve histolojik olarak normal görünümdeydi. Glomeruluslara ait bazal membranda herhangi bir kalınlaşmaya rastlanılmadı (Şekil 52,53)

Sitrat grubuna ait böbrek dokularının PAS boyaması kontrol grubu ile benzer olduğu gözlemlendi. (Şekil 54).

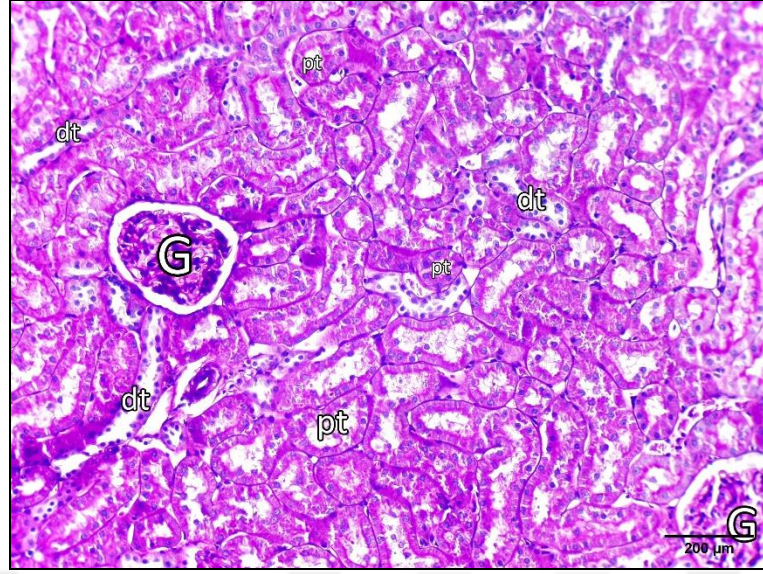
SBT grubuna ait böbrek dokusunun PAS ile boyanmasında glomerulusların pariyetal yaprağında kalınlaşmaya sadece birkaç preparatta rastlanıldı (Şekil 55,56).

Diyabet grubuna ait preparatlarda ise tubul epitellerinin apikal yüzlerinde yer alan mikrovillus içeren epitellerde dökülmeler gözlemlendi. Bunun yanında bowman kapsülünün (capsula glomeruli) bazal membranında kalınlaşmalara rastlanıldı (Şekil 57,58).

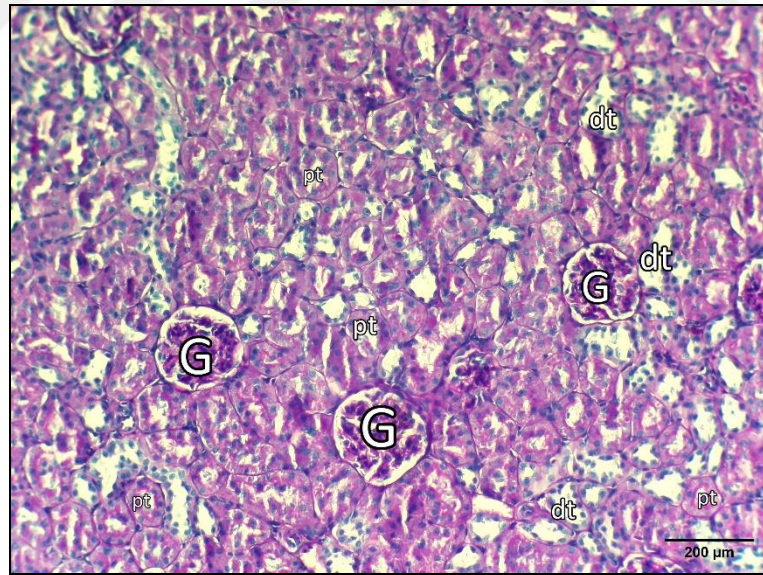
Diyabet + SBT grubuna ait böbrek dokusunun PAS boyama sonucunda ise bazal membranda kalınlaşmalara rastlanılmadı, ancak tubul epitellerinin apikal yüzlerinde yer alan mikrovillus içeren epitellerde dökülmeler gözlemlendi (Şekil 59).



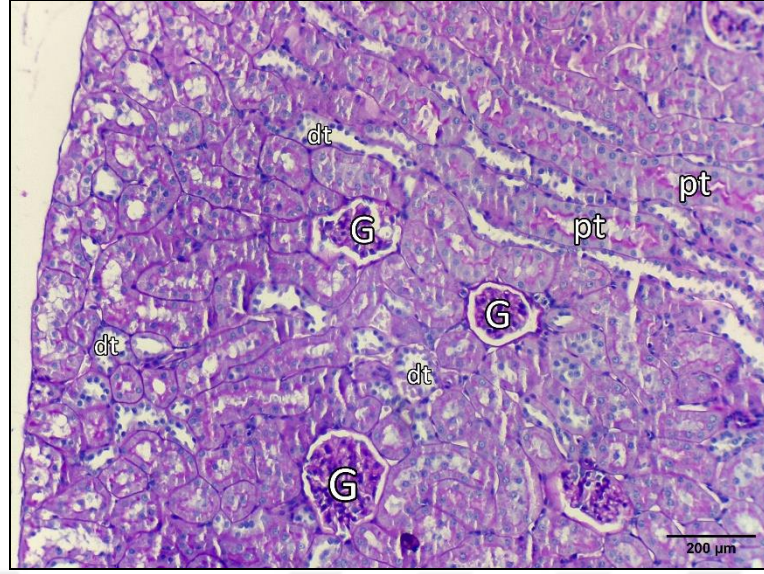
Şekil 52: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt). (PAS- Bar: 200 µm).



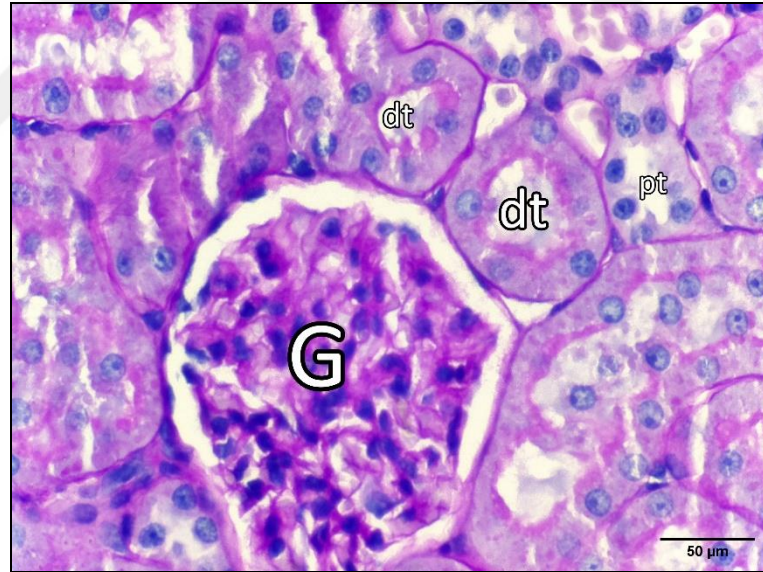
Şekil 53: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt). (PAS- Bar: 200 µm).



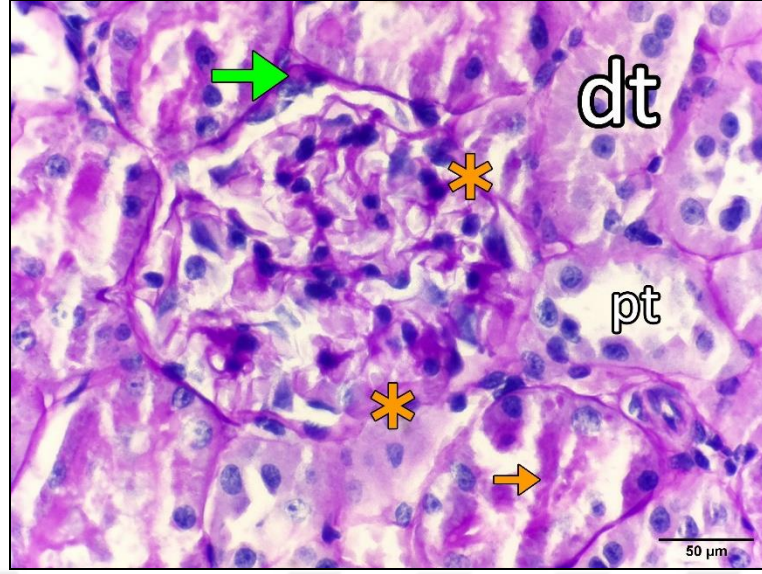
Şekil 54: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt). (PAS- bar:200 µm).



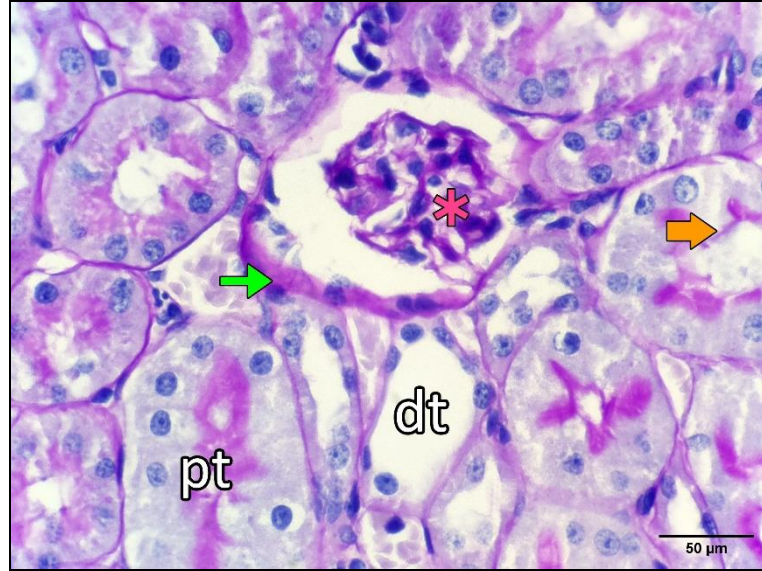
Şekil 55: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt). (PAS- Bar: 200 µm).



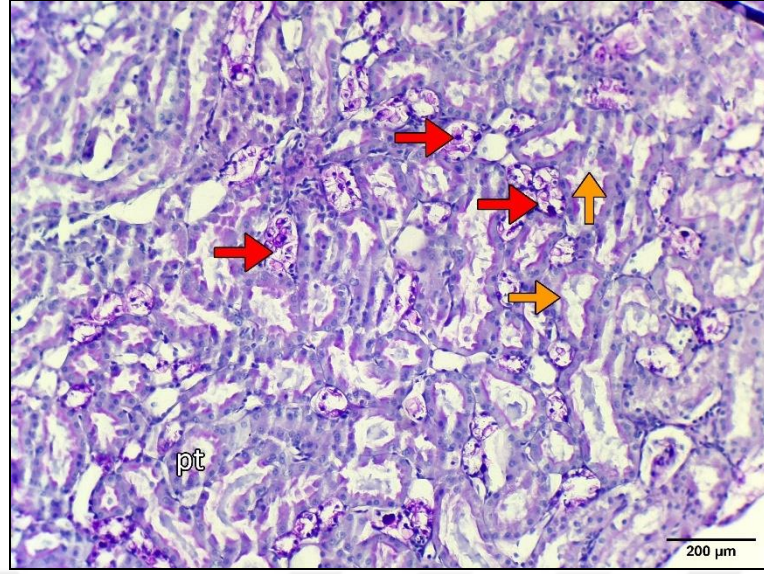
Şekil 56: SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Glomerulus (G), proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt). (PAS- Bar: 50 µm).



Şekil 57: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (dt). Tubul epitelinde dökülme (turuncu ok), bazal membranda kalınlaşma (yeşil ok), Bowman kapsülünde (capsula glomeruli) daralma (turuncu yıldız). (PAS- Bar: 50 µm).



Şekil 58: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Proksimal tubul (tubulus proximalis) (pt), distal tubul (tubulus distalis) (dt). Tubul epitelinde dökülme (turuncu ok), bazal membranda kalınlaşma (yeşil ok), mezengiyal matrikste artış (pembe yıldız). (PAS- Bar: 50 µm).



Şekil 59: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin (cortex renis) histolojik görünümü. Tubul epitelinde dökülme, (turuncu ok), tubullerde vakuolizasyon (Armani Ebstein lezyonları) (kırmızı ok) (PAS, Bar: 200 µm)

5.6. İmmünohistokimyasal Bulgular

5.6.1. Testis Dokusu İrisin İmmünoreaktivitesi

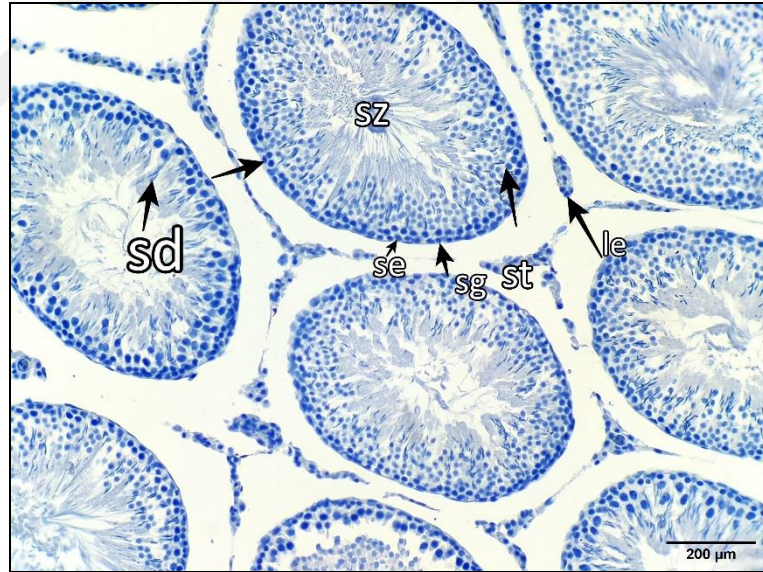
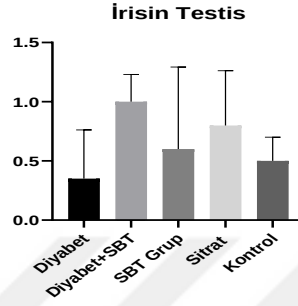
Testis dokusu İrisin immunoreaktivitesi sonucunda, Kontrol grubuna ait testis dokusu Leydig hücrelerinde zayıf şiddette boyama yoğunluğuna sahip pozitif hücrelere rastlanıldı. Leydig hücreleri dışında diğer yapılarda herhangi bir pozitiflik izlenmedi. SBT ve Sitrat grubu testis dokusu İrisin immunoreaktivitesi kontrol grubu ile benzerlik gösterdi (Şekil 61-66).

Diyabet grubuna ait testis immunoreaktivitesi incelendiğinde zayıf şiddette boyama yoğunluğuna sahip pozitif hücreler gözlendi (Şekil 67,68). Diyabet + SBT grubunda ise Leydig hücrelerinde kuvvetli şiddette boyama yoğunluğuna sahip pozitif hücrelere rastlanıldı (Şekil 69,70).

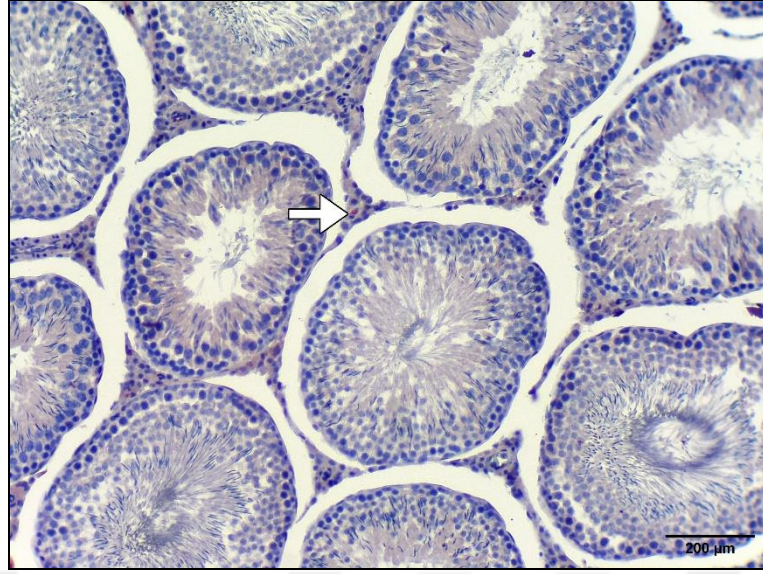
Tüm bu immünoreaktivite sonucu elde edilen histoskor sonucunda, Kontrol grubuna ait immünoreaktivitenin; Sitrat ve SBT grubu ile benzer olduğu gözlendi. Kontrol grubuna göre Diyabet grubunda immünoreaktivitenin azaldığı gözlendi. Diyabet grubuna göre Diyabet + SBT grubunda immünoreaktivitenin arttığı izlendi. Elde edilen histoskor sonucunda ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$) (Tablo 25). Negatif kontrol preperatlarında pozitiflik gözlenmedi (Şekil 60).

Tablo 25: Testis dokusunun İrisin immunoreaktivitesi skorlaması (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet+SBT
0,5±0,20	0,8±0,46	0,6±0,69	0,35±0,41	1,0±0,23



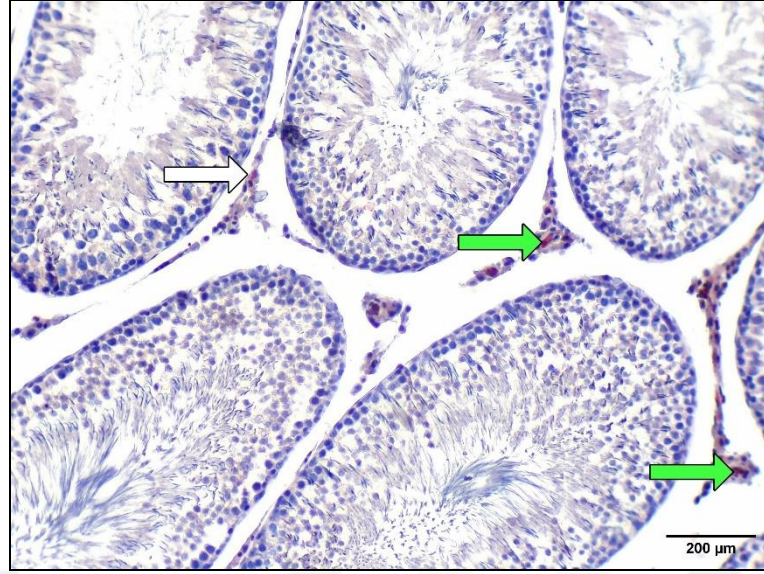
Şekil 60: Negatif kontrol grubuna ait testis dokusunun immunohistokimyasal boyaması. Spermatogonium (sg), spermatozoid (sz), spermatid (st), spermatozoa (sz), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se). (M-H: bar:200 µm).



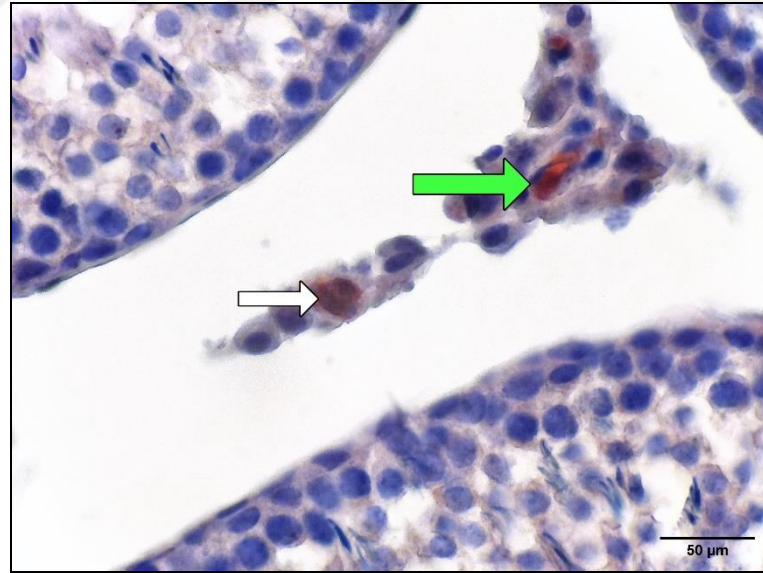
Şekil 61: Kontrol grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok), (M-H: bar:200 µm).



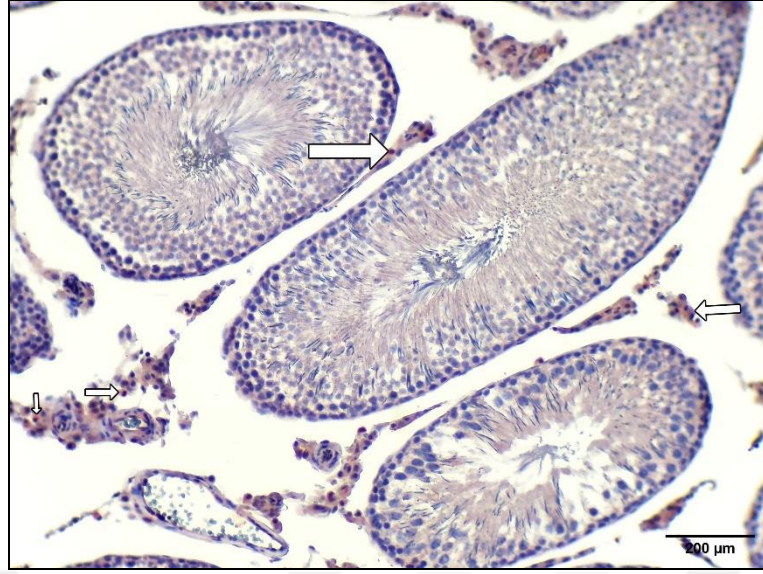
Şekil 62: Kontrol grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok), (M-H: bar:50 µm).



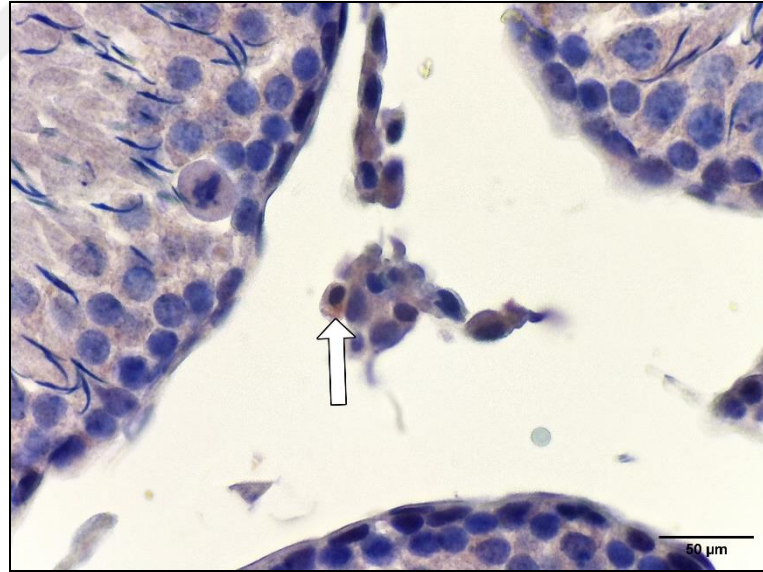
Şekil 63: Sitrat grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücrelerinde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette Leydig hücrelerinde immunopozitiflik (yeşil ok) (M-H: bar:200 µm).



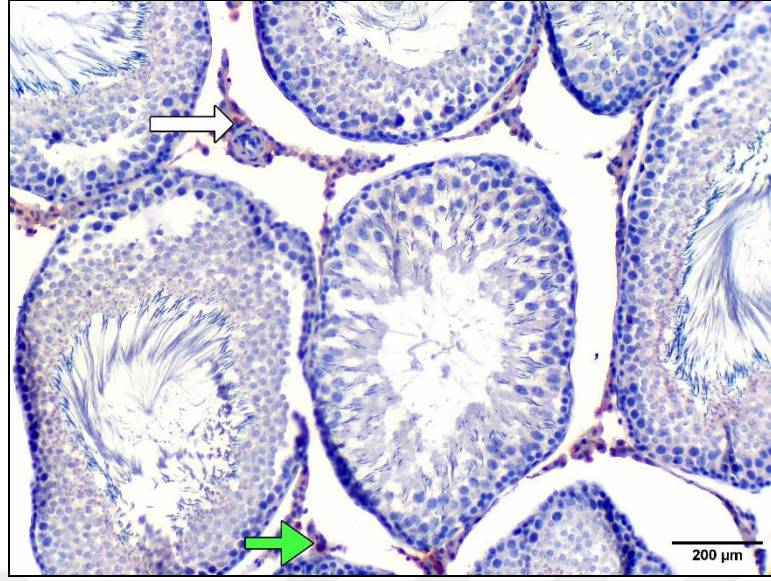
Şekil 64: Sitrat grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücrelerinde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette Leydig hücrelerinde immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H: bar: 50 µm).



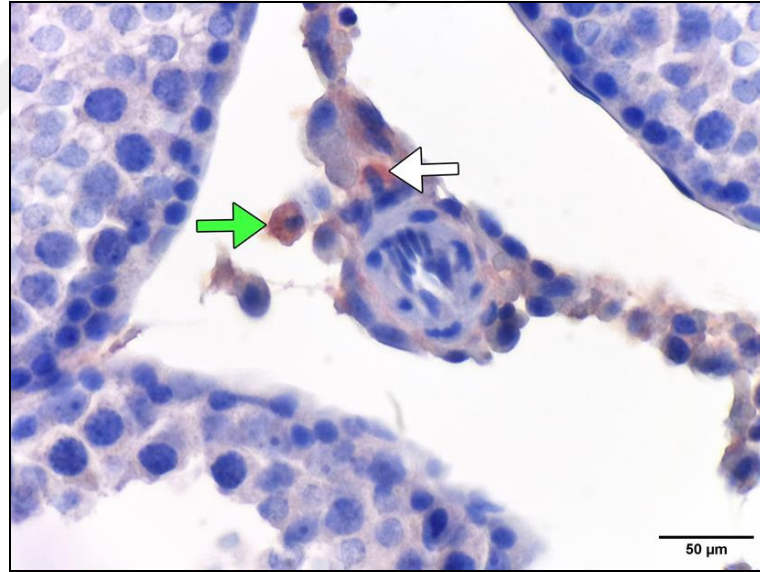
Şekil 65: SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok). (M-H: bar:200 µm).



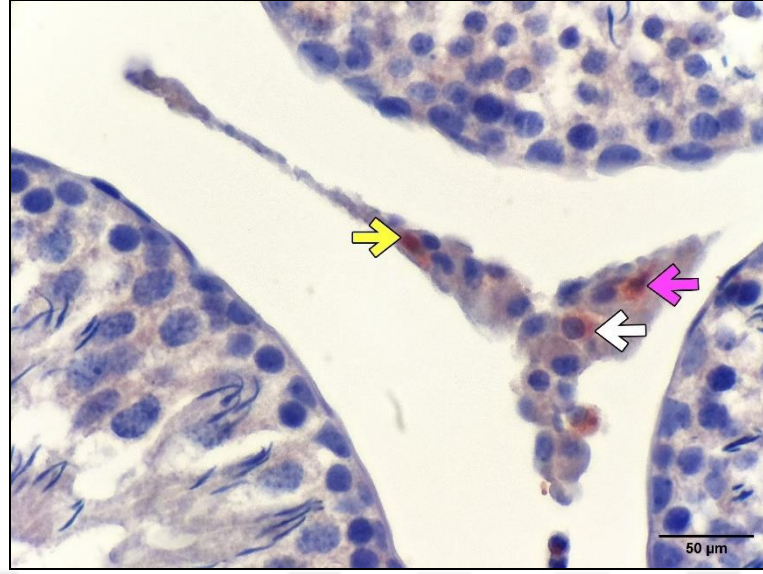
Şekil 66: SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok). (M-H: bar:50 µm).



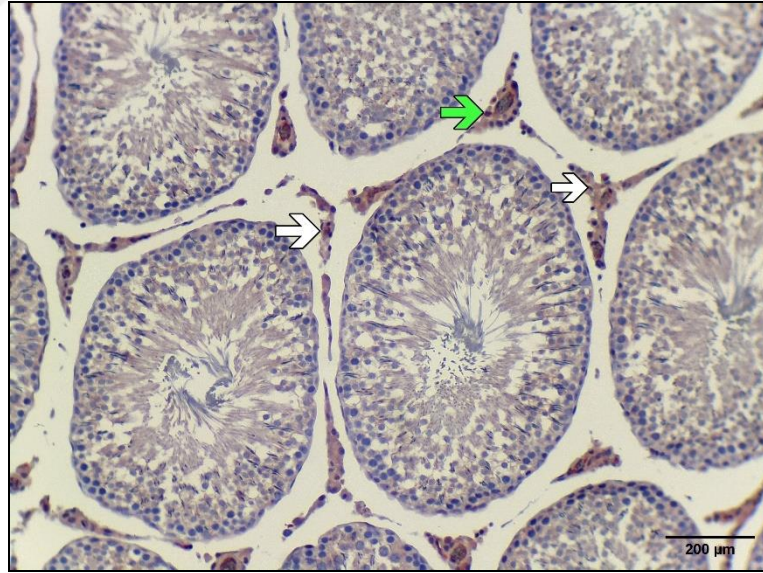
Şekil 67: Diyabet grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik. (M-H: bar:200 µm).



Şekil 68: Diyabet grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (Yeşil ok). (M-H bar:50 µm).



Şekil 69: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (pembe ok), kuvvetli şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (sarı ok). (M-H bar:50 µm).



Şekil 70: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H bar:200 µm).

5.6.2. Böbrek Dokusu İrisin İmmünoreaktivitesi

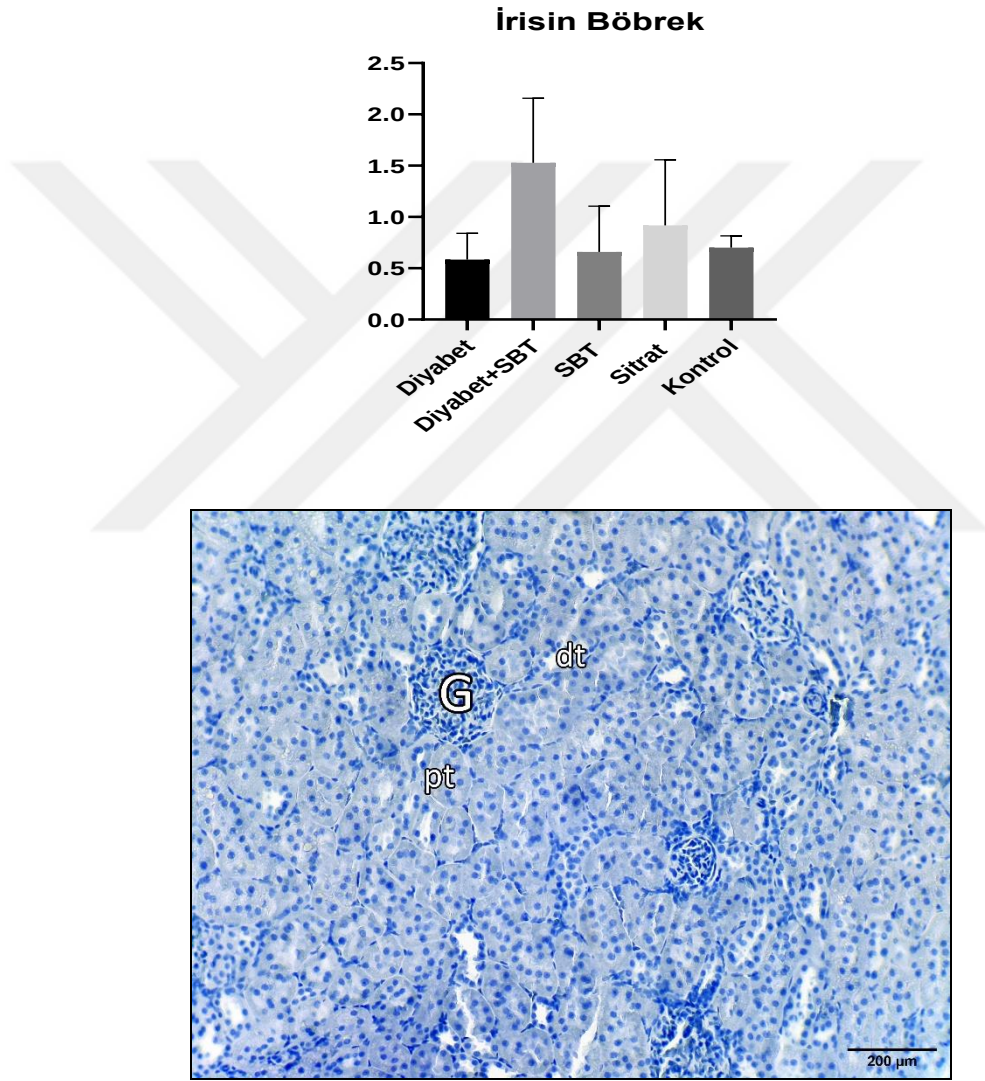
Böbrek dokusu İrisin immünoreaktivitesinin incelenmesi sonucunda Kontrol grubuna ait böbrek dokusunun korteks ve medullasında pozitif hücrelere rastlanıldı. Kortekste yer alan proksimal tubul ve distal tubullerde zayıf ve orta şiddette boyama yoğunluğuna sahip pozitif hücrelere rastlanıldı. Henle kuplarında pozitif hücrelere rastlanılmadı. Medullada ise toplayıcı borucuklarda zayıf ve orta şiddette boyama yoğunluğuna sahip immunopozitif alanlar gözlemlendi (Şekil 72,73). Sitrat ve SBT grubu ratlar ise Kontrol grubu ile benzerlik gösterdi (Şekil 74,75).

Diyabet grubuna ait boyamalarda korteks bölgesi proksimal tubullerinde zayıf ve orta şiddette boyama yoğunluğuna sahip pozitif hücrelere rastlanıldı. Toplayıcı borucuklarda kuvvetli şiddette immunopozitif alanlar gözlemlendi (76,77,78). Diyabet + SBT grubu ratların immünoreaktivite sonucunda proksimal tubullerde kuvvetli şiddette boyama yoğunluğuna sahip pozitif hücreler dikkati çekti (79,80).

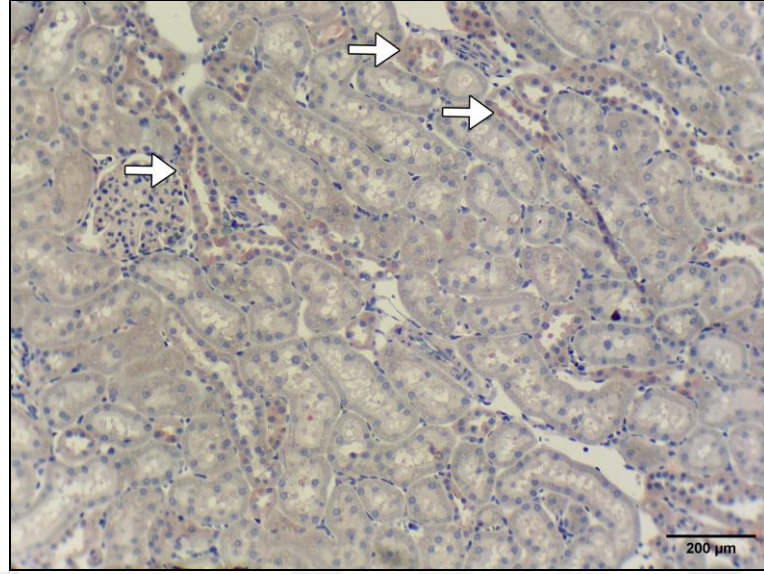
Pozitiflik ve boyanma yoğunluğu ile yapılan histoskor ile elde edilen veriler ışığında Kontrol grubu böbrek İrisin immünoreaktivitesinin, Sitrat ve SBT grubu ile benzer olduğu gözlemlendi. Kontrol grubuna göre Diyabet grubunda azalma izlendi. Diyabet ve Diyabet + SBT grubu incelendiğinde ise Diyabet + SBT grubunda İrisin immünoreaktivitenin artmış olduğu gözlemlendi. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Diyabet + SBT grubuna ait ratların İrisin immünoreaktivitesi Sitrat ve Kontrol grubuna göre de artmış olup, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) Negatif kontrol boyamalarında pozitiflik gözlenmedi (Şekil 71) (Tablo 26).

Tablo 26: Böbrek dokusunda İrisin immünohistokimyasal boyama skor tablosu (Ort±ss)

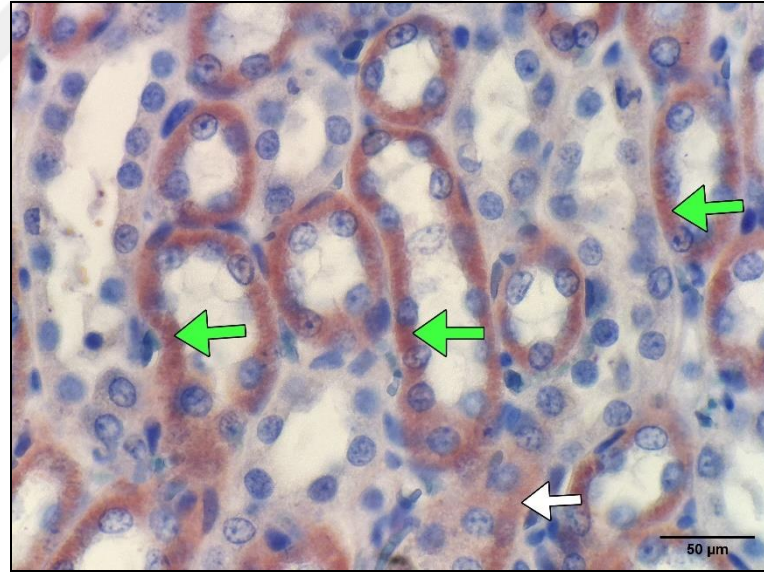
Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet+SBT
0,7±0,12	0,92±0,64	0,66±0,44	0,58±0,26	1,5±0,63



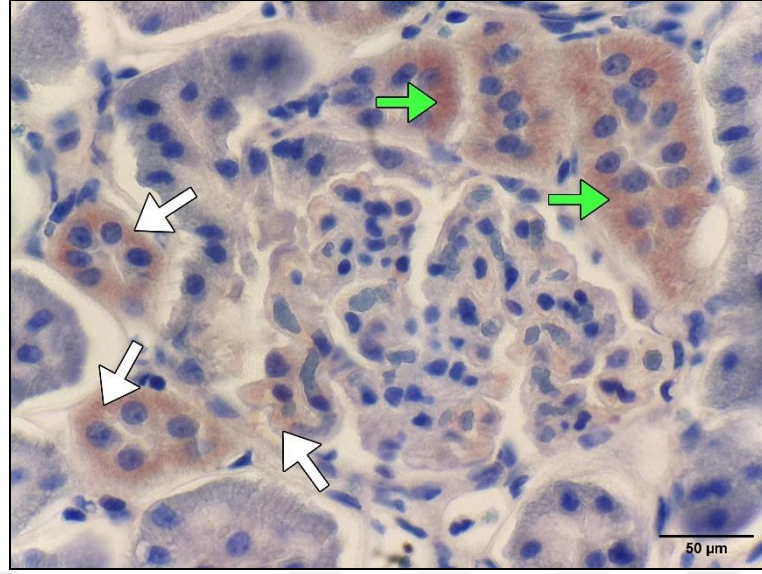
Şekil 71: Negatif kontrol grubuna ait böbrek korteksinin immunoreaktivitesi Glomerulus (G), proksimal tubul (pt), distal tubul (dt). (M-H: bar:50 µm)



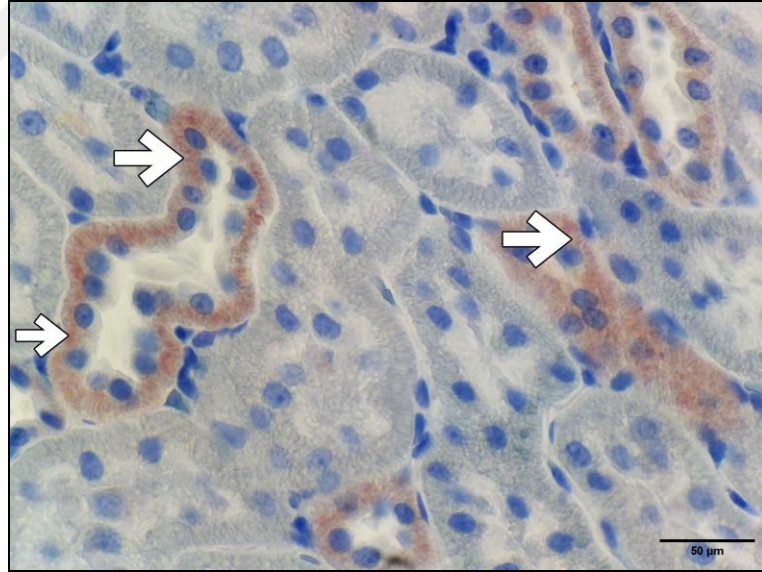
Şekil 72: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette distal tubüllerde (beyaz ok), orta şiddette. (M-H: bar:100 µm).



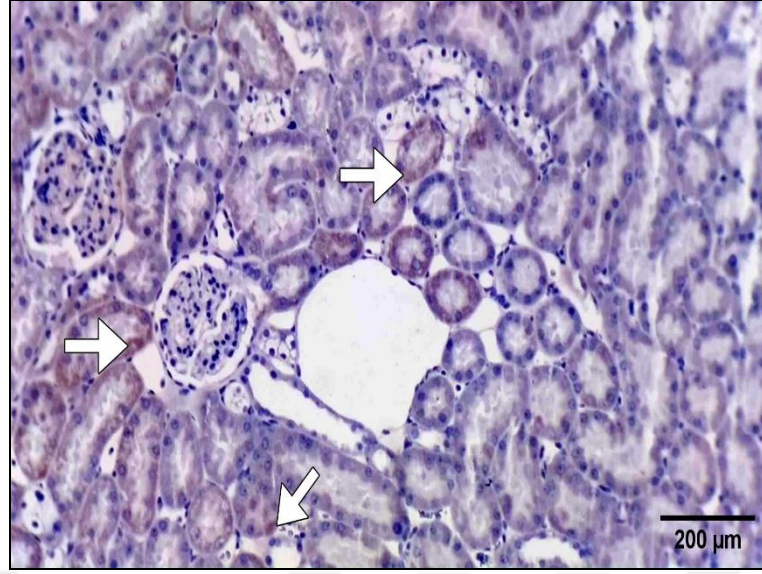
Şekil 73: Kontrol grubuna ait böbrek medullasının İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette toplayıcı borucuklarda immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette toplayıcı borucuklarda immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H: bar:50 µm).



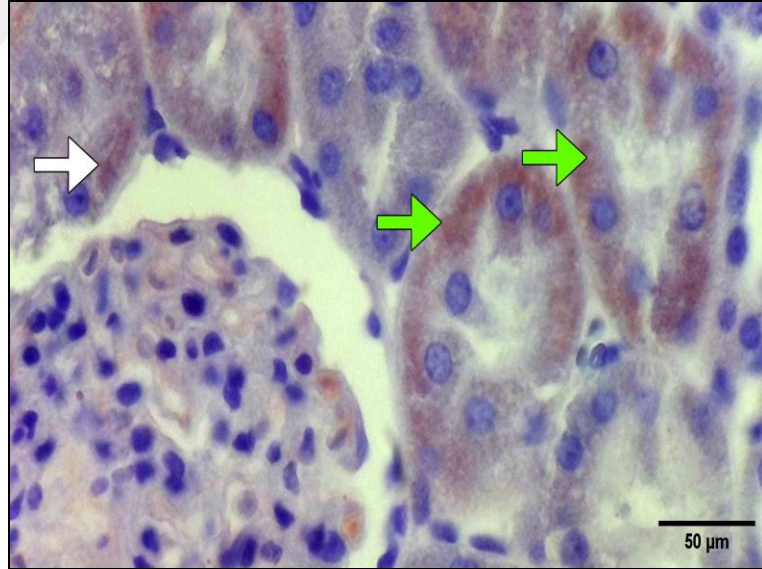
Şekil 74: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette proksimal tubullerde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette proksimal tubullerde immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H: bar:50 µm).



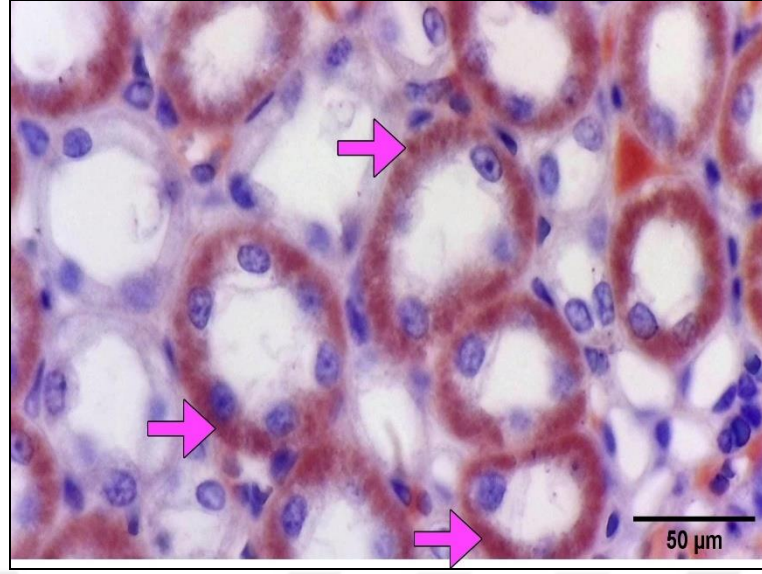
Şekil 75: SBT grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette distal tubullerde immunopozitiflik (beyaz ok). (M-H: bar:50 µm).



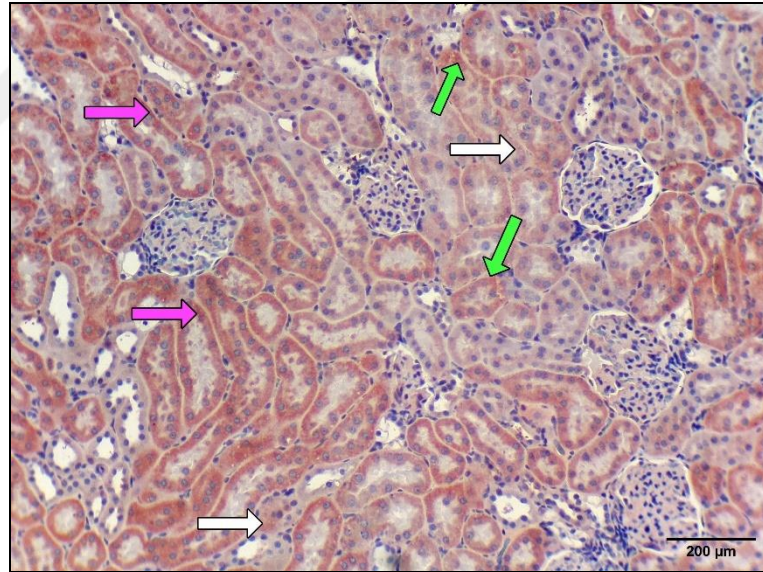
Şekil 76: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette proksimal tubüllerde immunopozitiflik (beyaz ok). (M-H: bar:200 µm).



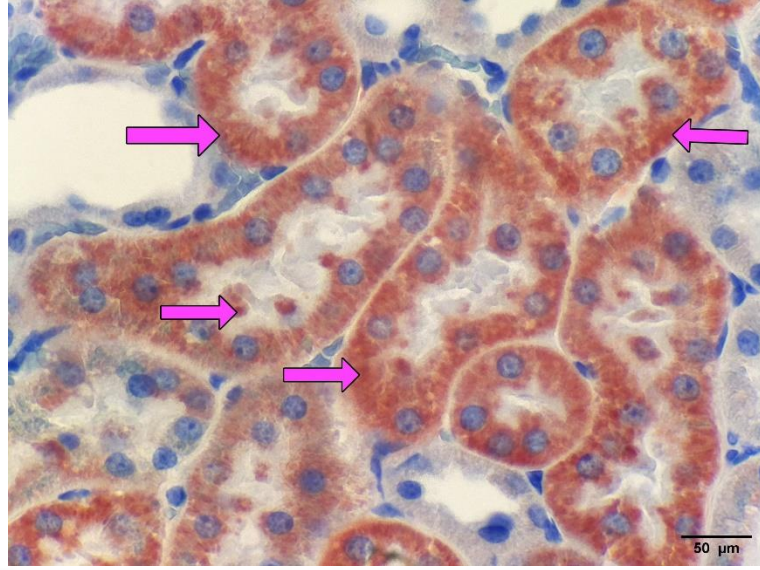
Şekil 77: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette proksimal tubüllerde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette proksimal tubüllerde immunopozitiflik (yeşil ok), (pembe ok). (M-H: bar:50 µm).



Şekil 78: Diyabet grubuna ait böbrek medullasının İrisin immunoreaktivitesi. Kuvvetli şiddette toplayıcı borucuklarda immunopozitiflik (pembe ok). (M-H: bar:50 µm).



Şekil 79: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette tubulus proksimalislerde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette tubulus proksimalislerde immunopozitiflik (yeşil ok), kuvvetli şiddette tubulus proksimalislerde immunopozitiflik (pembe ok). (M-H: bar:200 µm).



Şekil 80: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin İrisin immunoreaktivitesi. Kuvvetli şiddette tubulus proksimalislerde immunopozitiflik (pembe ok). (M-H: bar:200 µm).

5.6.3. Testis Dokusu Asprosin İmmünoreaktivitesi

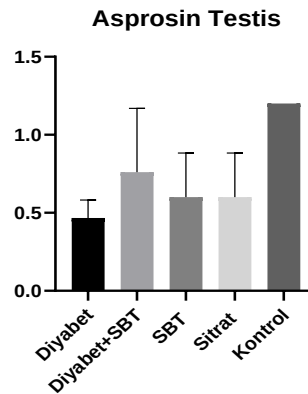
Kontrol grubuna ait testis dokusu Asprosin immünoreaktivitesine bakıldığında Kontrol grubu Leydig hücrelerinde zayıf ve orta şiddette boyama yoğunluğuna sahip pozitif hücrelere rastlanıldı (82,83). Spermatojenik hücrelerde herhangi bir pozitif hücre gözlenmedi. Sitrat ve SBT grubu boyamaları Kontrol grubu ile benzerlik gösterdi (84-87).

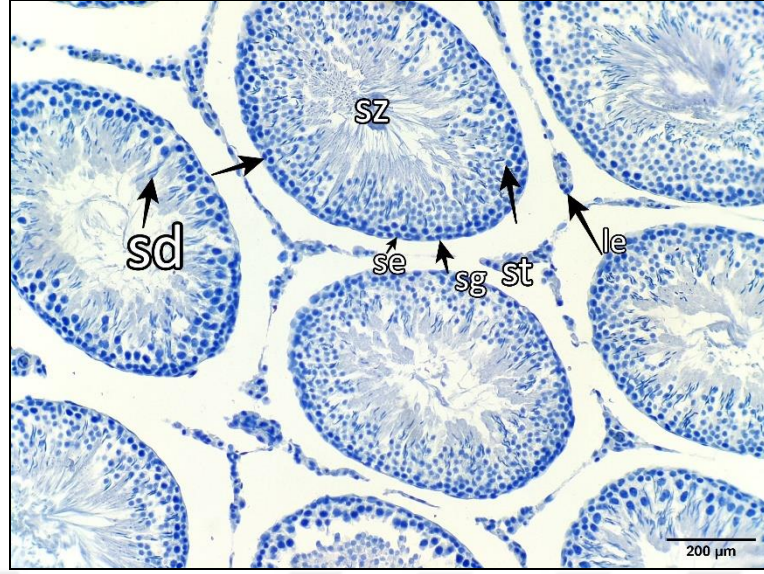
Diyabet grubuna ait testis dokusu Asprosin immünoreaktivitesine Leydig hücrelerinde zayıf şiddette boyama yoğunluğuna sahip pozitif hücrelerde gözlemlendi (88,89). Diyabet + SBT grubuna ait Asprosin immunoreaktivitesine bakıldığında ise, Leydig hücrelerinde zayıf ve orta şiddette boyama yoğunluğuna sahip immunopozitiflik görüldü (90,91).

Elde edilen sonuçlardan yapılan histoskor sonucuna göre Kontrol, Sitrat ve SBT grubu Asprosin immnoreaktivitesinin benzer olduğu görüldü. Diyabet grubu testis dokusu Asprosin immnoreaktivitesinin Kontrol grubuna göre azaldığı izlendi. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Diyabet ve Diyabet + SBT grubu kıyaslandığında ise Diyabet + SBT grubunda Asprosin immnoreativitesinin arttığı görüldü. Negatif kontrol preperatlarında pozitiflik gözlenmedi (şekil 81). Testis dokusunda Asprosinin immnoreaktivite skorumları Tablo 27’da verildi.

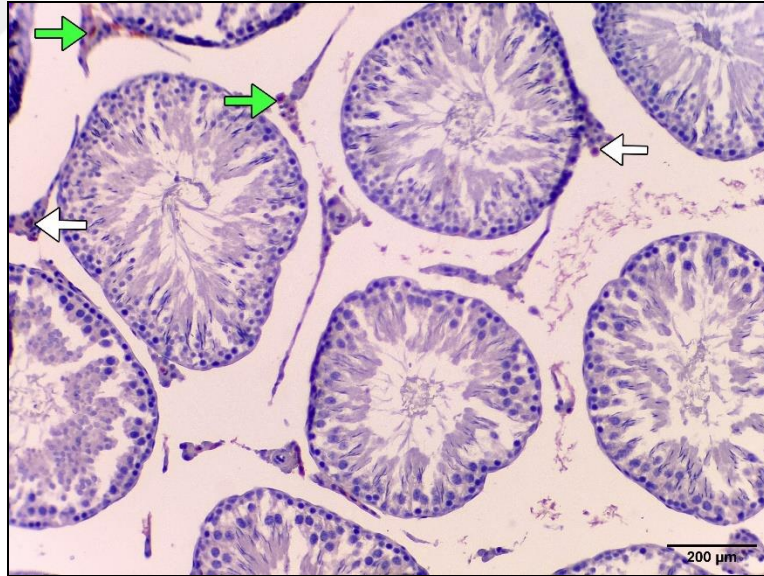
Tablo 27: Testis dokusunun Asprosin immnoreaktivitesi skorumları (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet+SBT
1,2±0	0,6±0,28	0,6±0,28	0,47±0,12	0,76±0,41

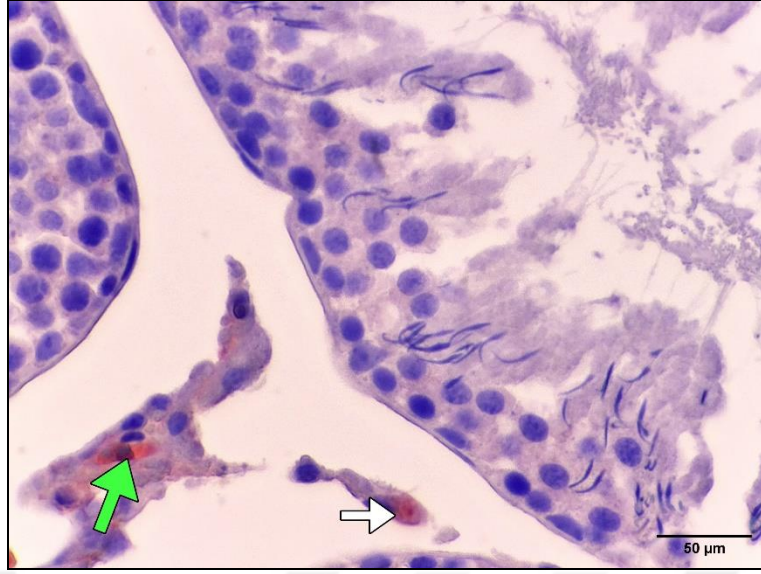




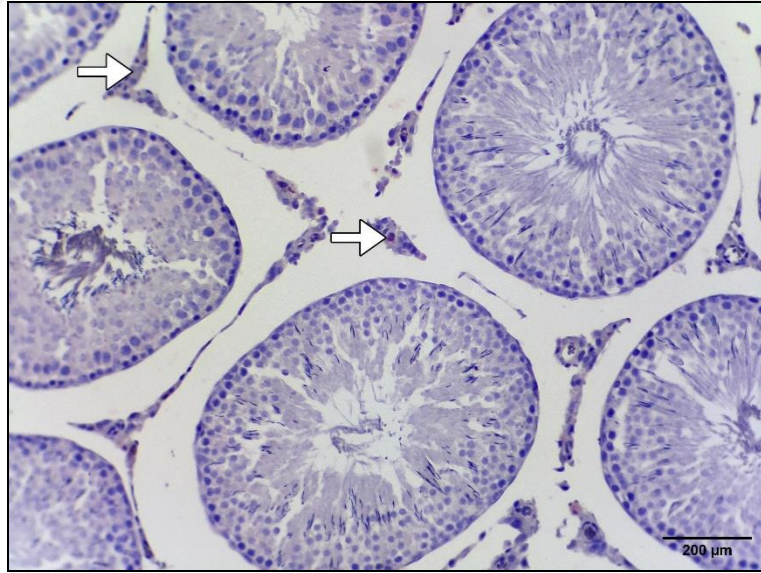
Şekil 81: Negatif kontrol gruba ait testis dokusunun immunoreaktivitesi Spermatogonium (sg), spermatosit (sp), spermatid (st), spermatozoa (sz), endocrinocytus interstitialis (Leydig hücresi) (le), epitheliocytus sustentans (sertoli hücresi) (se). (M-H: bar:200 µm).



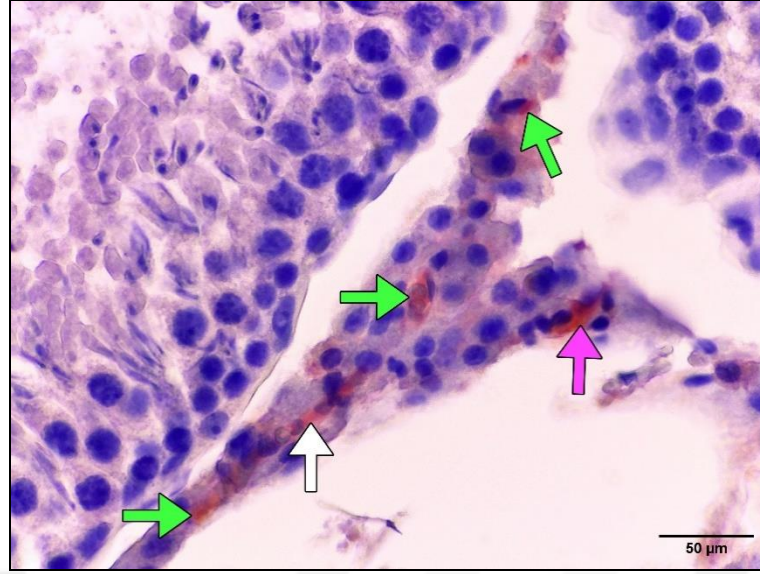
Şekil 82: Kontrol grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H: bar:50 µm).



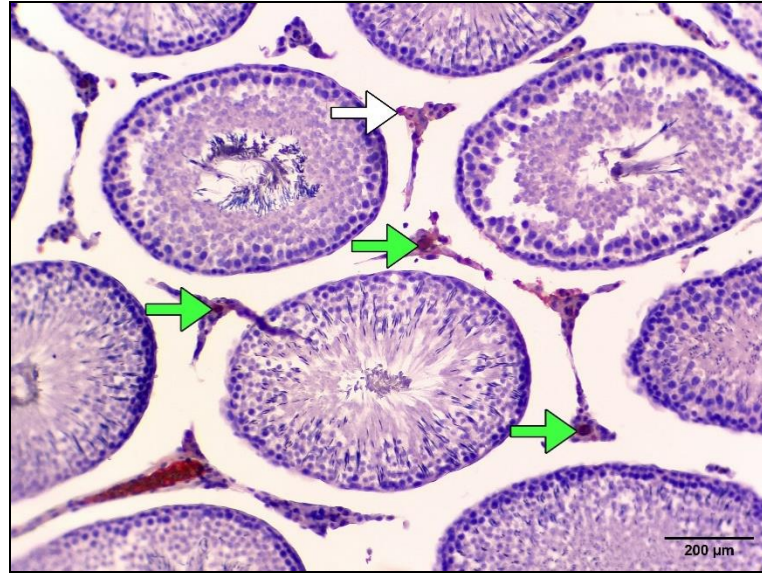
Şekil 83: Kontrol grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H: bar:50 µm).



Şekil 84: Sitrat grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok). (M-H: bar:200 µm).



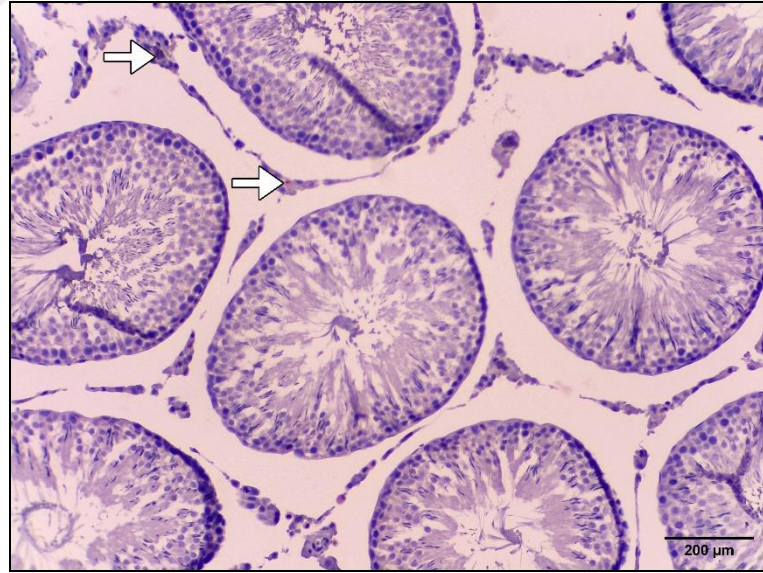
Şekil 85: Sitrat grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok), orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (yeşil ok), kuvvetli şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (pembe ok). (M-H: bar:50 µm).



Şekil 86: SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok), Orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H: bar:200 µm).



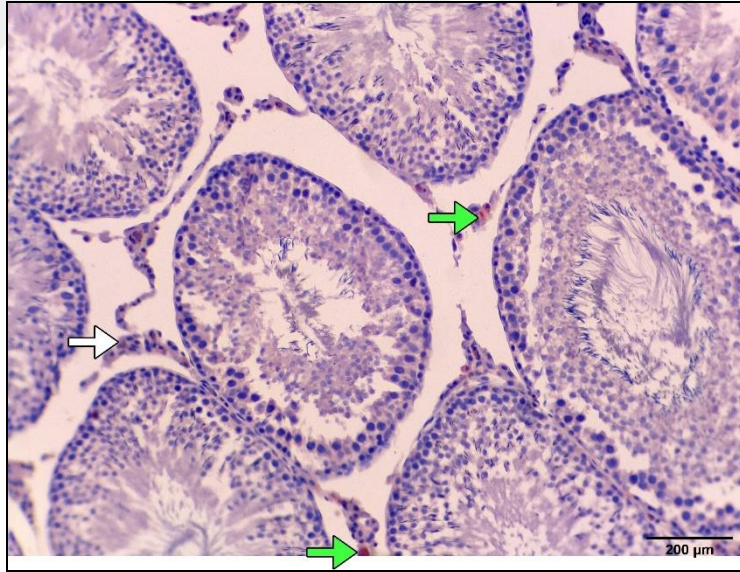
Şekil 87: SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücrelerinde immunopozitiflik (beyaz ok). Orta şiddette Leydig hücrelerinde immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H: bar:50 µm).



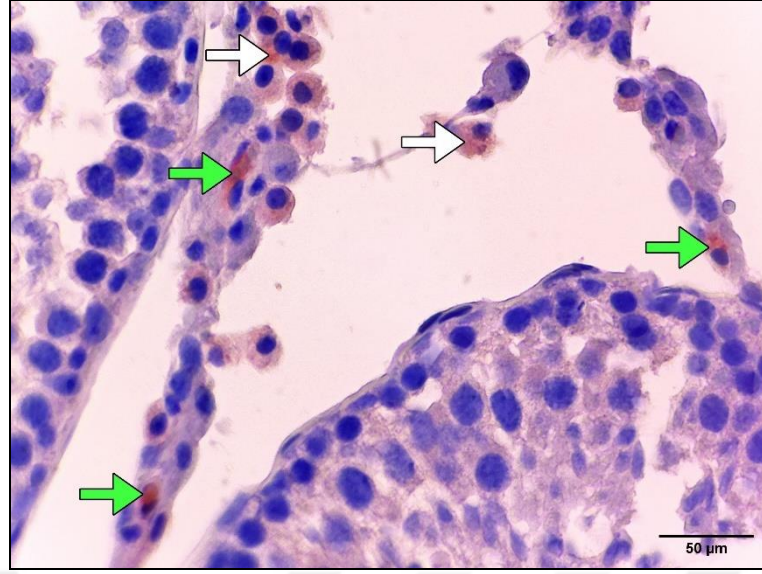
Şekil 88: Diyabet grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücrelerinde immunopozitiflik (beyaz ok). (M-H: bar:200 µm).



Şekil 89: Diyabet grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosin immunoreaktivitesi. Orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H: bar:50 µm).



Şekil 90: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok). Orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H: bar:200 µm).



Şekil 91: Diyabet + SBT grubuna ait testis dokusunun Leydig hücrelerinde Asprosine immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (beyaz ok). Orta şiddette Leydig hücresinde immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H: bar:50 µm).

5.6.4. Böbrek Dokusu Asprosine İmmünoreaktivitesi

Böbrek dokusu Asprosine immünoreaktivitesinin incelenmesi sonucunda Kontrol grubuna ait böbrek dokusunun korteksinde pozitif hücelere rastlanıldı. Kortekste yer alan glomeruluslarda zayıf ve orta şiddette ve proksimal tubullerde zayıf ve kuvvetli şiddette boyama yoğunluğuna sahip pozitif hücelere rastlandı. Henle kulpu ve medullada yer alan toplayıcı borucuklarda pozitif hücelere rastlanılmadı. (Şekil 93,94). Sitrata ve SBT grubu Asprosine immunoreaktivitesi kontrol grubu ile benzer sonuçlar gösterdi (Şekil 95-97).

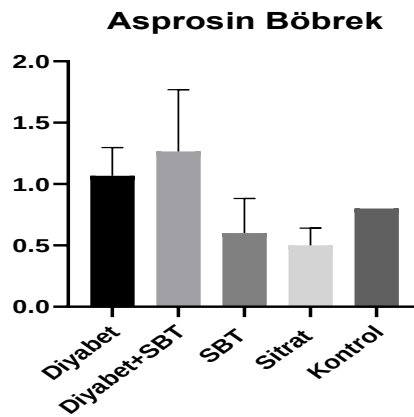
Diyabet grubu böbrek Asprosine immünoreaktivitesine, kortekste yer alan glomeruluslarda zayıf şiddette, proksimal tubullerde kuvvetli şiddette ve medullada yer alan toplayıcı borucuklarda ise kuvvetli şiddette boyama

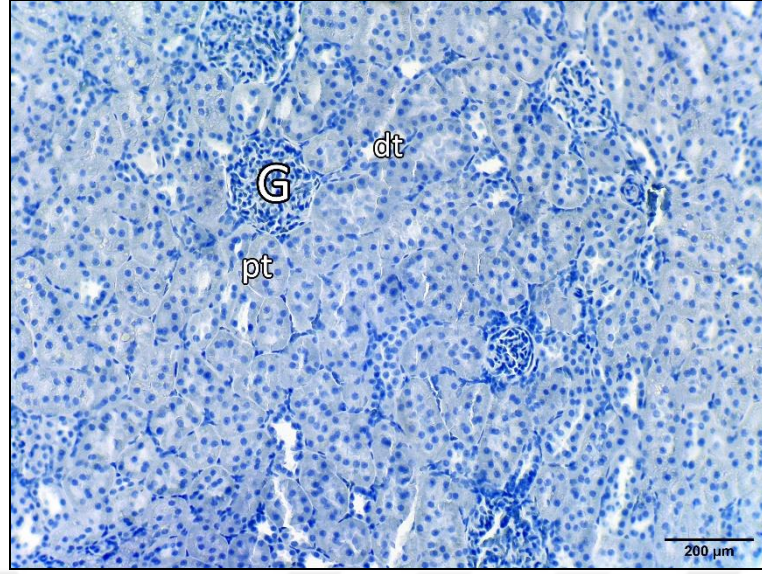
yoğunluğuna sahip pozitif hücrelere rastlanıldı (Şekil 97,98). Diyabet + SBT grubunda ise proksimal tubullerde ve medullada yer alan toplayıcı borucuklarda kuvvetli şiddette boyama yoğunluğuna sahip pozitif hücreler gözlemlendi (99,100). Diyabet + SBT grubuna ait toplayıcı borucuklarda kuvvetli ve yoğun boyanan pozitif hücreler gözlemlendi (Şekil 101).

İmmün boyama sonucu ile histoskor değerlendirmesi sonucunda Kontrol Sitrat ve SBT grubu Asprosin immunoreaktivitesinin benzer olduğu Diyabet grubu immünoreaktivitenin ise artmış olduğu gözlemlendi. Diyabet +SBT grubu Asprosin immunoreaktivitesi değerlendirildiğinde ise Diyabet +SBT grubunda artmış olduğu gözlemlendi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı belirlendi (Tablo 28). Negatif kontrol grubunda pozitiflik gözlenmedi (Şekil 92).

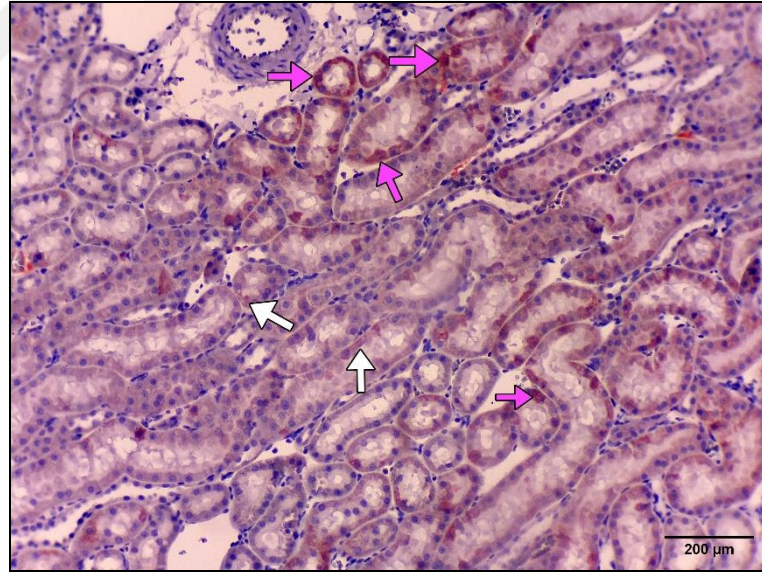
Tablo 28: Böbrek dokusunda Asprosinin immunoreaktivitesinin skorlaması (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet+SBT
0,8±0	0,5±0,14	0,6±0,28	1,1±0,23	1,3±0,50

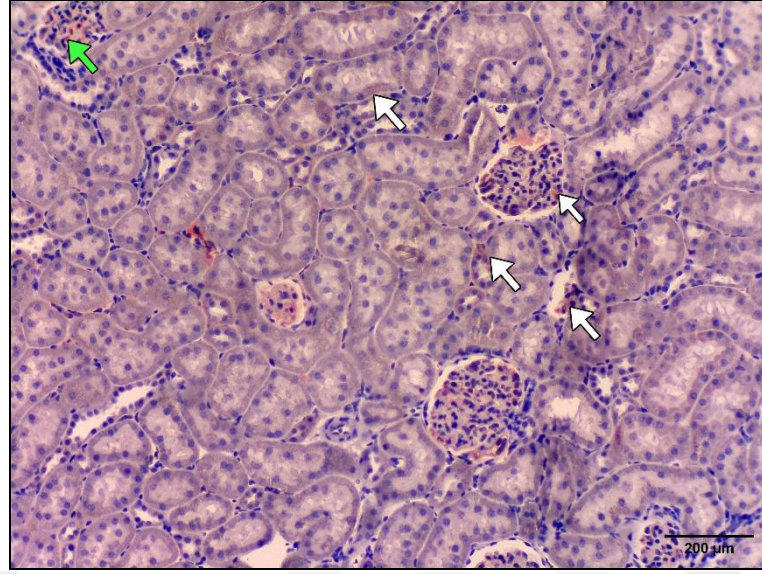




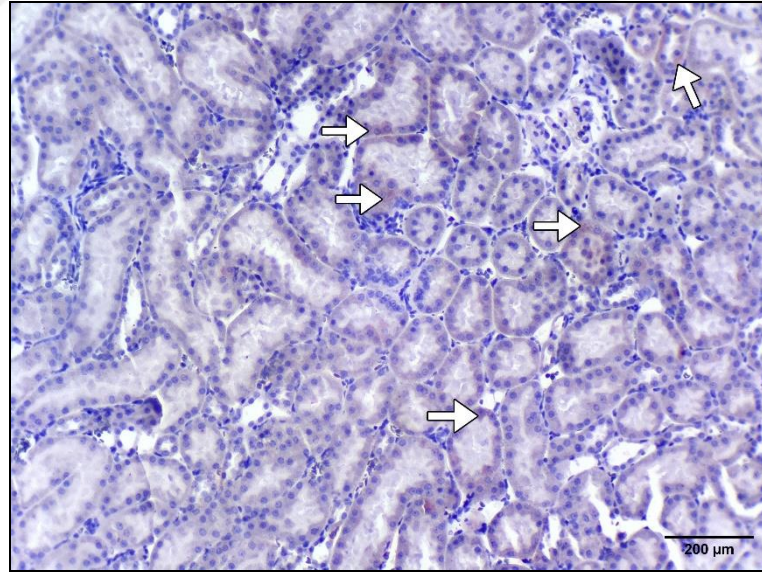
Şekil 92: Negatif kontrol grubuna ait böbrek korteksinin immunoreaktivitesi. Glomerulus (G), proksimal tubul (pt), distal tubul (dt). (M-H: bar:50 µm).



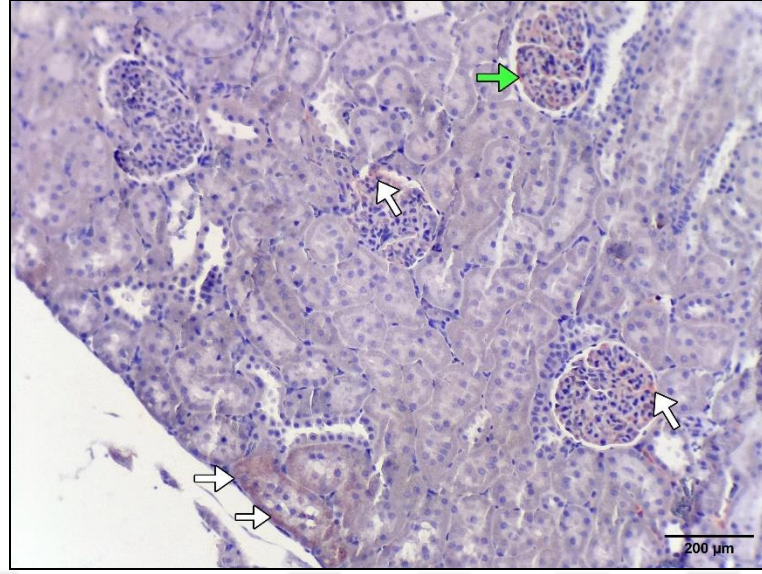
Şekil 93: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf kuvvette proksimal tubullerde immunopozitiflik (Beyaz ok), Kuvvetli şiddette proksimal tubullerde immunopozitiflik (pembe ok). (M-H bar:200 µm).



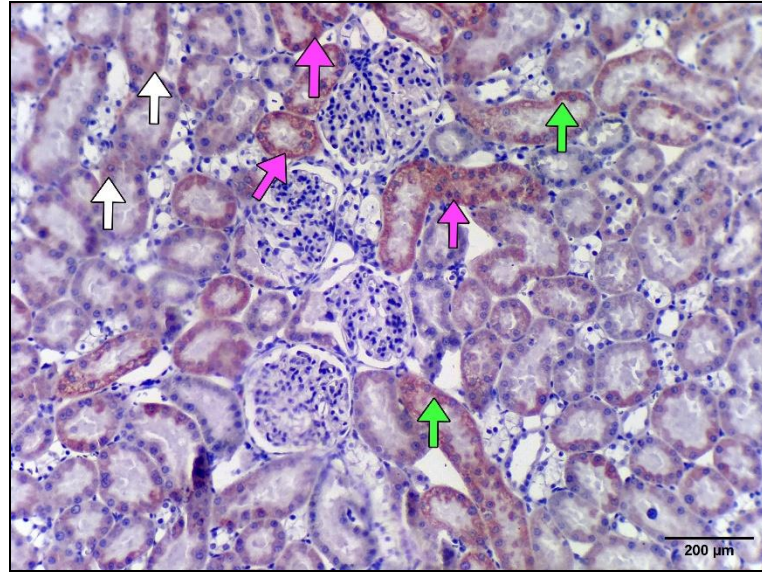
Şekil 94: Kontrol grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette proksimal tubullerde ve glomeruluslarda immunopozitiflik (beyaz ok). Orta şiddette glomerulusta immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H bar:200 µm).



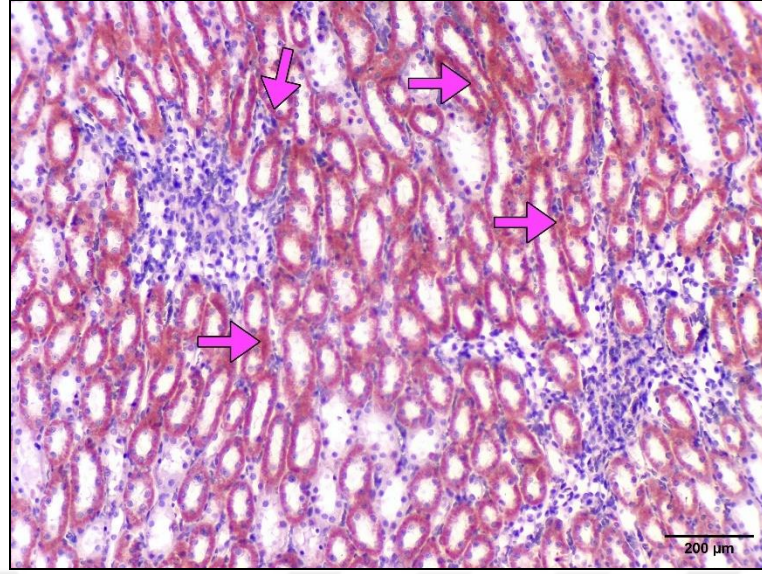
Şekil 95: Sitrat grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette proksimal tubullerde ve distal tubullerde immunopozitiflik (beyaz ok). (M-H bar:200 µm).



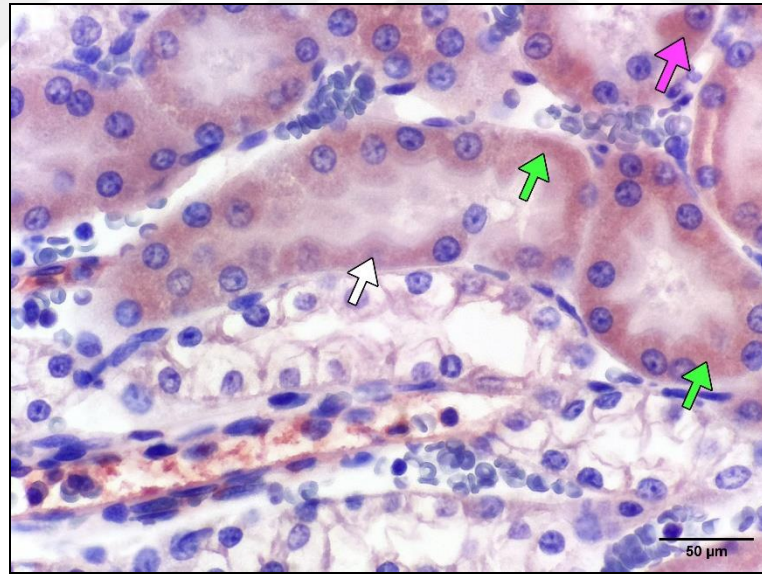
Şekil 96: SBT grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette glomerulus ve proksimal tubullerde immunopozitiflik (beyaz ok). Orta şiddette glomerulusta immunopozitiflik (yeşil ok). (M-H bar:200 µm).



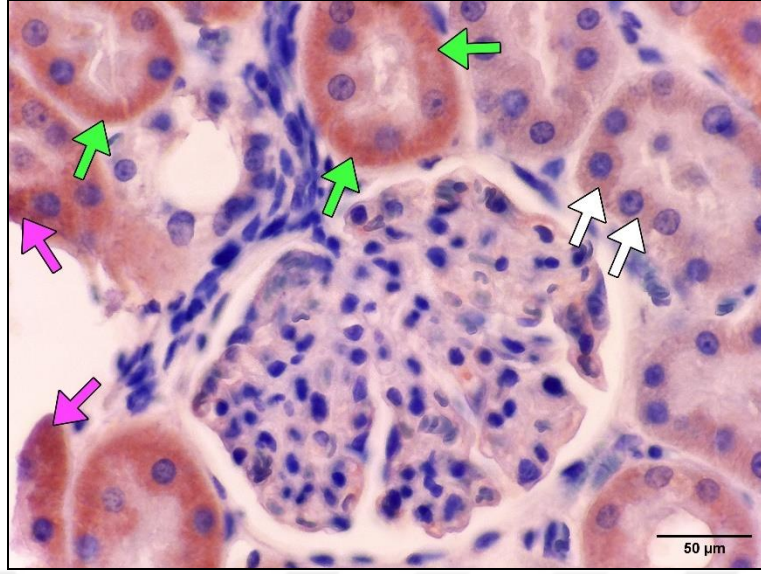
Şekil 97: Diyabet grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette proksimal tubullerde immunopozitiflik (beyaz ok). Orta şiddette proksimal tubullerde immunopozitiflik (yeşil ok), kuvvetli şiddette proksimal tubullerde immunopozitiflik (pembe ok). (M-H bar:200 µm).



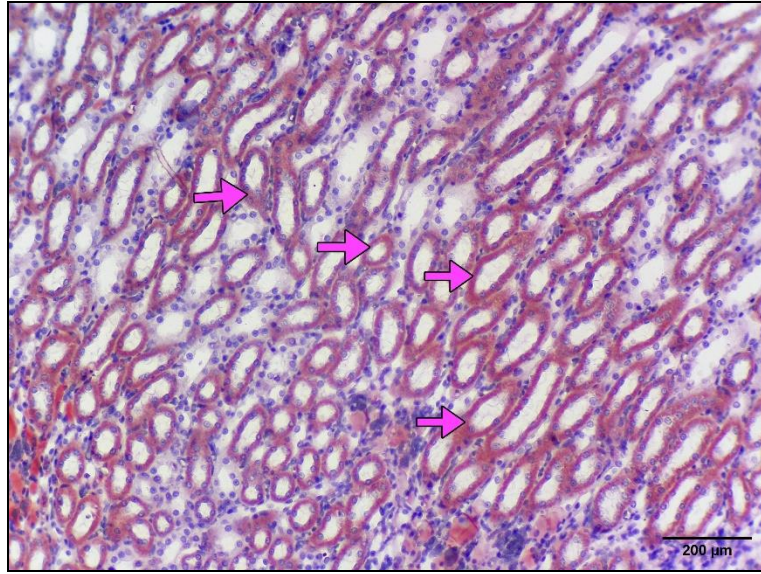
Şekil 98: Diyabet grubuna ait böbrek medullasının Asprosin immunoreaktivitesi. Kuvvetli şiddette toplayıcı borucuklarda immunopozitiflik (pembe ok). (M-H, bar:200 µm).



Şekil 99: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette proksimal tubullerde immunopozitiflik (beyaz ok). Orta şiddette proksimal tubullerde immunopozitiflik (yeşil ok), kuvvetli şiddette proksimal tubullerde immunopozitiflik (pembe ok). (M-H bar:50 µm).



Şekil 100: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek korteksinin Asprosin immunoreaktivitesi. Zayıf şiddette proksimal tubüllerde immunopozitiflik (beyaz ok). Orta şiddette proksimal tubüllerde immunopozitiflik (yeşil ok), kuvvetli şiddette proksimal tubüllerde immunopozitiflik (pembe ok). (M-H bar:50 µm).



Şekil 101: Diyabet + SBT grubuna ait böbrek medullasının Asprosin immunoreaktivitesi. Kuvvetli şiddette toplayıcı borucuklarda immunopozitiflik (pembe ok). (M-H bar:200 µm).

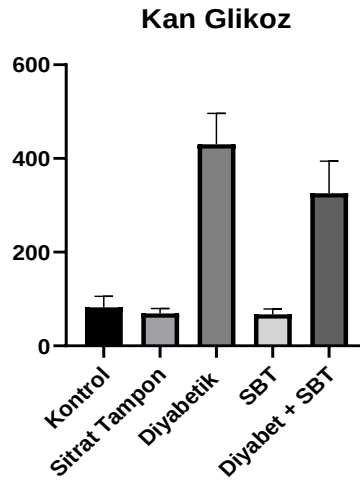
5.7. Biyokimyasal Bulgular

5.7.1. Kan-Glikoz Değerlendirilmesi

Diyabet grubuna ait ratların kan-glikoz değeri Kontrol, Sitrat ve SBT grubuna göre artmış olduğu izlendi. Bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Diyabet + SBT grubuna ait ratların kan-glikoz değeri, Kontrol ve Sitrat grubuna göre artmış olup, istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$). Diyabet ve Diyabet + SBT grubuna ait ratların kan-glikoz değeri karşılaştırıldığında, Diyabet + SBT grubunda azalma belirlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Deney sonrası kan-glikoz değerleri Tablo 29’da verildi.

Tablo 29: Gruplar Arası Kan-Glikoz Değişimleri (Ort $\pm$ ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet + SBT
82 $\pm$ 23	69 $\pm$ 11	67 $\pm$ 12	430 $\pm$ 66	326 $\pm$ 69

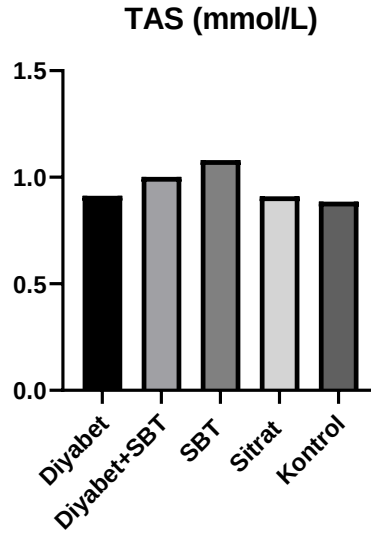


5.7.2. TAS- TOS Değerlendirme Sonuçları

Araştırmada, kan serumlarından elde edilen TAS ve TOS seviyesi değerlendirildiğinde TAS değerinin SBT grubunda anlamlı bir şekilde arttığı görüldü. Kontrol grubu ile SBT grubu değerlendirildiğinde SBT grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). SBT ve Sitrat grubu değerlendirildiğinde, SBT grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Aynı şekilde diyabetik gruba göre SBT grubunda artış istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0,05$). Serum TAS değeri Tablo 30 da verildi.

Tablo 30: Serum TAS değeri (Ort $\pm$ ss)

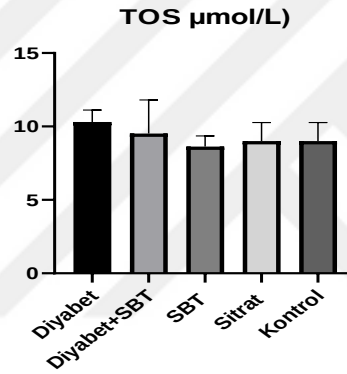
Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet+SBT
0,89 $\pm$ 0,089	0,91 $\pm$ 0,089	1,1 $\pm$ 0,11	0,91 $\pm$ 0,054	1,0 $\pm$ 0,10



TOS değeri incelendiğinde ise en yüksek değer Diyabet grubunda görüldü. Kontrol ve Sitrat grubu benzer değerler gösterdi. SBT grubu ise en düşük TOS değerine sahipti. SBT grubu Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,05$). Serum TOS değeri Tablo 31’da verildi.

Tablo 31: Serum TOS değeri (Ort $\pm$ ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet+SBT
9 $\pm$ 1,3	9 $\pm$ 1,3	8,6 $\pm$ 0,72	10 $\pm$ 0,82	9,5 $\pm$ 2,3

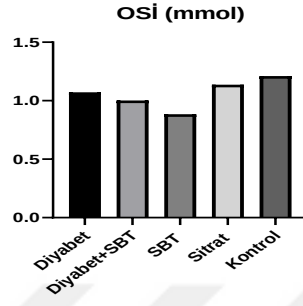


5.7.2.1. Oksidatif Stres indeksi (OSİ) Hesaplanması

Elde edilen sonuçlarda Diyabet grubunda OSİ değerinin düştüğü gözlemlendi. En yüksek OSİ değerinin ise SBT grubunda olduğu izlendi. SBT ve Kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Serum OSİ değeri Tablo 32’de verildi.

Tablo 32: Serum OSI değeri (Ort±ss)

Kontrol	Sitrat	SBT	Diyabet	Diyabet+SBT
1,2±0,37	1,1±0,27	0,88±0,010	1,1±0,093	1,0±0,18



6. TARTIŞMA

Diyabetes mellitus tüm dünyada özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde yaygın olarak görülen, kan ve idrar sonuçları ile teşhis edilebilen, hiperinsülinemi, hiperlipidemi, hiperglisemi gibi komplikasyonlar ile karakterize bir hastalıktır (1). Önlemi alınmadığı takdirde akut ve kronik komplikasyonların sonucunda ölümcül bir hal almaktadır.

Diyabet vucutta makrovasküler ve mikrovasküler bozukluklara neden olmaktadır Makrovasküler bozukluklar sonucu; mortalite ile sonuçlanan koroner kalp hastalığı, iskemik inme ve periferik vasküler hastalıklar görülür. Mikrovasküler bozukluklar ise, diyabetik nefropati, nöropati, retinopati ve erektil fonksiyon bozukluklarını içermektedir (1,12). Daha önce yapılan çalışmalarda, diyabetli hayvanların testis dokularında; hipofiz-hipotalamik sistem bozuklukları, cinsel davranış parametrelerinin değişmesi, histolojik değişiklikler sonucu meydana gelen eşey hücrelerindeki bozukluklar ve beraberinde infertilite problemlerini ortaya çıkardığı görülmüştür. Aynı zamanda yüksek hiperglisemi sonucu böbrek fonksiyonları ile böbrek histolojisinde meydana gelen bozukluklar sonucu üriner sistemde hasarlar oluştuğu bilinmektedir (109,110).

Yüksek hipergliseminin, vücuttaki antioksidan/oksidan dengesinde meydana getirdiği bozukluklar, oksidatif stresin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bozulan dengenin yeniden kurabilmesi adına antioksidan yönünden zengin olduğu bilinen birçok antioksidan kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (106,107).

Sea buckthorn (SBT) zengin içeriği ile antioksidan maddelerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. SBT gerek yaprak gerekse kök ve meyvelerinde

omega-6, omega-3 yağ asitleri yanında ayrıca tokoller ve fitosteroller içeren zengin bir antioksidan maddedir (90,91). SBT'nin anti ülserojenik, antioksidan (93,94), antibakteriyel, antiviral (102,103) ve antidiyabetik (88,105,106,107) etkilerinin de olduğu ortaya konulmuştur.

Sunulan tez çalışmasında, deneysel STZ ile oluşturulan diyabet sonrası meydana gelen oksidatif stres ile testis ve böbrek dokusunda meydana gelen hasarlara karşı antioksidan etkiye sahip SBT'nin etkisi incelenmiştir.

Deneysel olarak diyabet hastalığının ortaya konulması için; cerrahi yöntemler, kimyasal maddeler, diyet ve besin aracılığıyla oluşturulan modeller, spontan modeller ve transgenik hayvan modelleri olmak üzere birçok metot kullanılmaktadır. Diyabette en çok tercih edilen model kimyasal ajan olarak STZ kullanılan yöntemdir (16).

Ganda ve ark. (1976) erişkin erkek sıçanlarda insüline bağlı Tip I diyabet modeli oluşturmak için i.p. olarak tek doz olacak şekilde 40-60-mg/kg doz STZ uygulamıştır. Aynı şekilde İnsüline bağlı olmayan Tip II diyabet oluşturmak için yeni doğmuş sıçanlara tek doz 100mg/kg uygulamıştır (22). Laddha ve ark. (2022) nefropati sonrası mesane disfonksiyonunu incelemek için deneysel diyabet modeli oluşturduğu ratlara 55mg/kg dozunda STZ i.p. uygulamış ve kan glikoz seviyesi 250 mg/dl üzerinde olanları diyabetik olarak kabul etmişlerdir. Bu çalışmada deney 6 hafta boyunca devam etmiştir (133). Alharbi ve ark. (2022) STZ ile indüklenen diyabet modelinde tek doz 50mg/kg dozda kan-glikoz seviyesinin 200 mg/dl üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul etmiş olup 4 hafta boyunca deney

devam etmişlerdir (134). An ve ark. (2022) Wistar sıçanlarına 45 mg/kg dozda STZ uygulayarak 8 hafta boyunca deneye devam etmişlerdir (135).

Yapılan çalışmada, diyabet grubumuzda bulunan ratlara STZ maddesi 50mg/kg dozunda i.p. olacak şekilde uygulandı ve deney 8 hafta boyunca devam etti. STZ uygulamasından 24 saat sonra kuyruk veninden alınan kanlardan yapılan ölçümlerde kan-glikoz değeri 250 mg/dl ve üzeri olan ratlar diyabetik kabul edildi. Çalışma daha önce yapılan literatürler ile benzerlik göstermiş olup ratlar diyabet kabul edilecek değerlere ulaşmıştır.

Daha önceki çalışmalarda Zhang ve ark. (2010) STZ ile diyabet modeli oluşturduğu ratlara SBT takviyesi vermişlerdir. SBT takviyesi uyguladıkları diyabetik grupta kan-glikoz değerinin düştüğünü gözlemlemişlerdir (107). Aynı zamanda Wang ve ark. (2011) çalışmalarında yüksek yağlı diyet ile beslenen farelere uyguladığı SBT'nin kan glikoz değerini düşürdüğünü izlemişlerdir (105).

Çalışmada diyabet grubuna göre SBT yağı uyguladığımız diyabetik ratlarda kan-glikoz değerinin düşmüş olduğu gözlemlendi. Elde ettiğimiz bu veriler literatürlerle benzer olup antioksidan madde olarak verdiğimiz SBT yağının diyabet sonrası serbest radikaller tarafında meydana gelen oksidatif strese karşı antioksidan içeriğin etkili olduğunu düşündürdü.

Diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda yüksek hiperglisemiden kaynaklı canlı ağırlıklarında kayıplar yaşanmaktadır. Örneğin Raish ve ark. (2022) ve Kanter ve ark. (2013) yaptığı STZ ile indüklenen diyabet çalışmasında canlı ağırlık kaybının kontrol grubuna göre diyabet grubunda azaldığını tespit etmişlerdir (136,138). Özaydın ve ark. (2021) testis dokusunda yapmış olduğu

başka bir çalışmada aynı şekilde diyabet grubunda kilo kaybı izlendiğini tespit etmişlerdir (137).

Yapılan başka çalışmalarda Yuan ve ark. (2017) diyabetik sonrası meydana gelen canlı ağırlık kaybına karşı, SBT'nin kilo kaybını önlediğini tespit etmişlerdir (139). Yuan ve ark. (2018) yine yapmış olduğu başka çalışma bir önceki makaleleri ile tutarlı olarak, SBT'nin diyabetin neden olduğu kilo kaybını engelleyebileceğini göstermiştir (140). Zeb ve Ulah (2015) SBT'nin 14 gün boyunca farklı dozlarda tavşanlarda kullanıldığında canlı ağırlık artışına neden olduğunu ortaya koymuşlardır (141).

Sunulan çalışmada Diyabet grubu ratların canlı ağırlığının, Kontrol, Sitrat ve SBT gruplarına göre istatistiksel olarak azaldığı tespit edildi. Elde edilen bu veriler diğer çalışmalar ile uyumludur. Ayrıca çalışmada antioksidan madde olarak SBT yağı kullandığımız ratlarda canlı ağırlık miktarının, Kontrol ve Sitrat grubuna göre arttığı gözlemlendi. Aynı zamanda Diyabet + SBT grubundaki ratların canlı ağırlık miktarı diyabetik ratlara göre arttığı görüldü. Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar literatür ile benzerdir Elde ettiğimiz bu sonuçlar SBT 'nin zengin içeriğinin diyabet sonrası meydana gelen canlı ağırlık kaybını azalttığı sonucunu doğurmuştur.

Kanter ve ark. (2013) ve Ghosh ve ark. (2019) STZ ile diyabet oluşturdukları ratlarda 8 haftalık deney süresi sonunda hem canlı ağırlık hem de testis ağırlığında azalma tespit etmişlerdir (138,142). Scarano ve ark. (2006) kısa süreli STZ ile diyabet oluşturdukları çalışmada 22 gün sonunda canlı ağırlıkta azalma görülürken diğer çalışmaların aksine testis ağırlığında artış görmüşlerdir

(143). Özaydın ve ark. (2021) 4 haftalık STZ uygulamasından sonra Koenzim Q 10 etkisine baktıkları çalışmada gruplar arası testis ağırlığında belirgin bir fark elde etmemişlerdir (137).

Sunulan çalışmada testis ağırlığında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değerler bulunmamıştır. Rölatif testis ağırlığında diyabetik gruplarda azalma görülmüş olsa bile istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmamıştır. Bu bilgiler ışığında diyabetin canlı ağırlığını etkilediği ancak canlılığın testis ağırlığını koruduğu sonucunu ortaya çıkarmıştır. SBT yağı kullanılan diyabetik ratların testis ağırlığında değişiklik olmaması SBT'nin testis ağırlığına herhangi bir etkisinin olmadığı sonucunu ortaya çıkarmıştır.

Zafar ve ark. (2010) ve Grover ve ark. (2001) yapmış olduğu çalışmada STZ ile indüklenen diyabetik ratların yüksek hiperglisemiden kaynaklı canlı ağırlık kaybı yaşadığını bununla birlikte böbrek ağırlıklarının arttığını rapor etmişlerdir (144,145). Hücre kültürü çalışmalarında yüksek şekere maruz kalan diyabetik böbrek hücrelerinde büyüme gözlenmiştir. (146).

Yapılan çalışmada STZ sonrası böbreklerde yüksek hiperglisemiden kaynaklı diyabetik grupların böbrek ağırlığının artmış olduğu görülmüştür. Elde edilen tüm bu veriler literatür ile benzerdir. SBT yağı uyguladığımız ratların böbrek ağırlıklarının kontrol grubuna göre düşmüş olduğu gözlemlendi. Bu da bize SBT'nin yoğun hiperglisemiye engelleyerek, böbreklerde hipertrofiyi önlediğini düşündürdü.

Erkek hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalar sonucu diyabetin meydana getirdiği cinsel işlev bozukluğu Tip 1 ve Tip 2 diyabetli hastalarda yaygın

komplikasyon olarak karşımıza çıkmaktadır. Erkek üreme sistemi üzerine diyabetin etkisine bakıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Newsholme ve ark. (2016) sperm kalitesi ile diyabet arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmada oksidatif stres sonucu ortaya çıkan radikallerin, sperm kalitesini etkilediği görülmüştür. Bu durumun yüksek glikoz içeriği nedeniyle, oksidatif stresi tetiklemesinden meydana gelebileceği belirtmişlerdir (46).

Diyabetin erkek genital sistem üzerindeki etkisini incelemek için sperm motilitesi, yoğunluğu ve anormalitesinin incelenmesi önemlidir. Yapılan birçok çalışmada doğurganlık potansiyelini ortaya koymak için sperm morfolojisi, sperm sayısı ve hareketliliği üzerine çelişkili sonuçlara rastlanılmıştır. Casado ve ark. (2010) farklı STZ dozları ve farklı aylarda kesilmiş diyabetik hayvanlara ait spermelerde anormal sperm sayısına rastlamışlardır. Buna karşın sperm yoğunluğunda azalma görülmüştür. Sperm motilitesinde ise herhangi bir değişiklik görülmemiştir (147). Khaki ve ark. (2010) STZ kaynaklı diyabete karşı quercetini kullandığı çalışmalarında diyabette sperm sayıları, sperm canlılığı ve hareketlilik yüzdelерinin azaldığını buna karşı quercetin ile muamele edilen diyabetik hayvanların doğurganlık parameterelerinin arttığını gözlemişlerdir (148).

Sunulan çalışmada diyabetik ratların sperma yoğunluğu ve motilitesinin azaldığını tespit edildi. Bunun yanında diyabetik ratlarda sperm anormalitesinin çok değişmediği görüldü. Elde edilen bu veriler daha önce yapılan çalışmalarla uyumludur. Testiküler hasarı önlemesi bakımından kullandığımız SBT yağının daha önce sperm üzerine etkisinin ortaya konulduğu çalışmalara rastlanılmadı. SBT'nin diyabet kaynaklı azalan motilite ve yoğunluğu arttırdığı tespit edildi.

Bunun yanında sadece SBT yağı ile muamele edilen ratların anormalite değeri çok düşüktü. Bu da diyabet dışında sperm kalitesi bozukluklarında kullanılabileceği görüşünü doğurmuştur.

STZ ile oluşturulan diyabet modelinde ratların testislerinde histopatolojik olarak, tunika albugeniada, seminifer tubullerde atrofi ve dejenerasyon, interstisyel bağ dokuda artış ve Leydig hücrelerinde ayrılmalar gibi değişiklikler gözlenmiştir (45,149). Yalçın ve ark. (2018) STZ ile indükledikleri diyabet sonrası ratların testislerinde H-E boyamasında tubullerde atrofi, dejenerasyon peritübüler konjesyon ve PAS boyamasında ise bazal membranda kalınlaşma görmüşlerdir (150).

Sunulan çalışmada Kontrol grubuna göre Diyabet grubunda seminifer tubul epitelinde dejenerasyon ile spermatojenik hücre sayısında azalma görüldü. PAS (+) bazal membranda kalınlaşma Crosmann boyamasında ise intersitieteyel fibröz dokuda artış görüldü. Yapılan çalışmada testis histopatolojik sonuçları literatürler ile uyumaktadır. Sadece SBT yağı uygulanan ratların spermatojenik aktivitesinin arttığı gözlemlendi. Antioksidan olarak kullandığımız Diyabet + SBT grubuna ait sonuçları değerlendirdiğimizde Diyabet + SBT grubunda bu değişikliklerin azalmış olduğu izlendi.

Aynı zamanda Shokoohi ve ark. (2018) ve Barsiah ve ark. (2019) yapmış oldukları çalışmada diyabetik hayvanlarda seminifer tubul çapının ve germinatif epitel çapının kontrol grubuna göre azalmış olduğunu gözlemişlerdir (39,151). Jelodar ve ark. (2009) yapmış oldukları çalışmada Alloksan ile indüklenen

diyabette tubul çapının kontrol grubuna göre azalmış olduğunu tespit etmişlerdir (152).

Sunulan çalışmada germinatif epitel kalınlığı ve tubul çapı ölçüldü. Kontrol grubuna göre diyabetik hayvanlarda germinatif epitel kalınlığı ve tubul çapının azaldığı tespit edildi. Elde edilen bu veriler literatürler ile benzerdir. Buna karşın Diyabet grubuna göre Diyabet +SBT grubunda germinatif epitel kalınlığı ve tubul çapının arttığı gözlendi.

Işık mikroskobu ile yapılan daha önceki diyabetik nefropati çalışmalarında böbrekte yapısal-fonksiyonel değişikler ortaya konulmuştur. STZ ile oluşturulan diyabet sonrası meydana gelen nefropatide öncelikle erken dönemlerde glomerul ve tubullerde atrofi, tubullerde meydana gelen vakuolizasyon, mezengiyal matriks miktarında artış, tubul bazal membranında kalınlaşma gibi birçok histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir (153,154). Aboonabi ve ark. (2014) STZ ile yaptığı çalışmada bowman kapsülünde daralma ile proksimal tubullerin epitellerinde patolojik değişikliklere rastlanılmıştır (155). Yine başka bir çalışmada glomerul ve tubullerde hipertrofi, tubul ve bazal membranında kalınlaşma, tubuler vakuolizasyon gibi histopatolojik değişikliklere rastlanılmıştır (156).

Sunulan çalışmada tubuler hasar yönünden skorlamaya tabi tutulmuş olan böbrek dokularında diyabetik olan hayvanların tubul hasarının kontrol grubuna göre artmış olduğu gözlendi. Bunun yanında PAS (+) ile boyanan preparatlarda tubullerin mikrovillus içeren epitellerinde dökülmelere ve bowman kapsülünün bazal membranında kalınlaşmalara rastlanıldı. Elde edilen veriler literatürler ile uyum gösterdi. STZ uygulanması sonrası artan hiperglisemi ile fazla glikozun

glomerul ve tubul hasarı oluşturduğunu düşündürdü. Diyabette değişen serbest radikal dengesinin düzelmesinde rol oynayacağını düşündüğümüz SBT yağı ile muamele edilen ratların diyabet grubuna göre glomerular atrofi ve tubuler dejenerasyonlarında düzelmeler olduğu görüldü. Xue ve ark. (2015) SBT yağının glikoz toleransını ve pankreas dokusunun bütünlüğünü önemli ölçüde iyileştirdiğine dair çalışmalar (157) olmasına rağmen SBT yağının böbrek dokusunda meydana gelen histopatolojik değişikliklere karşı etkisine bakılmamıştır.

Diyabet sonrası meydana gelen serbest oksijen moleküllerini ortaya koymak amacıyla oksidatif stres biyobelirteçlerden biri olan TOS kullanılmaktadır. Sefidgar ve ark. (2019) tarafından yapılan STZ ile indüklenen diyabette, hiperglisemi sonucu ortaya çıkan TOS değerine bakılmıştır. TOS değeri ve beraberinde baktıkları OSI azaldığı gözlenmiştir (158). Ancak antioksidan olarak safran kullandıkları hayvanlarda TAS değeri arttığı gözlemlenmiştir. Başka bir çalışmada diyabetik hayvanların TOS değerinin kontrol grubuna göre arttığı, ancak N-asetilsistein verilen grubun TAS değerinde kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir (159). Lan ve ark. (2022) yüksek yağlı diyetle besledikleri zebra balıklarında SBT'nin lipid metabolizması, karaciğer ve bağırsak sağlığı üzerindeki yararlı etkilerini araştırdıkları çalışmada, serum üzerinden ölçülen Malondialdehid (MDA) seviyesinin azaldığını gözlemlemişlerdir (160). Zheng ve ark. (2012) yoğun fiziksel egzersize maruz kalan Wistar ırkı erkek sıçanların kalpleri üzerine, SBT yapraklarının sulu ekstraktlarının egzersize bağlı serum MDA seviyesinde ve selenyuma bağımlı glutatyon peroksidaz aktivitesindeki

artışın azaltılmasına yardımcı olduğunu görmüşlerdir (161). Yapılan tüm bu çalışmalar SBT'nin oksidatif strese karşı olumlu etkisinin olduğunu göstermiştir.

Sunulan çalışma ile, Diyabet grubunda TOS değerinin yüksek olduğu görüldü. Bu durum yapılan diğer çalışmalar ile uyumlu bulundu. SBT grubunda ise TAS değerinin yüksek olduğu gözlemlendi. Elde edilen bu sonucun diyabet sonrası meydana gelen oksidatif strese karşı antioksidan maddenin etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

İrisin Böström ve ark. (2012) tarafından iskelet kasından keşfedilen, sonraki araştırmalar da ise %72'si kas kaynaklı, %28'i adipoz dokuda salgılandığı ortaya konulan bir miyokindir (69,60,61). Son yıllarda yapılan çalışmalarda İrisinin farklı dokularda hücre farklılaşması ve hücre proliferasyonundaki etkisi gösterilmiştir. Obezite, lipid profili, böbrek yetmezliği ve ilaçların İrisinin plazma seviyesi üzerindeki değişiklikleri doğrulayan birçok çalışma bulunmaktadır (162).

Egzersiz sonrası İrisin salınımının arttığını gösteren (62,163) çalışma bulunsada bu konu ile ilgili çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. İrisin, insanlarda egzersizin bazı yararlı etkilerini sağladığı; kilo kaybını desteklediği ve diyabeti engelleme gibi etkilerinin olduğu bildirilmiştir (62). İrisinin, canlı ağırlık kaybına neden olması ise; beyaz yağ dokusunu kahverengi yağa dönüştürmesi sonucu ortaya çıkan enerjinin mitokondrial solunum ile ısı açığa çıkması şeklinde düşünülmüştür (62,164)

Hücrede enerji kaynağı olarak kullanılan glikozun taşınması için birçok taşıyıcı proteinlere (GLU4) ihtiyaç duyulmaktadır. Hücre içinde İrisinin fazla salınımı sonucu yüksek GLUT4 ekspresyonu ortaya çıkar. GLUT4 ekspresyonu

sonrası miyositler tarafından glikoz alımının indüklendiği ortaya konulmuştur (71). Diyabet gibi glikozun vücutta fazlaca kullanıldığı durumlarda, İrisin seviyesindeki bu azalma bu durumla ilişkilendirilebilir.

Son yıllarda İrisin üzerine yapılan çalışmalarda, İrisinin insülin üzerinde yenileyici etkisinin olduğu, farelerin beta hücrelerinin oluşumunu hızlandırdığı ve beta hücrelerinin sayısında artışa neden olduğu görüldü (165,166). Eser ve ark. (2021) STZ ile indüklediği diyabet modeli çalışmalarında İrisin seviyesinin diyabetik gruplarda anlamlı bir şekilde azaldığını gözlemlemişlerdir (167). Diyabet sonrası oluşan oksidatif stres ile İrisinin ilişkisine bakıldığı çalışmalarda oksidatif stres arttıkça İrisin seviyesinin azaldığı ortaya konulmuştur. (168).

İrisinin vücutta ekspresyonu, kas, mide, bağırsak, beyin, (hipokampus, hipotalamus), kalp, periferik doku, pankreas ve böbreğin yanı sıra testiküler somatik hücrelerde de rapor edilmiştir (62-66). Aydın ve ark. (2019) insan fetüsündeki spermatojenik ve Leydig hücrelerinde İrisin immunoreaktivitesinin görüldüğü buna karşın yetişkin insan testisinin Leydig hücrelerinde güçlü ancak spermatojenik seri hücrelerde zayıf immunoreaktivite görüldüğünü bildirmişlerdir (62). Wahab ve ark. (2020) primat testis kültürlerinde yapılan İrisin gen ekspresyonu çalışmalarında, primatların testislerinde spermatojenik aktivite için İrisinin önemli bir endokrin faktör olduğunu ortaya koymuşlardır (169).

Diyabet sonrası böbrekte meydana gelen hasarlara karşı egzersiz uygulanan hayvanlarda İrisin seviyesinin arttığı gözlenmiştir (170). Kuloğlu ve ark. (2014) İrisinin miyokardiyal enfarktüs ile ilişkisini inceledikleri çalışmada

İrisinin böbrek glomerulusları ve distal tubullerde belirgin şekilde immünoreaktif hücrelere rastlandığını bildirmişlerdir (171).

Çalışmada diyabetli ratların testis dokusunda İrisin immünoreaktivliğine Leydig hücrelerinde rastlanılmıştır. Ancak görülen bu pozitifliğe en düşük diyabet grubunda rastlanılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar literatürler ile benzeşmekte olup diyabetin testis dokusunda İrisin üzerinde azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür. Bunun yanında Diyabet + SBT grubu immünoreaktivitesine baktığımızda diyabetik gruba göre immünoreaktivliğin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görülmüştür.

Böbrek dokusunda ise İrisinin immünoreaktivitesine baktığımızda diyabet grubunda tıpkı testis gibi reaktivitenin azaldığı gözlenmiştir. Elde edilen bu sonuç literatür ile benzeşmektedir. Diyabet + SBT grubunun ise istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. SBT'nin İrisin üzerinde pozitif yönde arttırıcı etkisinin görülmesi yoğun antioksidan içeriğinin, oksidatif stres üzerinde iyileştirici etkisinden kaynaklandığını düşündürmüştür.

Asprosin yakın zamanda keşfedilen, beyaz yağ dokudan salınarak karaciğere aktarılan bir adipokindir. Asprosin dolaşımdaki glikoz ve insülin konsantrasyonlarının artmasına ve hepatik glikoneogenezise neden olur (72). Artan Asprosinin plazmadaki artan konsantrasyonu cAMP'ye bağlı sinyal yollarını kullanarak oreksijenik nöronları harekete geçirip, iştah artışına ve canlı ağırlık artışına neden olur (74).

Asprosinin son yıllarda yapılan çalışmalar ile diyabet hastalığı ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir. Tip 2 diyabetli ve obeziteli bireylerde, Asprosin

konsantrasyonlarının artmış olduğu görölmüştür (72,81,172,173). Yapılan diğeri bir çalışmada Asprosin seviyesinin özellikle erkek obez çocuklarda daha fazla düştüğü gözlenmiştir (174). Asprosinin diyabet hastalığında potansiyel bir tedavi yöntemi olarak düşünölen başka bir çalışmada, Asprosin uygulanan sağlıklı ratlarda kan şekerini yükselttiğı ve diyabetik ratlarda ise kan şekerinde herhangi değışiklik görölmediğı saptandı (175).

Asprosinle diyabetik nefropati arasındaki ilişkinin incelendiğı bir çalışmada ise Kontrol grupla kıyaslandığında, T2DM hastalarının serum Asprosin seviyeleri, daha yüksekti. Farklı şiddette diyabetik nefropatiye sahip bireylerin serum Asprosin seviyesinde farklılıklar bulunmuştur. Nefropatisi şiddetli olan grubun ise Asprosin seviyesinin yüksek olduğu görölmüştür (172).

Kocaman ve ark. (2020) yapmış olduğu çalışmada Asprosinin STZ ile indüklenmiş diyabet modelinde, böbrekte kortikal distal tubul hücrelerinde, testislerde Leydig hücrelerinde, mide fundusunun yüzey epitel hücrelerinde, kalpte kardiyomiyositlerde ve beynin kortikal nöronlarında immunohistokimyasal lokalizasyonlar ortaya konulmuştur Aynı çalışmada Kontrol grubu ile Diyabetik grubun immunohistokimyasal dağılımı karşılaştırıldığında, diyabetik sıçanların mide ve testis dokularında Asprosin düzeylerinin arttığı, karaciğer, böbrek ve kalp dokularında Asprosin düzeylerinin azaldığı ve beyin dokusunda ise önemli bir değışiklik olmadığı gözlenmiştir. Serum Asprosin seviyesi yönünden kontrol grup ile diyabetik grup kıyaslandığında Asprosin seviyesinin diyabetik ratlara göre kontrol grubunda azalmış olduğu ortaya konulmuştur (78).

Maurya ve ark. (2022) Asprosin ve yaşlanmaya bağlı spermaogenetik aktivite arasındaki ilişkiye baktığı çalışmada testosteron seviyesi ile birlikte Asprosin miktarının azaldığı gözlemişlerdir. Ancak in vitro olarak Asprosin uygulaması; testosteron, insülin ve laktat biyosenteziyle birlikte birçok protein ekspresyonunu arttırarak testis fonksiyonlarında iyileşmelere neden olduğunu göstermiştir. Elde edilen bu çalışmada insülin duyarlılığının ve glikoz taşınması ile ilişkisi olan Asprosinin azalması testis gelişiminde gerilemeye neden olabileceğini dşndrmştir (176). Keskin ve ark. (2021) intraserebral Asprosin uyguladıkları çalışmada erkek sıçanlarda Asprosinin hipotalamik GnRH mRNA ve protein seviyelerini arttırdığını, böylece LH, FSH ve testosteron düzeylerinde artışa neden olduğunu gözlemiştir. Ayrıca testislerde Asprosin sonrası artan sperm yoğunluğu ve motiliteye rastlanılmıştır (177). Tüm bu sonuçlar, Asprosinin testisin üreme sistemi ile ilişkili düzenleyici rolü olduğunu dşndrmştir.

Yapılan çalışmada testis dokusunun Asprosin immunoreaktivitesine baktığımızda Kontrol grubuna göre Diyabet grubunda istatistiksel olarak azalma grlmştir. Yapmış olduğumuz çalışma literatür ile benzerdir. Diyabet grubunda Asprosin seviyesinin azalmasına rağmen Diyabet + SBT grubunda arttığı grlmştir. Bu da SBT'nin Asprosin üzerinde arttırıcı etkisi olduğunu göstermiştir.

Yapılan çalışmalara bakıldığı zaman diyabetin vücutta en çok etkilediği organ böbreklerdir (178). Çalışmada böbrek dokusunun Asprosin immunoreaktifliği değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre diyabet grubunda immunoreaktivitenin artmış olduğu görülmüş ancak testis dokusu gibi istatistiksel bir fark oluşmamıştır. Diyabet +SBT grubunun Diyabet grubu ile benzer olduğu

Asprosinin artmış olduğu görölmüştür. Böbreklerde artan bu Asprosin seviyesi, artan kan şekeri konsantrasyonundan dolayı organizmanın yoğun hiperglisemiden kendini koruma tepkisi olarak düşünölebilir.

Sonuç olarak;

- Yapılan çalışmada deneysel diyabet oluşturulmuş ratlara uygulanan SBT yağının diyabet kaynaklı canlı ağırlık kaybını azalttığı ve kan-glikoz değerini düşürdüğü göröldü.
- Yoğun antioksidan madde içeriğine sahip olan SBT'nin diyabet sonrası oluşan oksidatif stresin zararlı etkilerini azalttığı tespit edildi.
- SBT ile muamele edilen diyabetik ratların spermatojenik muayene sonucunda elde edilen bulgularda diyabet grubuna göre Diyabet + SBT grubunda; sperm yoğunluk, motilite ve anormalites üzerinde olumlu etkileri olduğu izlendi. Sadece SBT uygulanan ratlarda ise sperm anormalitesi yok denecek kadar azdı.
- Diyabet kaynaklı testis ve böbrek dokularında meydana gelen histopatolojik hasarlar üzerinde SBT yağının azaltıcı etkisinin olduğu izlendi.
- SBT yağının, glikoz ve enerji metabolizması ile ilişkili İrisin ve Asprosin üzerine pozitif etkisi izlendi.
- Tüm bu sonuçlar ışığında SBT ile ilgili histopatolojik, immunohistokimyasal ve spermatojenik çalışmaların sınırlı olduğu gözlenmiştir. İlerleyen zamanlarda farklı dozlarda planlanan SBT ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Joslin, E. P., & Kahn, C. R. (Eds.). Joslin's Diabetes Mellitus: Edited by C. Ronald Kâh. Lippincott Williams & Wilkins. 2005: 14 th edition. Boston in the USA.
2. Tanrıverdi, M. H., Çelepkolu, T., & Aslanhan, H, Hamza. Diyabet ve birinci basamak sağlık hizmetleri. Journal of Clinical & Experimental Investigations, 2013: 4-4.
3. World Health Organization. Classification of diabetes mellitus. 2019: ISBN 978-92-4-151570-2
4. McPhee, S. J., Papadakis, M. A., & Rabow, M. W. (Eds.). Current medical diagnosis & treatment 2010: McGraw-Hill Medical, Umesh Masharani. Diabetes Mellitus & Hypoglycemia, Section 27. 2010: ISBN-13: 9780071763721. New York in the USA.
5. Yenigün M; Altuntaş Y. (ed.). Her yönüyle diabetes mellitus. Nobel Tıp, 2001.
6. Bağrıaçık, N. Diabetes mellitus: Tanımı, tarihçesi, sınıflaması ve sıklığı. Diabetes Mellitus Sempozyumu, 1997,9-18.
7. Simoni, R. D., Hill, R. L., & Vaughan, M. The discovery of insulin: the work of Frederick Banting and Charles Best. Journal of Biological Chemistry, 2002: 277.26: e1-e2.
8. <https://www.who.int/health-topics/diabetes> E.t. 02.03.2021.
9. Federation, I. D. (2019). IDF Diabetes Atlas. 9th edn. 2019.
10. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. ISBN: 978-605-4011-16-2-21.
11. American Diabetes Association, et al. Standards of medical care in diabetes. Abridged for primary care providers. Clinical diabetes: a publication of the American Diabetes Association, 2016: 34.1.
12. Defronzo, RA.et al. (Ed.). International textbook of diabetes mellitus. John Wiley & Sons, 2015.
13. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. Diabetes care, 2010: S11-S61.
14. Ta, S. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care, 2014: 37.1: 81-90.
15. Watkins, P. J. ABC of Diabetes. London: BMJ publishing group. 2003
16. Akca M, Çeltik MN Kemirgenlerde Diyabet modelleri. 2013. Researc gate, E.t: 02.09.2022.
17. Bonnevie-Nielsen, V., Steffes, M. W., & Lernmark, Å. A major loss in islet mass and B-cell function precedes hyperglycemia in mice given multiple low doses of streptozotocin. Diabetes, 1981: 30.5:424-429.
18. Reusser, F. Mode of action of streptozotocin. Journal of bacteriology, 1971:105-2: 580-588.
19. Goud BJ, Dwarakanath v, Chikka BK. International journal. Pharmcy. Pharmatic.Research. 3 (2015) 253e269.

20. Lenzen S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 2008, 51.2: 216-226.
21. Szkudelski, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 2001: 50.6: 537-546.
22. Ganda, O. P., Rossini, A. A., & Like, A. A. Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes*, 1976: 25.7: 595-603.
23. Jaouhari, J. T., Lazrek, H. B., & Jana, M. The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 2000: 69.1: 17-20.
24. West E, Simon, OR, & Morrison, E Y. Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats. *The West Indian Medical Journal*, 1996: 45.2: 60-62.
25. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Duzce medical journal*, 2005, 7.3: 30-39.
26. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed., Oxford University Press, Oxford, UK. 1999.
27. Sorg, O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *Comptes Rendus Biologies*, 2004: Vol. 327, pp. 649-662.
28. Asmat, U., Abad, K., & Ismail, K. Diabetes mellitus and oxidative stress. A concise review. *Saudi pharmaceutical journal*, 2016: 24(5), 547-553.
29. Tang WH, Martin KA, Hwa J. Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. *Front Pharmacol*. 2012; 3:87.
30. Yan L-J. Pathogenesis of chronic hyperglycemia: From reductive stress to oxidative stress. *J Diabetes Res*. 2014; 137919.
31. Ergün L. Erkek genital sistem. Özer A. (Editör). *Veteriner Özel Histoloji*. Dora Basım Yayın Dağıtım Ltd. Şti. 1.Baskı, Bursa 2016: 251-268.
32. Tanyolaç A. Erkek Genital Sistem. Özel Histoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti. Ankara 1999: 132-143.
33. Ross MH, Pawlina W. Male reproductive system. *Histology. A Text and Atlas. With Correlated Cell and Molecular Biology*. Sixth Edition. Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia 2006: 784-829.
34. Ovalle, W. K., & Nahirney, P. C. (2020). *Netter's Essential Histology E-Book: With Correlated Histopathology*. Elsevier Health Sciences. 382-402.
35. Junqueira LC, Carneiro J. Erkek üreme sistemi. Aytekin Y, Solakoğlu S. (Çeviri Editörleri). *Temel Histoloji*. İstanbul. Nobel 2006: 431-447.
36. Otlı A. Veteriner Histoloji (Özel Histoloji Ders Notları. F.Ü. Veteriner Fakültesi Döner Sermaye Müdürlüğü Yayınları. 1982. syf:40-44

37. Dellmann, H. D., & Brown, E. M. Textbook of veterinary histology. Lea & Febiger. Philadelphia in the USA. 1976.
38. Agbaje IM, Rogers D A, Mc Vicar CM. et al. Insulin dependant diabetes mellitus: implications for male reproductive function. Human Reproduction, 2007; 22.7: 1871-1877.
39. Barsiah S, Behnam-Rassouli, M, Shahabipour F, et Al. Evaluation of testis hormonal and histopathological alterations in type I and type II diabetic rats. Journal of cellular biochemistry, 2019; 120.10: 16775-16785.
40. Dhindsa S, Miller MG, McWhirter CL, et al. Testosterone concentrations in diabetic and nondiabetic obese men. Diabetes care, 2010; 33.6: 1186-1192.
41. Lewis, S. E. M., & Aitken, R. J. DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy. Cell and tissue research, 2005; 322.1: 33-41.
42. Suresh, S., & Prakash, S. Effect of Mucuna pruriens (Linn.) on sexual behavior and sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rat. The journal of sexual medicine. 2012; 9.12: 3066-3078.
43. Steger RW. Testosterone replacement fails to reverse the adverse of streptozotocin induced diabetes on sexual behavior in the male rat. Pharmacol Biochem Behav. 1990; 35:577-82
44. Liu SH, Wang ZS. Study on the expression of androgen receptor in testis, epididymis and prostate of adult rats with diabetes. Natl J Androl. 2005; 11: 891-894.
45. Ballester, J., Muñoz, M. C., Domínguez, J., Rigau, T., Guinovart, J. J., & Rodríguez-Gil, J. E. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH-and LH-linked mechanisms. Journal of andrology, 2004; 25.5: 706-719.
46. Newsholme P, Cruzat VF, Keane, KN, et al. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. Biochemical Journal, 2016; 473.24: 4527-4550.
47. Dias TR, Alves MG, Silva, BM, et al. Sperm glucose transport and metabolism in diabetic individuals. Molecular and Cellular Endocrinology, 2014; 396.1-2: 37-45.
48. Reddi AS, Camerini-Davalos RA. Diabetic nephropathy: an update. Arch Intern Med 1990; 150:31-43.
49. Altıparmak MR, Apaydın S. Diyabetik nefropati. Yenigün M (Editör). Her yönüyle Diabetes Mellitus. 2.baskı., 2001;383-99. Nobel.İstanbul
50. Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. Diabetes 1983; 32(2):64-78
51. Nicolle E, Souard F, Faure P, Boumendjel A. Flavonoids as promising lead compounds in type 2 diabetes mellitus: molecules of interest and structure activity relationship. Curr Med Chem, 2011; 18(17), 2661-2672.
52. Yaman T. & Kömüroğlu AU. Deneysel Diyabetik Ratlarda Ardiç (Juniperus communis L.) Yağının Nefropati Üzerine Etkileri. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2018; 7(2), 192-199.

53. Control, The Diabetes; GROUP, Complications DCCT Research. Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Kidney International*, 1995; 47.6: 1703-1720.
54. Matough, F. A., Budin, S. B., Hamid, Z. A., Alwahaibi, N., & Mohamed, J. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 2012;12.1: 5.
55. Sellamuthu PS, Arulselvan P, Muniappan, BP et al. Mangiferin from *Salacia chinensis* prevents oxidative stress and protects pancreatic β -cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of medicinal food*, 2013, 16.8: 719-727.
56. Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME, Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes*. 2008; 57, 1446–1454.
57. Grubu, UDK. Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi 2019. Armoni Nüans. İstanbul:2019.
58. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, 2012; 481.7382: 463-468.
59. Aydın S. Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. *Peptides*, 2014; 56: 94-110.
60. Erickson HP. Irisin and FNDC5 in retrospect: an exercise hormone or a transmembrane receptor? *Adipocyte*, 2013; 2.4: 289-293.
61. Roca-Rivada, A, Castela C, Senin LL, et al. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PloS one*, 2013; 8.4: e60563.
62. Aydın S, Aydın S, Kuloğlu T ve ark. Alterations of Irisin concentrations in saliva and serum of obese and normal weight subjects, before and after 45 min of a Turkish bath or running. *Peptides*. 2013; 50: 13-18.
63. Gençer Tarakçı B, Girgin A, Timurkaan S ve ark. Immunohistochemical localization of irisin in skin, eye, thyroid and pineal glands of crested porcupine (*Hystrix cristata*). *Biotechnic & Histochemistry*. 2016; 91(6):423-427.
64. Gür FM, Timurkaan S, Yalçın MH, Girgin A, Gençer Tarakçı B. Immunohistochemical localization of irisin in mole rats (*Spalax leucodon*). *Biotechnic & Histochemistry*. 2017; 92(4):245-251.
65. Gür FM, Timurkaan S, Yalçın MH, Gençer Tarakçı B. Immunohistochemical distribution of irisin in the lung and tongue of Porcupine (*Hystrix cristata*). *Indian Journal of Animal Research*. 2017; 51(3):537-540.
66. Gür FM, Timurkaan S, Gençer Tarakçı B ve ark. Identification of immunohistochemical localization of irisin in the dwarf hamster (*Phodopus roborovskii*) tissues. *Anat Histol Embryol*. 2018; 47(2):174-179.
67. Liu S, Du F, Li X, Wang M, Duan R, Zhang, J et al. Effects and underlying mechanisms of irisin on the proliferation and apoptosis of pancreatic β cells. *PloS one*, 2017; 12:4 e0175498.

68. Liu JJ, Wong MD, Toy WC, Tan CS, Liu S, Ng XW, Tavintharan S, Sum CF, Lim SC. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2013 Jul-Aug; 27(4):365-9.
69. Zhang, R., Ji, J., Zhou, X. & Li, R. Irisin pretreatment protects kidneys against acute kidney injury induced by ischemia/reperfusion via upregulating the expression of uncoupling protein 2. *Biomed Res. Int*. 2020: 6537371.
70. Elizondo-Montemayor, L, Mendoza-Lara G, Gutierrez-DelBosque, et al. Relationship of circulating irisin with body composition, physical activity, and cardiovascular and metabolic disorders in the pediatric population. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018.;19(12),3727.
71. Gizaw M, Anandakumar P, Debela T. A review on the role of irisin in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Journal of pharmacopuncture*. 2017:20(4), 235.
72. Romere C, Duerrschmid C, Bournat J, et al. Asprosin, a fasting-induced glucogenic protein hormone. *Cell*. 2016;165(3):566-79.
73. Sohn, J W. Network of hypothalamic neurons that control appetite. *BMB reports*. 2015: 48(4), 229.
74. Duerrschmid C, He Y, Wang C et al. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nat Med* 2017;23: 1444–1453
75. Naiemian, S, Naeemipour M, Zarei M, Serum Concentration Of Asprosin In New-Onset Type 2 Diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 2020;12:65.
76. Li E, Shan H, Chen L et al. OLFR734 Mediates glucose metabolism as a receptor of asprosin. *Cell Metabol*. (2019) 30:319–28.e8.
77. Jung TW, Kim HC, Kim HU, et al. Asprosin attenuates insulin signaling pathway through PKCdelta-activated ER stress and inflammation in skeletal muscle. *J Cell Physiol*. 2019: 234:20888–99.
78. Kocaman N, Kuloglu T. Expression of asprosin in rat hepatic, renal, heart, gastric, testicular and brain tissues and its changes in a streptozotocin-induced diabetes mellitus model. *Tissue Cell*. 2020;66:101397.
79. Yuan M, Li W, Zhu Y, Yu B, et al. Asprosin: a novel player in metabolic diseases. *Frontiers in endocrinology*, 2020, 11: 64
80. Lee T, Yun S, Jeong JH, Jung TW. Asprosin impairs insulin secretion in response to glucose and viability through TLR4/JNK-mediated inflammation. *Mol Cell Endocrinol* 2019; 486: 96–104
81. Ugur K ve Aydin S. Saliva and blood asprosin hormone concentration associated with obesity. *International Journal of Endocrinology*, 2019: 1-8
82. Liu JJ, Wong MD, Toy WC. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2013 Jul-Aug; 27(4):365-9.
83. Beveridge T, Li TSC, Oomah BD, Smith A. Sea Buckthorn products: manufacture and composition. *J Agric Food Chem* .1999;47:3480–3488.

84. Christaki E. *Hippophae rhamnoides* L. (Sea Buckthorn): a potential source of nutraceuticals. Food Public Health. 2012: 69–72.
85. J. Beveridge Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): production and utilization. (1st ed.), NRC Research Press, Ottawa 2003.
86. Anadolu'nun yabanıl meyveleri. <http://www.nazimtanrikulu.com/?Syf=26&Syz=211238>. Erişim tarihi:14.12.2021.
87. Suryakumar G., Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). J Ethnopharmac. 2011: 138: 268-278
88. Wang, B., Lin, L., Ni, Q., & Lian Su, C. *Hippophae rhamnoides* Linn. for treatment of diabetes mellitus: A review. Journal of Medicinal Plants Research. 2011;5(13), 2599-2607.
89. E. Christaki. *Hippophae rhamnoides* L. (sea buckthorn): A potential source of nutraceuticals Food and Public Health.2012: 2 (3) pp. 69-72,
90. Yang BR, Kallio HP. Fatty acid composition of lipids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries of different origins. J Agric Food Chem. 2001: 49:1939-1947.
91. George SD, Cenkowski S. Influence of harvest time on the quality of oil-based compounds in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *sinensis*) seed and fruit. J Agric Food Chem. 2007; 55:8054-8061
92. Ciesarová Z, Murkovic M, Cejpek K, et al. Why is sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) so exceptional? A review. Food Research International. 2020: 133, 109170.
93. Suryakumar, G., Sai Ram, M., Singh, V., Ilavazhagan, G., & Sawhney, R. C. Effect of Sea buckthorn against sodium nitroprusside induced oxidative stress in murine macrophages. Biomed Pharmacother., 2002;56, 463-467.
94. Geetha, S, Ram MS, Singh V, et al. Anti-oxidant and immunomodulatory properties of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) an in vitro study. Journal of Ethnopharmacology, 2002: 79.3: 373-378.
95. Kim J.S., Kwon Y.S., Sa Y.J., Kim M.J. Isolation and identification of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) phenolics with antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory effect. J. Agric. Food Chem. 2011;59:138–144.
96. OLAS B. Sea buckthorn as a source of important bioactive compounds in cardiovascular diseases. Food and Chemical Toxicology, 2016, 97: 199-204.
97. Vashishtha V, Barhwal K, Kumar A., et al. Effect of seabuckthorn seed oil in reducing cardiovascular risk factors: A longitudinal controlled trial on hypertensive subjects. Clinical Nutrition. 2017;36(5), 1231-1238.
98. Pang X., Zhao J., Zhang W, et al. Antihypertensive effect of total flavones extracted from seed residues of *Hippophae rhamnoides* L. in sucrose-fed rats. Journal of Ethnopharmacology, 2008: 117.2: 325-331.

99. Xing J, Yang B, Dong Y, et al. Effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed and pulp oils on experimental models of gastric ulcer in rats. *Fitoterapia*. 2002; 73(7-8), 644-650.
100. Upadhyaya NK, Kumar R, Mandotra SK, et al. Safety and healing efficacy of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil on burn wounds in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, 47.6: 1146-1153.
101. Hou DD, Di Z H, Qi, R Q, et al. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) oil improves atopic dermatitis-like skin lesions via inhibition of NF- κ B and STAT1 activation. *Skin pharmacology and physiology*, 2017; 30.5: 268-276.
102. Chauhan AS Negi PS Ramteke RS. Antioxidant and antibacterial activities of aqueous extract of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seeds. *Fitoterapia*, 2007; 78.7-8: 590-592
103. Shipulina L D, Tolkachev ON, Krepkova LV at al. Anti-viral, anti-microbial and toxicological studies on seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Seabuckthorn (Hippophae L.)*. A multipurpose wonder plant. Vol II: Biochemistry and pharmacology, 2006: 471-483.
104. Goel HC, Prasad J, Singh S et al. Radioprotection by a herbal preparation of *Hippophae rhamnoides*, RH-3, against whole body lethal irradiation in mice. *Phytomedicine*, 2002, 9.1: 15-25.
105. Wang J, Zhang W, Zhu D et al. Hypolipidaemic and hypoglycaemic effects of total flavonoids from seed residues of *Hippophae rhamnoides* L. in mice fed a high-fat diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, 91.8: 1446-1451.
106. Muselin., Brezovan D, Savici J, et al. Trif A. The Use of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) and Milk Thistle (*Silybum marianum* L.) in Alloxan Induced Diabetes Mellitus in Rats. *Anim. Sci. Biotechnol.* 2016; 49:280–283.
107. Zhang W, Zhao J, Wang J, et al. Hypoglycemic effect of aqueous extract of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed residues in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phyther. Res.* 2010; 24:228–232.
108. Cavak N, Gumustas MK, Cekici, Demirci S. The Protective Role of *Hippophae rhamnoides* L. on Rat Brain and Liver Tissues Exposed to Cold Plus Immobilization Stress Model. *Turkish Neurosurgery*, 2022, 32.4.
109. Özeydin, T, Öznurlu, Y; Sur Streptozotosin ile diyabet oluşturulan ratlarda Koenzim Q 10'un testis dokusu üzerine etkileri. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 2021; 37.4: 235-242.
110. Zafar M, Naeem-ul-Hassan Naqvi S. Effects of STZ-induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats: a comparative study. *International Journal of Morphology*. 2010; 28(1), 135-142.
111. Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M. Lycopene Protects against Cyclosporine A-Induced Testicular Toxicity in Rats. *Theriogenology*. 2007;67 (4), 778-785.

- 112.Demir R. Temel Histolojik Teknikler. Histolojik boyama teknikleri, 1. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2001.
- 113.Crossmon G. (1937) A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. Anat Rec. 69: 33-38.
- 114.Luna, L G. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 1968.
- 115.Veterinaria, Nomina Histologica. 1st eddition. International Committee on Veterinary Histological Nomenclature Nomenclature (ICVHN) to the World Association of Veterinary Anatomists. Published on the website of the World Association of Veterinary Anatomists, 2017, 31.
- 116.Suvarna K, Layton C, Bancroft J. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 8th Edition, Amsterdam: Elsevier Health Sciences, 2018.
- 117.Hız, İhsan. Sıçanlarda testis iskemi/reperfüzyon hasarı üzerine nimodipine'in koruyucu etkisinin morfolometrik yöntemlerle araştırılması. 2021. Master's Thesis. ESOGÜ, Tıp Fakültesi
- 118.Johnsen SG. Testicular biopsy score count—a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. Hormone Research in Paediatrics, 1970;1.1: 2-25.
- 119.Shokoohi M, Shoorei H, Soltani M, et al. Protective effects of the hydroalcoholic extract of *Fumaria parviflora* on testicular injury induced by torsion/detorsion in adult rats. Andrologia. 2018. 50(7), e13047.
- 120.Jelodar G, Khaksar Z, Pourahmadi M. (Endocrine profile and testicular histomorphometry in adult rat offspring of diabetic mothers. The Journal of Physiological Sciences.2009; 59(5), 377-382.
- 121.Kuruş M, Uğraş M, Eşrefoğlu M. Effect of resveratrol on tubular damage and interstitial fibrosis in kidneys of rats exposed to cigarette smoke. Toxicol Ind Health 2009; 25: 539–44.
- 122.Erdogan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Uçar M, Irmak MK. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. Urol Res. 2006; 34:41-46.
- 123.Yağmurca M, Orhan B, A Ş Şahin ve ark. Ratlarda sisplatin ile indüklenmiş böbrek hasarına karşı melatonin ve ginkgo bilobanın koruyucu etkileri. *Kocatepe Tıp Dergisi*; 2007; 8(2), 29-34.
- 124.Hsu SM, Raine L, Fanger H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotinperoxidase complex in immunoperoxidase technics. Am J Clin Pathol 1981; 75(6): 816-821.
- 125.Aydın, Suleyman, et al. A comprehensive immunohistochemical examination of the distribution of the fat-burning protein irisin in biological tissues. Peptides, 2014, 61: 130-136.

126. Carter JH, Douglass LE, Deddens JA, et al. Pak-1 expression increases with progression of colorectal carcinomas to metastasis. *Clin Cancer Res.*2004; 10:3448–3456.
127. Laddha AP, Kulkarni YA. Daidzein attenuates urinary bladder dysfunction in streptozotocin-induced diabetes in rats by NOX-4 and RAC-1 inhibition. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2022, 1-12.
128. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38:1103-11.
129. Yumru M, Savas HA, Kalenderoglu A, et al. Oxidative imbalance in bipolar disorder subtypes: a comparative study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*.2009; 31;33(6):1070-4.
130. Kosecik M, Erel O, Sevinc E, Selek S. Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. *Int J Cardiol* 2005; 100:61–4.
131. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med Wkly*.2003;133:563-536).
132. Porkka-Heiskanen T, Kalinchuk A, Alanko L, et al. Orexin A and B levels in the hypothalamus of female rats: the effects of the estrous cycle and age. *European Journal of Endocrinology*.2004; 150(5), 737-742.
133. Laddha AP, Kulkarni YA. Daidzein attenuates urinary bladder dysfunction in streptozotocin-induced diabetes in rats by NOX-4 and RAC-1 inhibition. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2022, 1-12.
134. Alharbi YM., Sakr SS., Albarrak S M, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants*. 2022; 11(4), 668.
135. An S, Li Y, Jia X, et al. Ponacidin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via modulating hyperlipidemia, oxidative stress, and inflammatory markers. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2022, 36.4: e22988.
136. Raish M., Ahmad A, Jordan YAB et al. Sinapic acid ameliorates cardiac dysfunction and cardiomyopathy by modulating NF- κ B and Nrf2/HO-1 signaling pathways in streptozotocin induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022: 145, 112412.
137. Özyayın, T, Öznurlu, Y; Sur Streptozotosin ile diyabet oluşturulan ratlarda Koenzim Q 10'un testis dokusu üzerine etkileri. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 2021: 37.4: 235-242.
138. Kanter M, Aktas C, Erboğa M. Curcumin attenuates testicular damage, apoptotic germ cell death, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Nutr Food Res*. 2013;57(9), 1578-85.
139. Yuan H, Zhu X, Wang W et al. Hypoglycemic and anti-inflammatory effects of seabuckthorn seed protein in diabetic ICR mice. *Food & Function*, 2016: 7(3), 1610–1615.

140. Yuan H, Shi F, Meng L, et al. Effect of sea buckthorn protein on the intestinal microbial community in streptozotocin-induced diabetic mice. *International journal of biological macromolecules*. 2018; 107, 1168-1174.
141. Zeb A, Ullah S. Sea buckthorn seed oil protects against the oxidative stress produced by thermally oxidized lipids. *Food chemistry*. 2015; 186, 6-12.
142. Ghosh S., Chowdhury S., Das AK, Sil PC. Taurine ameliorates oxidative stress induced inflammation and ER stress mediated testicular damage in STZ-induced diabetic Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2019; 124, 64-80.
143. Scarano WR, Messia AG, Oliva SU. Sexual behaviour, sperm quantity and quality after short-term streptozotocin-induced hyperglycaemia in rats. *International journal of andrology*. 2006;29(4), 482-488.
144. Zafar M, Naeem-ul-Hassan Naqvi S. Effects of STZ-induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats: a comparative study. *International Journal of Morphology*. 2010; 28(1), 135-142.
145. Grover JK, Vats V, Rath S S, Dawar R. Traditional Indian anti-diabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozotocin induced diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001.76(3), 233-238.
146. Wolf, G, Ziyadeh FN. Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy. *Kidney international*. 1999; 56(2), 393-405.
147. Navarro-Casado L, Juncos-Tobarra M A, Chafer-Rudilla, M, et al. Effect of experimental diabetes and STZ on male fertility capacity. Study in rats. *Journal of andrology*. 2010; 31(6), 584-592
148. Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, (Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Phytotherapy Research*, 2010;24(9), 1285-1291.
149. Shoorei H, Khaki A, Khak AA, The ameliorative effect of carvacrol on oxidative stress and germ cell apoptosis in testicular tissue of adult diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2019;111, 568-578.
150. Yalçın T, Kuloğlu T, TÜRK G, Ozan İ E Orijinal Araştırma Diyabetik Rat Testis Dokusundaki Apoptotik Değişiklikler Üzerine Oleuropeinin Etkisi. *Annals of Health Sciences Research*. 2018; 7(2), 29-34.
151. Shokoohi M, Shoorei H, Soltani M, et al. Protective effects of the hydroalcoholic extract of *Fumaria parviflora* on testicular injury induced by torsion/detorsion in adult rats. *Andrologia*. 2018. 50(7), e13047.
152. Jelodar G, Khaksar Z, Pourahmadi M. (Endocrine profile and testicular histomorphometry in adult rat offspring of diabetic mothers. *The Journal of Physiological Sciences*. 2009; 59(5), 377-382.

153. Fioretto P, Mauer M. Histopathology of diabetic nephropathy. In *Seminars in nephrology* 2007; 27,2 -195-207).
154. Harris R D, Steffes M W et al. Global glomerular sclerosis and glomerular arteriolar hyalinosis in insulin dependent diabetes. *Kidney international*. 1991;40(1), 107-114.
155. Aboonabi A., Rahmat A, Othma, F. Effect of pomegranate on histopathology of liver and kidney on generated oxidative stress diabetic induced rats. *J Cytol Histol* 2014; 6(1), 2-5.
156. Vardı, N., Iraz, M., Öztürk, F. Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri. *Journal of Turgut Ozal Medical Center*. 2005; 12(3), 145-152
157. Xue Y, Miao Q, Zhao A, et al. Effects of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) juice and L-quebrachitol on type 2 diabetes mellitus in db/db mice. *Journal of functional foods*. 2015; 16, 223-233.
158. Sefidgar, SM, Ahmadi-Hamedani M, Javan AJ et al. Effect of crocin on biochemical parameters, oxidative/antioxidative profiles, sperm characteristics and testicular histopathology in streptozotocin-induced diabetic rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*: 2019; 9(4), 347.
159. Yalcın, A. The Effects of N-Acetylcysteine on MMP-2 and MMP-9 Immune Activities in Testicular Tissue of Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Sakarya Tıp Dergisi*. 2019; 9(1), 59-67.
160. Lan Y, Wang C, Zhang C, et al. Dietary sea buckthorn polysaccharide reduced lipid accumulation, alleviated inflammation and oxidative stress, and normalized imbalance of intestinal microbiota that was induced by high-fat diet in zebrafish *Danio rerio*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 2022; 1-19.
161. Zheng X, Long W, Liu G, et al. Effect of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* ssp. *Sinensis*) leaf extract on the swimming endurance and exhaustive exercise-induced oxidative stress of rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2012; 92(4), 736-742.
162. Novelle MG., Contreras C, Romero-Pico A, et al. Dieguez Irisin, two years later. *Int. J. Endocrinol*. 2013; 746281
163. Formigari GP, Dátalo M N, Vareda B. Renal protection induced by physical exercise may be mediated by the irisin/AMPK axis in diabetic nephropathy. *Scientific Reports*, 2022, 12.1: 1-11.
164. Castillo-Quan JI. From white to brown fat through the PGC-1 α -dependent myokine irisin: implications for diabetes and obesity. *Disease models & mechanisms*, 2012; 5.3: 293-295.
165. Liu S, Du F, Li X, et al. Effects and underlying mechanisms of irisin on the proliferation and apoptosis of pancreatic β cells. *PLoS One*. 2017;12(4): e 0175498.
166. Moon HS, Dincer F, Mantzoros CS. Pharmacological concentrations of irisin increase cell proliferation without influencing markers of neurite outgrowth and synaptogenesis in mouse H19-7 hippocampal cell lines. *Metabolism*. 2013;62(8):1131–6.

- 167.Eser N, Yoldas A, Turk A, et al. Ameliorative effects of garlic oil on FNDC5 and irisin sensitivity in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2021: 73(6), 824-834.
- 168.Zhu D, Wang H, Zhang J, et al. Irisin improves endothelial function in type 2 diabetes through reducing oxidative/nitrative stresses. *J Mol Cell Cardiol* 2015; 87: 138–47.
- 169.Wahab F, Drummer C, Mätz-Rensing K, et al. Irisin is expressed by undifferentiated spermatogonia and modulates gene expression in organotypic primate testis cultures. *Molecular and cellular endocrinology*. 2020: 504, 110670.
- 170.Wu, F., Li, Z., Cai, M., Xi, Y., Xu, Z., Zhang, Z., ... & Tian, Z. (2020). Aerobic exercise alleviates oxidative stress-induced apoptosis in kidneys of myocardial infarction mice by inhibiting ALCAT1 and activating FNDC5/Irisin signaling pathway. *Free Radical Biology and Medicine*, 158, 171-180.
- 171.Kuloglu, T, Aydin S, Eren MN, et al. Irisin: a potentially candidate marker for myocardial infarction. *Peptides*. 2014: 55, 85-91.
- 172.Wang R, Lin P, Sun H, Hu W. Increased serum asprosin is correlated with diabetic nephropathy. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2021: 13(1), 1-6.
- 173.Zhang, L., Chen C., Zhou N, et al. Circulating asprosin concentrations are increased in type 2 diabetes mellitus and independently associated with fasting glucose and triglyceride. *Clinica chimica acta*, 2019: 489: 183-188.
- 174.Long W, Xie, X, Du C, et al. Decreased circulating levels of asprosin in obese children. *Hormone research in paediatrics*. 2019: 91 (4), 271–277.
- 175.Hekim, M. G., Kelestemur, M. M., Bulmus, F. G., Bilgin, B., Bulut, F., Gokdere, E., ... & Ozcan, M. Asprosin, a novel glucogenic adipokine: a potential therapeutic implication in diabetes mellitus. *Archives of physiology and biochemistry*. 2021: 1-7.
- 176.Maurya S, Singh A. Asprosin modulates testicular functions during ageing in mice. *General and Comparative Endocrinology*. 2022: 323, 114036.
- 177.Keskin T, Erden Y, Tekin S. Intracerebroventricular asprosin administration strongly stimulates hypothalamic-pituitary-testicular axis in rats. *Molecular and cellular endocrinology*. 2021:538, 111451.
- 178.[https://www.verywellhealth.com/organs-affected-by-diabetes-5118060#:~:text=14-,Pancreas,produce % 20enough %20or%20any%20insulin.erişim tarihi: 16.08.2022](https://www.verywellhealth.com/organs-affected-by-diabetes-5118060#:~:text=14-,Pancreas,produce%20enough%20or%20any%20insulin.erişim%20tarihi:16.08.2022)

8. ÖZGEÇMİŞ

