

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



**DENEYSEL DİYABETİK SIÇAN TESTİS
DOKUSUNDA İRİSİN VE APOPTOZİS
ÜZERİNE VİTAMİN D’NİN
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Mehmet Hanifi YALÇIN

2018

ONAY SAYFASI



Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

B. TARAKÇI

Prof. Dr. Berrin TARAKÇI GENÇER

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Aydın GİRGIN

A. GİRGIN

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Aydın GİRGIN

A. GİRGIN

Prof. Dr. Berrin TARAKÇI GENÇER

B. TARAKÇI

Prof. Dr. Mecit YÖRÜK

M. YÖRÜK

Prof. Dr. Mine YAMAN

M. YAMAN

Dr. Öğr. Üyesi Fatih Mehmet GÜR

F. M. GÜR



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 ve 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: Arş. Gör. Mehmet Hanifi YALÇIN

Tarih: 03.12.2018

İmza:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "M. Hanifi Yalçın".

Prof. Dr. Aydın GİRGİN

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

ELAZIĞ

İTHAF SAYFASI

Sevgili Aileme...



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince; mesleki bilgi, beceri, pratik ve teorik anlamda yetişmemi sağlayan danışman hocam sayın Prof. Dr. Aydın GİRĞİN'e,

Doktora eğitimim süresince; maddi ve manevi olarak her türlü desteği sağlayan, gerek tezimle alakalı gerekse tez dışı konularda bana her zaman yardımcı olan Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na,

Tezime sağladığı katkılardan dolayı Prof. Dr. Berrin TARAKÇI GENÇER'e,

Anabilim dalımızda bulunan ve üzerimde emekleri olan Prof. Dr. Mine YAMAN, Prof. Dr. Sema TİMURKAAN ve Doç. Dr. Ali BAYRAKDAR'a,

Tezimin biyokimyasal analizlerinin yapılmasında ve değerlendirilmesinde emeği geçen Prof. Dr. Süleyman AYDIN ve Dr. Meltem YARDIM'a,

Prof. Dr. Hatice ERÖKSÜZ'e,

Arş. Gör. Dr. Burak KARABULUT'a,

Bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan annem Ayişe YALÇIN ve babam Mahmut YALÇIN'a,

Ablalarım Gülhan ÇOLAK ve Gönül DEMİRDAĞ'a,

Kız kardeşlerim Hatice YALÇIN ve Fatma YALÇIN'a,

Deneyisel çalışmamın uygulama ve kesim aşamasında bana yardımcı olan Veysel ÇAK'a,

En kalbi duygularımla teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI.....	ii
ETİK BEYAN SAYFASI.....	iii
İTHAF SAYFASI.....	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xi
1.ÖZET.....	1
2.ABSTRACT.....	3
3.GİRİŞ	5
3.1.Erkek Üreme Sistemi	5
3.1.1.Testis Histolojisi	5
3.1.1.1.Seminifer Tubul (Tubulus Seminifer Convolutus)	7
3.1.1.2.Leydig Hücreleri (Endocrinocytus İnterstitialis)	8
3.2.Diabetes Mellitus	10
3.2.1.DM'nin Tanısı.....	11
3.2.2.DM'nin Komplikasyonları	12
3.2.3.DM ve Testis	12
3.3.Oksidatif Stres.....	14
3.3.1.Oksidatif Stres ve DM.....	14
3.3.2.Oksidatif Stres ve Testis	15
3.4.Antioksidanlar	16
3.4.1.Vitamin D.....	18
3.5.İrisin	19
3.5.1.İrisin ve DM	23
4.GEREÇ ve YÖNTEM.....	25

4.1.Deney Hayvanları ve Beslenmeleri.....	25
4.2.Deney Gruplarının Oluşturulması	27
4.3.Diyabet İndüksiyonu	28
4.4.Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Alınması	28
4.5.Histolojik Çalışmalar	29
4.5.1.Doku Takibi ve Kesitlerin Alınması	29
4.5.2.Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu	31
4.5.3.TUNEL Boyama Metodu	32
4.5.4.İmmünohistokimyasal Boyama Metodu	33
4.6.Biyokimyasal Çalışmalar	34
4.6.1.Kan Glikoz Düzeyleri	34
4.6.2.Doku Homojenatlarının Hazırlanması ve Saklanması	35
4.6.3.TAS ve TOS Ölçümleri.....	35
4.6.3.1.TAS Ölçümü	35
4.6.3.2.TOS Ölçümü	36
4.7.Numunelerde İrisin Düzeylerinin Ölçümü.....	36
4.8.İstatistiksel Analiz.....	37
5.BULGULAR	38
5.1.Canlı Ağırlık Bulguları	38
5.2.Histolojik Bulgular.....	40
5.3.TUNEL Bulguları.....	44
5.4.İmmünohistokimyasal Bulgular	50
5.5.Biyokimyasal Bulgular	57
5.5.1.Kan Glikoz Miktarları	57
5.5.2.TAS ve TOS Düzeyleri	59
5.5.3.Doku ve Serum İrisin Düzeyleri	61
6.TARTIŞMA	63
7.KAYNAKLAR	72
8.ÖZGEÇMİŞ.....	81

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin içeriği	26
Tablo 2. Histolojik takip serileri.....	30
Tablo 3. Hematoksilen-eozin boyama prosedürü	31
Tablo 4. Deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlık ortalamaları (gr) ..	39
Tablo 5. Apoptotik indeks (%)	49
Tablo 6. İrisin immünreaktivitesi	56
Tablo 7. Deney hayvanlarının başlangıç ve final kan glikoz miktarları (mg/dl)...	58
Tablo 8. Serum TAS ve TOS düzeyleri	60
Tablo 9. Doku ve serum irisin düzeyleri	62

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Testis ve epididimidis	6
Şekil 2. Seminifer tubulü çevreleyen doku yapısı. Seminifer epitel iki tip hücreden oluşmuştur: Spermatogenik seri hücreleri ve destek ya da Sertoli hücreleridir	9
Şekil 3. İrisin hormonunun amino asit dizilimi	20
Şekil 4. Egzersiz ile indüklenen PGC1 α ve irisinin yağ dokusu üzerine olan etkileri	22
Şekil 5. Kontrol grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-eozin)	41
Şekil 6. Sitrat buffer grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-eozin)	41
Şekil 7. Vitamin D grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-eozin)	42
Şekil 8. Diyabet grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-eozin)	43
Şekil 9. Diyabet+vitamin D grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-eozin)	43
Şekil 10. Kontrol grubuna ait testis dokusu (TUNEL boyama)	45
Şekil 11. Sitrat buffer grubuna ait testis dokusu (TUNEL boyama)	45
Şekil 12. Vitamin D grubuna ait testis dokusu (TUNEL boyama)	46
Şekil 13. Diyabet grubuna ait testis dokusu (TUNEL boyama)	47
Şekil 14. Diyabet+vitamin D grubuna ait testis dokusu (TUNEL boyama)	47
Şekil 15. Pozitif kontrol dokusu olarak kullanılan sıçan meme dokusu (TUNEL boyama)	48
Şekil 16. Negatif kontrol dokusu (TUNEL boyama)	48
Şekil 17. Kontrol grubuna ait testis dokusu (İmmünohistokimyasal boyama)	52
Şekil 18. Sitrat buffer grubuna ait testis dokusu (İmmünohistokimyasal boyama)	52
Şekil 19. Vitamin D grubuna ait testis dokusu (İmmünohistokimyasal boyama)	53
Şekil 20. Diyabet grubuna ait testis dokusu (İmmünohistokimyasal boyama)	54

Şekil 21. Diyabet+vitamin D grubuna ait testis dokusu (İmmünohistokimyasal boyama).....	54
Şekil 22. Pozitif kontrol dokusu olarak kullanılan sıçan kalp dokusu (İmmünohistokimyasal boyama).....	55
Şekil 23. Negatif kontrol dokusu (İmmünohistokimyasal boyama)	55



KISALTMALAR LİSTESİ

ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
DM	: Diabetes Mellitus
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FNDC5	: Fibronectin Type III Domain Containing 5
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
i.p	: Periton içi
LH	: Luteinleştirici Hormon
M	: Molar
OGTT	: Oral Glikoz Tolerans Testi
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PGC1 α	: PPAR gama co-aktivatörü
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
STZ	: Streptozotosin
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TOS	: Total Oksidan Seviye

TSK : Tubulus Seminifer Konvolutus

UCP1 : Uncoupling Protein 1

µm : Mikrometre



1. ÖZET

Diyabet dünyada insidansı gün geçtikçe artan ve testisler dahil tüm biyolojik dokuları etkileyen önemli bir hastalıktır. Bu çalışmada deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanların testis dokularında histolojik ve biyokimyasal olarak irisin, apoptozis, total antioksidan seviye (TAS) ve total oksidan seviye (TOS) değerleri üzerine vitamin D'nin etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Ağırlıkları 200-220 g arasında değişen, 8-10 haftalık Wistar ırkı 41 adet erkek sıçan 5 gruba ayrıldı. Birinci gruptaki (Kontrol grubu) 7 hayvana herhangi bir uygulama yapılmadı. İkinci gruptaki (Sitrat buffer grubu) 7 hayvana tek doz 0.1 Molar (M) sodyum sitrat tamponu periton içi (i.p) uygulandı. Üçüncü gruptaki (Vitamin D grubu) 7 hayvana, 50 IU/gün oral yolla vitamin D verildi. Dördüncü gruptaki (Diyabet grubu) 10 hayvana tek doz 50 mg/kg Streptozotosin (STZ) 0.1 M sodyum sitrat tamponunda çözündürülüp i.p verildi. Beşinci gruptaki (Diyabet+vitamin D grubu) 10 hayvana, tek doz 50 mg/kg STZ, 0.1 M sodyum sitrat tamponunda çözündürülüp i.p verildikten ve diyabet oluşturulduktan sonra 50 IU/gün oral yolla vitamin D verildi. Yetmişiki saat sonra kuyruk veninden kan alındı ve kan glikoz düzeyi 250 mg/dl üzerinde olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Sekiz hafta sonra tüm sıçanların kuyruk veninden kan alındıktan sonra sıçanlar sakrifiye edildi ve testis dokuları alındı. Alınan testis dokuları histopatolojik olarak, immünohistokimyasal olarak ve TUNEL metodu ile incelendi. Kan serumundaki ve testis doku süpernatantlarındaki irisin düzeyi Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile analiz edildi. TAS ve TOS sonuçları ise REL yöntemi kullanılarak değerlendirildi.

Histolojik incelemede, diyabet grubundaki sıçanların testislerinde, seminifer tubullerdeki spermatogenik seri hücrelerde azalma en önemli bulgu olarak görülürken, vitamin D'nin bu durumu önemli ölçüde önlediği görüldü. İmmünohistokimyasal incelemede, diyabet grubundaki irisin düzeyinin kontrol grubuna oranla azaldığı, vitamin D uygulamasının ise irisin düzeyini arttırdığı gözlemlendi. Apoptotik hücre sayıları kıyaslandığında ise diyabet grubundaki apoptotik hücrelerin kontrol grubuna oranla arttığı, vitamin D uygulamasının ise apoptotik hücre sayısını azalttığı gözlemlendi. Biyokimyasal analizlerde, diyabet grubunda doku ve serum irisin düzeyleri ve TAS düzeyleri azalırken, TOS düzeyinin arttığı görüldü. Diyabet+vitamin D grubunda ise diyabet grubu ile kıyaslandığında, doku ve serum irisin düzeyleri ve TAS düzeyleri artarken, TOS düzeyinin azaldığı tespit edildi. Vitamin D grubunda ise diyabet+vitamin D grubuna benzer sonuç gözlemlendi.

Sonuç olarak vitamin D uygulamasının diyabetin testis üzerindeki olumsuz etkilerini önemli ölçüde ortadan kaldırdığını ve diyabetin tedavisine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Testis, İrisin, Vitamin D, Apoptozis.

2. ABSTRACT

Investigation of Effects of Vitamin D on Irisin and Apoptosis in Experimental Diabetic Rat's Testicular Tissue

Diabetes is an important disease in the world that has been increasing day by day and affecting all biological tissues including testes. The aim of this study was to investigate the effects of vitamin D on testicular tissue histologically and biochemically on irisin, apoptosis, total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS).

41 male rats were divided into 5 groups. 7 animals were not treated in the first group (Control group). A single dose of 0.1 Molar (M) sodium citrate buffer was administered intraperitoneally (i.p) to 7 animals in the second group (Citrate buffer group). In the third group (Vitamin D group) 7 animals were given vitamin D 50 IU/day. 10 animals in the fourth group (Diabetes group) were given a single dose of 50 mg/kg Streptozotocin (STZ) in 0.1 M sodium citrate buffer to give i.p. 10 animals in the fifth group (Diabetes+vitamin D group) were given 50 mg/kg STZ, 0.1 M sodium citrate buffer in a single dose and given i.p. Seventy two hours later blood was collected from the tail vein and the blood glucose levels above 250 mg/dl were considered diabetic. After eight weeks, the rats were sacrificed and the testicular tissues were removed after the blood is taken from the tail vein of all rats. Testis tissues were examined histopathologically, immunohistochemically and by TUNEL method. The level of irisin in blood serum and testis tissue supernatants was analyzed by Enzyme Linked

Immunosorbent Assay (ELISA) method. TAS and TOS results were evaluated by using REL method.

In histological examination, decrease in the number of spermatogenic cells in seminiferous tubules was the most important finding in the testes of rats in the diabetes group, whereas vitamin D significantly prevented this condition. In immunohistochemical examination, it was observed that the level of irisin in the diabetic group decreased compared to the control group and vitamin D application increased the level of irisin. When apoptotic cell numbers were compared, it was observed that apoptotic cells in the diabetes group increased compared to the control group, whereas vitamin D application decreased the number of apoptotic cells. In biochemical analyzes, the levels of tissue and serum irisin and levels of TAS were decreased and the level of TOS was increased in the diabetes group. Diabetes+vitamin D group compared with the diabetes group, tissue and serum irisin levels and TAS levels were increased, while TOS level was found to be decreased. Vitamin D group was similar to diabetes+vitamin D group.

As a result, it is thought that the application of vitamin D significantly eliminates the negative effects of diabetes on the testis and may contribute to the treatment of diabetes.

Key Words: Diabetes, Testis, Irisin, Vitamin D, Apoptosis.

3. GİRİŞ

3.1. Erkek Üreme Sistemi

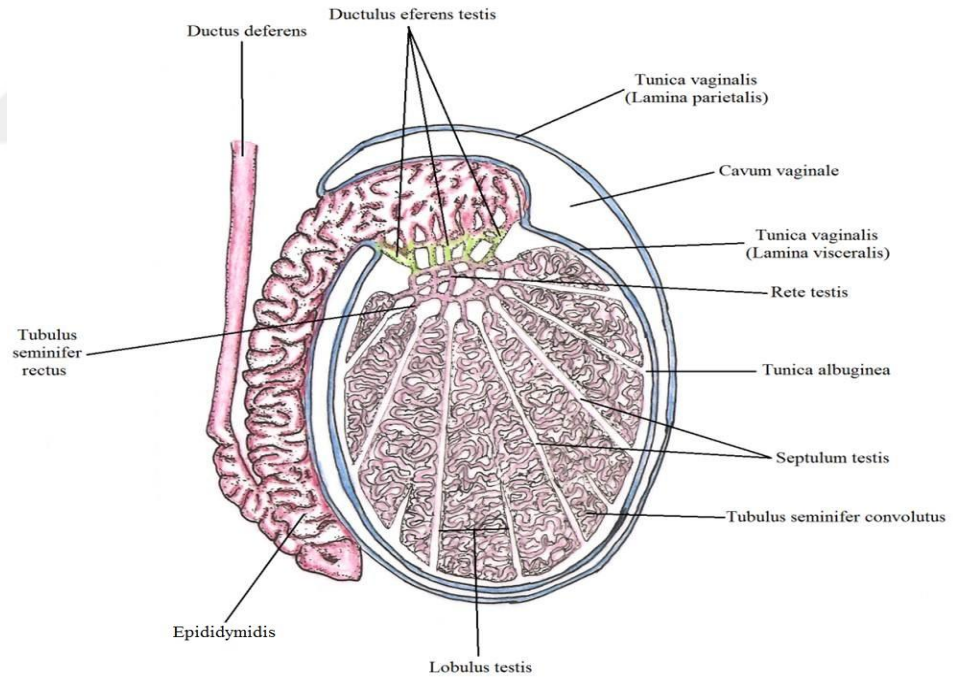
Erkek üreme sistemi; eşey hücrelerini ve erkek cinsiyet hormonlarını üreten testisler, üretilen spermatozoonların depolanması ve iletilmesinden sorumlu olan genital kanallar, seminal sıvı olarak adlandırılan kayganlaştırıcı salgıyı yaparak spermatozoonların beslenmesini ve taşınmasını kolaylaştıran erkek genital bezler ile spermayı dışı genital kanala aktaran penisten oluşur (1-3).

3.1.1. Testis Histolojisi

Erkeklerde genital kanalların ilk bölümünü testisler oluşturur. Testisler yarım ay şeklindeki epididimisin eklenik olduğu, tunika albugineya olarak adlandırılan sıkı bağ dokudan yapılmış kalın bir kapsül ile sarılı olup, yumurta şeklinde olan bir çift organdır. Testisler skrotum adı verilen bir kese içinde funikulus spermatikus ile asılı haldedir. Mezoteliyal örtünün altındaki tunika albugineya, organın içerisine septula testis olarak bilinen bağ doku bölmelerini gönderir ve testisi loplara ayırır. Her bir lopçuk içinde ise sayıları dördü bulan ve kıvrımlı bir şekilde seyreden tubulus seminifer konvolutus (TSK) adındaki kanalcıklar bulunur. TSK'lar tunika albugineyadan başlayıp zikzaklı bir seyir izleyerek organın arka tarafında sonlanır. Lumenleri gittikçe daralan bu yapılar tubulus seminifer rektus adını alarak düz segmentler oluşturur. Kanalcıkların arasında bulunan gevşek bağ dokuda lenf damarları, kılcak damarlar, fibroblastlar, sinirler, mast hücreleri ve makrofajların yanı sıra tek tek ya da gruplar halinde yerleşmiş, hormon salgılama özelliğine sahip olan oval veya poligonal şekilli olan

intersitisyel hücrelere rastlanır. Poligonal şekilli olan bu intersitisyel hücrelere Leydig hücreleri ya da endocrinocytus interstitialis denir (1-3).

Tubulus seminifer rektuslar mediastinum testis içinde rete testis adında anastomozlaşmış kanal ağına açılır. Rete testisten tunika albugineyayı delerek ayrılan ve testis dışına çıkan çok sayıdaki kanalcıklar duktulus eferentis olarak adlandırılır. Bunlar gevşek bağ doku ile sarılı halde testisi terk eder, kendi üzerlerine katlanıp kıvrımlar yaparlar ve böylece kaput epididimidis meydana getirirler. Duktulus eferentisler de birleşip yine kıvrımlı seyreden tek bir kanal oluşturur. Kıvrımlı seyreden bu kanala ise duktus epididimidis denir (1-4). Testis ve epididimidisdeki yapılar Şekil 1’de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



Şekil 1. Testis ve epididimidis (3, 4).

3.1.1.1. Seminifer Tubul (Tubulus Seminifer Convolutus)

Septula testisler arasında, birbirlerinden tam olarak ayrılmayan piramit şeklinde lopçuklar bulunur. İnsanlarda bu lopçukların sayısı yaklaşık 250-300 adet kadardır. Her lopçukda 2-5 adet TSK adında, kör uçlarla başlayan kanalcık bulunur. Seminifer tubul yaklaşık olarak 150-250 mikrometre (μm) çapında ve 25-70 cm uzunluğundadır. Bu kanalcıklar bir bazal membran ile çevrili olup bazal membranın dışında ise retiküler bağ doku bulunur. Tunika albugineyadan kör uçlarla başlayan ve organın içlerine doğru ilerleyen bu kanalcıklar kıvrımlar yapar. Alınan kesitler boyanıp incelendiğinde bu kanalcıkların yuvarlak, oval ya da kıvrımlı görüntülere sahip olduğu görülür. Spermatozoon üretimi olarak adlandırılan spermatogenezis olayı bu kanalcıklarda gerçekleşir (1-3, 5, 6).

TSK'nın etrafı miyofibroblast adı verilen hücreler tarafından sarılmıştır. Kasılma özelliğine sahip olan miyofibroblastlar sayesinde gelişimini tamamlayan spermatozoonlar testis içinde bulunan kanalcıklarda ilerler (2, 3).

Tubulusun enine kesiti incelendiğinde çeşitli gelişme aşamalarındaki erkek eşey hücreleri ile bu eşey hücrelerini saran ve onlar arasındaki alanları dolduran piramidal şekilli olan Sertoli hücrelerine rastlanır (2, 4, 6). TSK içinde bazı hücreler bulunur. Bu hücreler; Sertoli hücreleri, spermatogoniyumlar, primer spermatositler, sekonder spermatositler, spermatidler ve spermatozoonlar (spermiumlar)'dır (1-3). Spermatogonia doğurucu hücre olarak adlandırıldığından, cellulae germinales adı da verilir (3). Bazı hücreler ise TSK'nın dış kısmında yani intersitisyel alanda bulunur. Poligonal şekilli olan bu hücrelere Leydig hücreleri ya da endocrinocytus interstitialis denir (1-3).

3.1.1.2. Leydig Hücreleri (Endocrinocytus İnterstitialis)

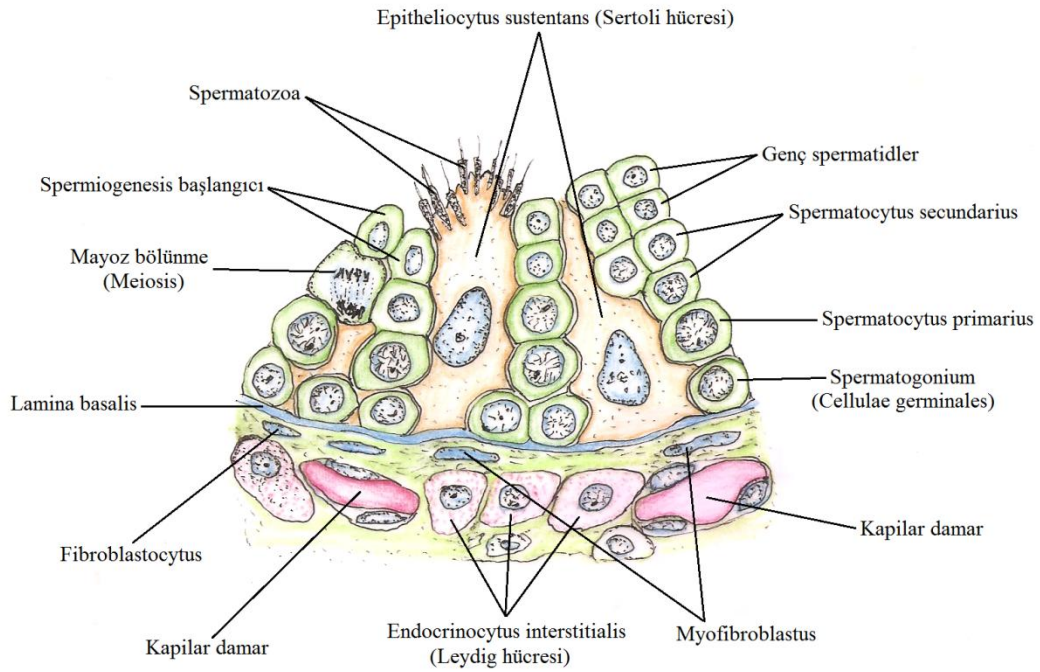
Leydig hücreleri TSK'ların arasındaki gevşek bağ doku içerisinde tek tek ya da kümeler halinde bulunan hücrelerdir. Sitoplazmasında bol miktarda lipid damlacıkları bulunan bu hücreler, erkeklik hormonu olan testosteronu salgılar (1-4, 6). Testisin endokrin fonksiyonu Leydig hücrelerinin salgıladığı testosteronla sağlanır. Hücrelerden salgılanan testosteron gevşek bağ doku içerisindeki doku sıvısı yolu ile TSK'lara ve bu arada da az bir miktarı kılcal damarlara geçer. Kılcal damarlar yolu ile dolaşıma geçen testosteron ise genital organların ve eklenik genital bezlerin gelişimi ile sesin kalınlaşması, ibik, yele, boynuz ve sakalın büyümesi, cinsel arzunun artması gibi sekonder erkeklik özelliklerin ortaya çıkmasını sağlayan bir hormondur (1, 2).

Seminifer tubuller içine yerleşmiş olan Sertoli hücreleri ve spermatogenik seri hücrelerinin beslenmesi intersitisyel alandaki bağ doku içinde bulunan kan damarlarından difüzyon yolu ile gerçekleşmektedir. Bu kan damarları sadece Leydig hücrelerinin beslenmesi için değil aynı zamanda tubulun beslenmesi için de önemlidir (7).

Leydig hücreleri fetal dönemden itibaren testosteron salgılamaya başlar. Luteinleştirici hormon (LH) testosteron sentezlenmesini ve salgılanmasını uyarır. Testosteron hormonu hem Sertoli hücrelerinin fonksiyonlarının gerçekleşebilmesi hem de spermatogenezisin oluşabilmesi için gereklidir. Leydig hücreleri fetal dönemde, gebelik döneminin ortalarına doğru dinlenme sürecine girer. Bu dönemde Leydig hücreleri aktif değildir. Dinlenme dönemi gebeliğin ortasından ergenlik dönemine kadar devam eden uzun bir süreçtir. Ergenlik döneminden

itibaren, Leydig hücreleri hipofiz ön lobundan salgılanan LH uyarımı ile tekrar testosteron salgılamaya başlar. Bu işlev hücrenin hayatı boyunca devam eder (1, 2, 8).

Sıçanlarda Leydig hücreleri ilk olarak embriyonal gelişimin 15. gününde ortaya çıkmaktadır. Androjen sentezi ile salgı yapmaya başlayan Leydig hücreleri prepubertal dönemde mezenşimal hücrelerden farklılaşır. Bu farklılaşma sonucunda postnatal dönemin 28. gününde morfolojik olarak belirlenebilen ilk Leydig hücreleri oluşmaktadır. Oluşan bu hücrelerin bölünmesi ile erişkin olan Leydig hücreleri şekillenmektedir (9). Seminifer tubul ve içindeki hücreler, seminifer tubul çevresindeki doku ve buradaki hücreler Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Seminifer tubulu çevreleyen doku yapısı. Seminifer epitel iki tip hücreden oluşmuştur: Spermatogenik seri hücreleri ve destek ya da Sertoli hücreleridir (3, 5).

3.2. Diabetes Mellitus

Diabetes eski Yunanca'da aşırı idrar yapımını anlatan ve 'sifon' anlamına gelen bir kelimedir. Mellitus kelimesi de yine Yunanca'da 'bal' anlamına gelen 'mel' kelimesinden ilham alınarak geliştirilen bir kelimedir (10).

Diabetes mellitus (DM), insülin hormonunun eksikliği ya da insülin hormonunun etkisindeki eksikliklerden dolayı organizmada bulunan karbonhidrat, yağ ve proteinlerden organizmanın yeterince yararlanamadığı kronik bir metabolizma hastalığıdır. Diyabet, dünya nüfusunun yaklaşık olarak % 3'ünü etkileyen önemli bir hastalıktır. Diyabetin en önemli belirtisi ise hiperglisemidir. Kandaki şeker (glikoz) seviyesinin normalden yüksek olmasına hiperglisemi denir. Yüksek düzeylerdeki glikoz organizmada bulunan proteinlerle birleşir ve kimyasal olarak geri dönüşebilen glikolizasyon ürünlerine dönüşür. Bu dönüşüm kan glikoz düzeyi ile doğru orantılı bir şekilde artış gösterir. Glikozun kan damarlarının duvarlarında ya da intersitisyel dokularda bulunan kollajenle ve diğer uzun ömürlü proteinlerle oluşturduğu glikolizasyon, bir seri kimyasal tepkime geçirdikten sonra geri dönüşümü mümkün olmayan glikolizasyon son ürünlerine dönüşür. Hiperglisemi devam ettiği sürece bu birikim artmaya devam eder. Diyabette oluşan glikolizasyon son ürünleri mikroanjiyopati, retinopati, nefropati, nöropati gibi önemli komplikasyonların ortaya çıkmasında rol oynamaktadır (11, 12).

Tip 1 diyabet otoimmün bir sürece bağlı olup normal kilolu veya zayıf kişilerde insülin yetmezliği ile karakterize iken, tip 2 diyabet fazla kilolu kişilerde insülin direnci ve hiperinsülinemi ile karakterizedir (13).

Türkiye’de diyabet görülme oranı bölgesel olarak farklılıklar göstermektedir. Bu farklılık ise % 4.3 ile % 9.6 arasında değişim göstermektedir. Yirmi yaşın üzerinde olan nüfus için ortalama diyabet görülme oranı % 7.2’dir. Türkiye’de bulunan nüfusun ortalama % 3.6’sının diyabetli olmasından dolayı 2.400.000 kişi, dünyada ise 130.000.000 diyabetli hasta bulunması diyabetin sadece bir hastalık olarak tanımlanmaması aynı zamanda ekonomik olarak da bir sorun olarak tanımlanmasına neden olur (14, 15).

3.2.1. DM’nin Tanısı

Dünyada DM’nin tanısı konusunda oldukça sık değişiklikler olmuştur. Diyabetin tanısı için Amerikan Diyabet Birliği (ADA) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) uzmanları tarafından çok sayıda panel düzenlenmiştir. Düzenlenen bu paneller sonucunda gözden geçirilen ve uzlaşma sağlanan tanı kriterleri açıklanmıştır (13).

ADA’nın belirlediği tanı kriterlerine göre DM’nin en basit tanısı açlık venöz plazma glikoz düzeyinin en az iki defa arka arkaya ölçülmesiyle 126 mg/dl ya da bu değerden daha yüksek çıkması ile tanı konur. Yine gün içerisinde herhangi bir saatte açlık ve tokluk durumuna bakılmadan venöz plazma glikoz düzeyinin 200 mg/dl’nin üzerinde çıkması ve bununla birlikte polidipsi (aşırı su içme), poliüri (aşırı idrar yapma), polifaji (aşırı yeme) ve zayıflama gibi diyabete ait olan belirtilerin varlığı ve bunun yanında ikinci bir ölçüm ile doğrulama yapma kaydıyla tanı konulabilir. Açlık esnasındaki plazma glikoz düzeyi 100 mg/dl’nin üzerinde olan ve diyabet açısından yüksek risk taşıyan bireylerde oral glikoz

tolerans testi (OGTT) yapılarak bozulmuş glikoz toleransı ya da diyabet araştırılmalıdır (14).

ADA'ya göre DM'nin en basit tanı kriterleri şu şekilde yapılabilir:

1.Diyabet belirtileri ve ≥ 200 mg/dl rastgele ölçülen plazma glikoz düzeyi: Günün herhangi bir saatinde öğüne bakılmaksızın ölçülen plazma glikoz değeri, aşırı idrar yapma, aşırı su içme ve açıklanamayan kilo kayıpları.

2.Açlık esnasındaki plazma glikoz düzeyi ≥ 126 mg/dl: En az 8 saatlik tam bir açlık sonrasında ölçüm yapılmalıdır.

3.OGTT sırasında 2. saatlik plazma glikoz düzeyinin > 200 mg/dl olması (14).

3.2.2. DM'nin Komplikasyonları

Diyabet, akut ve kronik komplikasyonları bulunan ve metabolik seyirli olan bir hastalıktır. Uzun süre devam eden diyabet, vasküler hücreleri ve bazal membranları etkileyerek tüm damarların yapısını bozar (16, 17). DM'nin mikroanjyopati, retinopati, nefropati, nöropati ve daha birçok komplikasyonu bulunmaktadır (11, 12). Bu komplikasyonlara ek olarak, DM'nin erkek üreme sistemi üzerine de olumsuz etkileri bulunmaktadır (18).

3.2.3. DM ve Testis

Diyabetin, sperm hücrelerinin yapılarını bozarak ya da sperm hücrelerinin gelişimi üzerinde etkili olan hormonların seviyesini değiştirerek veya her ikisini birden gerçekleştirerek testisleri olumsuz etkilediği düşünülmektedir (18). Diyabetin penil ereksiyon ve ejakülasyonu olumsuz etkilediği, spermatogenezis

üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (18, 19). Diyabete bağlı olarak artan oksidatif stresin, reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikallerin aşırı üretimini tetiklediği görülmüştür (19). Serbest radikaller bağışıklık sistemine ait hücreler için gerekli olsa da serbest radikallerin fazla üretilmeleri durumunda doku hasarı ve hücre ölümü görülmektedir (20). Diyabetin patogenezisinde ve yan etkilerinde doku hasarı önemli bir faktördür (21).

Diyabetli testislerde apoptozis artmakta ve bu da testislerde fonksiyon bozukluklarına sebep olmaktadır (22). Diyabetin testosteron seviyesinde meydana getirdiği azalmanın yanı sıra testiküler disfonksiyon ve spermatogenezis üzerindeki olumsuz etkileri yapılan çalışmalarda gösterilmiş olup, diyabetin üreme fonksiyonları üzerinde olumsuz etkileri bildirilmiştir (23). Testislerde; tunika albugineyada, seminifer tubullerde, interstisyel bağ dokusunda ve Leydig hücrelerinde diyabete bağlı olarak meydana gelen histolojik değişiklikler bildirilmiştir (23).

Streptozotosin ile oluşturulmuş deneysel diyabet modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda seminifer tubul üzerinde bulunan reseptörlerin diyabete bağlı olarak olumsuz etkilenmeleriyle, folikül uyarıcı hormon (FSH) sentezinin azaldığı, testosteron seviyesinin düştüğü ve buna bağlı olarak Leydig hücrelerinde azalmanın olduğu bildirilmiştir (24). Androjen ve spermilerin üretildiği testisler, antioksidanlar tarafından korunmasına rağmen, endojen ve eksojen kaynaklı faktörler oksidatif stres oluşturmakta ve böylece testisler üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır (25).

3.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres organizmadaki antioksidan ve prooksidan dengenin bozulması olayına denir (26). Oksidatif stres hücrelerde bulunan lipid tabakanın peroksidasyonuna sebep olan serbest radikallerin üretimi ve vücutta bulunan antioksidan mekanizmalar aracılığıyla vücudun kendini savunması arasındaki dengenin bozulması olarak da tanımlanabilir (27). Mevcut olan bu dengenin bozulması diyabet, kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi bazı hastalıkların ortaya çıkmasında rol oynamaktadır (28).

DM günümüz koşulları nedeniyle dünyada gittikçe artan, yüksek morbidite ve yüksek mortaliteye sebep olan metabolik bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda oksidatif stresin diyabetin etiyolojisinde rol aldığı ve diyabetin ilerlemesine sebep olduğu, serbest oksijen radikalleri ve lipid tabakasındaki peroksidasyonu arttırdığı gözlemlenmiştir (29).

3.3.1. Oksidatif Stres ve DM

Deneyssel olarak diyabet oluşturulmuş sıçanlarda ve diyabetik hastalarda oksidatif stresin artmasının, ROS'un aşırı artması ve antioksidan savunma mekanizmasındaki azalmanın bir sonucu olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (30).

Diyabete bağlı olarak ortaya çıkan komplikasyonların ROS ile olan ilişkisini açıklayan çalışmalarda; enzimatik olmayan glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişiklikler sonucunda ortaya çıkan metabolik stres, hipoksi ve iskemi reperfüzyon sonucunda gerçekleşen doku hasarlarının serbest radikal

oluşumunu artırdığı bildirilmektedir. Hiperglisemi ve oksidatif stres arasında bir ilişki olduğu görüşü yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (31).

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, insanlardaki DM'ye benzer bir model oluşturmak amacıyla kullanılan N-nitroso türevi D-glikozamin yapısında olan STZ, oksidan maddeler oluşturmak suretiyle pankreasdaki Langerhans adacıklarını seçici olarak hasara uğratmakta ve STZ'nin bu şekilde diyabeti başlattığı düşünülmektedir (32, 33).

Araştırmacıların yaptığı çalışmalar sonucunda gözlemlenen bulgular; vasküler komplikasyonları olan diyabetik hastalarda hem düşük dansiteli lipoprotein oksidasyonunda hem de nonenzimatik glikasyonunda hiperglisemiye bağlı artışlar olduğunu göstermektedir (20). Pankreasdaki Langerhans adacık hücrelerinde yüksek glikoz düzeyi hücresel strese sebep olurken, antioksidan enzim aktivitelerinin yeteri kadar yüksek olmaması, oksidatif strese en duyarlı dokular arasına, pankreastaki beta hücrelerini de dahil etmektedir (20, 34).

3.3.2. Oksidatif Stres ve Testis

Oksidatif stres erkek üreme sisteminde bozukluk ve anormalliklerle bağlantılı olan diyabetin patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (35-37). Diyabet, testisdeki oksidatif savunmada kritik rol oynayan Nrf2 geninin azalmasına sebep olur (37, 38). Yapılan çalışmalar, diyabetten muzdarip olan erkeklerin ileri glikasyon ürünleri ve onların reseptörlerindeki artışa sahip olduğunu göstermiştir. Reseptörlerdeki bu artış; sperm kalitesinin bozulmasına, testiküler metabolit seviyesindeki fonksiyon değişikliklerine ve spermatogenik gen ekspresyonunun bozulmasına sebep olur (35, 36, 39). Son yıllarda yapılan

Çalışmaların çoğu göstermiştir ki, antioksidan tedavisi glisemik indeksin iyileşmesine ve diyabetik komplikasyonların azalmasına sebep olur. Ayrıca antioksidan tedavisi oksidatif stresi indükleyen serbest radikallere karşı koruyucudur (40, 41).

3.4. Antioksidanlar

Bileşikler, iki ya da daha fazla elementin kendi aralarında kimyasal bağ oluşturması ile ortaya çıkmaktadır. Bu bağlar negatif yüklü elektronlarla sarılı haldedir. Böyle bir düzenin olması bileşiğe kararlılık sağlamaktadır. Kararlı halde olan bileşiklerin elektronları çiftlenmiş haldedir. Eğer elektron çiftlenmemiş halde ise molekül daha reaktif ve kararsız duruma geçer. Bir veya daha fazla sayıda çiftlenmemiş elektron bulunduran element veya bileşiklere ‘serbest radikal’ ya da ‘oksidan’ denir (42).

İnsan vücudunda bulunan elektronların tamamına yakın bir kısmı elektron çifti halindedir. Elektronlar arasında bulunan bir bağ koptuğu zaman elektronlar ya birlikte kalır ya da birbirlerinden ayrılır. Eğer elektronlar birlikte kalırlarsa oluşan atom ‘iyon’ olarak adlandırılır. Eğer elektronlar ayrılırlarsa ‘serbest radikaller’ oluşur. Eşleşmemiş bu elektronlar yüksek enerjiye sahip olup, eşleşmiş olan elektronları birbirinden ayırır ve böylece onların fonksiyonlarına engel olur. Sonuç olarak, serbest radikaller kendine bir çift elektron alarak elektron çifti haline gelir ve diğer elektron serbest radikale dönüşür (43). Serbest radikaller oksidatif reaksiyonlar sonucunda lipid, protein ve nükleik asitler gibi vücutta bulunan bileşiklere zarar verip birçok biyolojik sorunun ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (44).

Bazı mekanizmalar sonucunda meydana gelen serbest radikallere karşı vücutta doğal bir savunma mekanizması bulunur. Savunma mekanizmasını oluşturan bu bileşiklere ‘antioksidanlar’ denir (42). Antioksidanlar, serbest radikaller için kolay bir elektron hedefi oluşturmak suretiyle serbest radikallere uygun olan elektronun bağlanmasını ve böylece sabit bir yapı oluşumunu sağlar (43). Hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün korunmasında ve normal fonksiyonlarını yerine getirmelerinde, oksidan ve antioksidan sistem arasında var olan dengenin korunması oldukça önemlidir. Organizmada bulunan oksidatif denge bozulmadığı sürece, organizma serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bazı sebeplerden dolayı savunma mekanizması aracılığıyla ortadan kaldırılardan daha fazla radikal meydana gelmesine ise ‘oksidatif stres’ denir (45). Metabolizmada kullanılan oksijen çeşitli sebeplerden dolayı aktif oksijen formlarının oluşumuna katılmaktadır (46). Oksidatif hasar oluşuktan sonra eğer bu hasar giderilmezse, zamanla artış gösterip diyabet, kalp damar hastalıkları ve kanser gibi birçok hastalığın oluşmasına sebep olabilir (44, 45, 47).

Bir metabolizma düzgün olarak çalışıyorsa mitokondriyel sitokrom sistemi, sitozoldeki organelleri oksidanların zararlı etkilerinden korur. Eğer bu sistem yetersiz kalırsa devreye doğal enzimler girer. Eğer bu enzimler de oksidanları etkisiz hale getiremezse, oksidanlar ilk önce hücre zarındaki lipidleri olumsuz etkiler ve lipid peroksidasyonunu başlatır. Lipid peroksidasyonu, membranlardaki doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikallerince peroksitler, alkoller, aldehitler gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Bu reaksiyon sonucunda oluşan biyoaktif aldehitler hücre hasarına sebep olmaktadır

(48). Lipid peroksidasyonu sırasında vücutta yeterli miktarda C ve E gibi antioksidan vitaminler bulunursa, bu tip hücrel hasarlar engellenebilir (42).

Oksidatif stresin diyabetin kronik komplikasyonlarının oluşmasında oldukça önemli bir rolünün olduğu düşünülmektedir (49). Bu bilgidan hareketle vücuda dışarıdan verilen antioksidanların diyabetin kronik komplikasyonlarının hafifletilmesinde ya da ortaya çıkmasının engellenmesinde yararlı olabileceği fikri ileri sürülmüş olup diyabetin tedavisinde antioksidan maddelerin veya antioksidan özellikte olan ajanların kullanılmasının oksidatif stresi ortadan kaldırabilmek için gerekli olabileceği fikri ortaya çıkmıştır (49). Tüm bu bilgilere dayanarak bir antioksidan olan vitamin D'nin bu amaçlar için kullanılabileceği fikri ortaya çıkmıştır (49).

3.4.1. Vitamin D

Vitamin D, derinin 290-315 nanometre dalga boyuna sahip olan ultraviyole ışınlarına maruz kalması ile sentezlenir (50). Vitamin D yağda eriyen bir vitamindir. Endojen olarak uygun biyolojik ortamda sentezlenebilmesi, vitamin D'yi hormon ve hormon öncülleri olan sterol grubuna dahil etmektedir. Vitamin D'nin en önemli etkisi kalsiyum ve fosfor metabolizması ve bununla birlikte kemik mineralizasyonu üzerinedir (51, 52). Sayılan bu bilgilere ek olarak son yıllarda vitamin D eksikliğinin kalp damar hastalıkları, yaygın kanserler, enfeksiyöz ve otoimmün hastalıkların da içinde bulunduğu birçok kronik hastalıkla ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (53, 54).

Vitamin D'nin en fazla bulunduğu gıdalar karaciğer, balık ve yumurta sarısıdır. Diyet ile alınan D2 ve D3 vitamini şilomikronlarla birleşir ve daha sonra

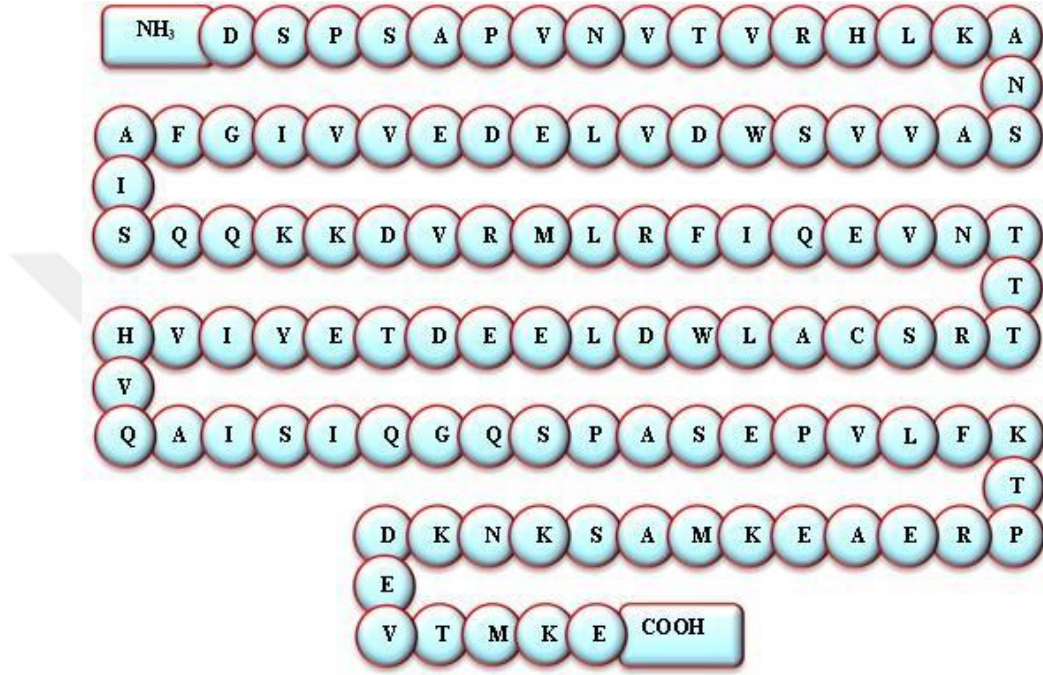
lenfatik sistem ile venöz dolaşıma geçer. Diyet ile alınan veya endojen olarak yapılan D2 veya D3 vitamini yağ hücrelerinde depo edilir. İhtiyaç duyulması durumunda depo edilen vitaminler dolaşıma verilmektedir (55, 56).

Vitamin D ve metabolitlerinin apoptozisi kontrol ettiği, malign hücrelerin büyümesini ve çoğalmasını engellediği fikri yapılan çalışmalar sonucunda bildirilmiştir (57). Ayrıca kemik ve kalsiyum metabolizmasını seçici olarak etkileyen vitamin D'nin, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde de önemli rol oynadığı düşünülmektedir (57). Vitamin D'nin, kanda insülin seviyesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayarak şeker metabolizmasında rol aldığı düşünülmektedir. Vitamin D güçlü bir anti-proliferatif, prodiferansiyatif ve immunomodülatör etkiye sahiptir (58). Vitamin D3'ün geçtiğimiz on yılda antioksidatif etkilere sahip olduğu fikri de bildirilmiştir (59). Ayrıca yapılan çalışmalarda vitamin D3'ün dokularda redüktan bir madde olduğu bilinen ve oksidatif strese karşı koruyucu etkiye sahip olan G6PDH (glikoz 6 fosfat dehidrogenaz) ekspresyonunda artış meydana getirerek antioksidan etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (60).

3.5. İrisin

İrisin; 2012 yılında Boström ve ark. (61) tarafından keşfedilmiştir. Enerji metabolizmasında görevli olan irisin, 112 aminoasitlik peptid yapıya ve 12587 dalton ağırlığa sahip olan bir hormondur (61, 62). İlk zamanlarda 'egzersiz faktörü' ya da 'çalışma faktörü' olarak da adlandırılan irisin, Yunan mitolojisinde tanrılardan fani olan insanlara müjdeli haberler getiren Thaumas ile Elektra'nın kızı olan Ebemkuşağı (gökkuşağı)'nın sembolü anlamına gelen İris'den

türetilmiştir (63). İrisin hormonunun ana fonksiyonu beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna çevirerek enerjinin ısı olarak ortaya çıkmasını sağlamaktır (61, 64). İrisin hormonunun amino asit dizilimi Şekil 3’de gösterilmiştir.



Şekil 3. İrisin hormonunun amino asit dizilimi (65).

İrisin, fibronectin type III domain containing 5 (FNDC5) geni tarafından kodlanır. FNDC5 proteolitik olarak yarıklanıp sekrete edilir. Bununla birlikte bu proteinin proteolizi, çoğu yönüyle halâ aydınlatılamamıştır. Bundan dolayı molekül ağırlığındaki bu muhtemel farklılıklar, kültür ortamında glikolizasyona atfedilebilirken, fare plazmasında glikolizasyon gözlenmemiştir. Ayrıca Boström ve ark. (61) FNDC5 ekspresyonunun egzersiz ile indüklenip ardından FNDC5’in kırılarak irisinin serbestlendiği bir yolak göstermiştir (61, 66).

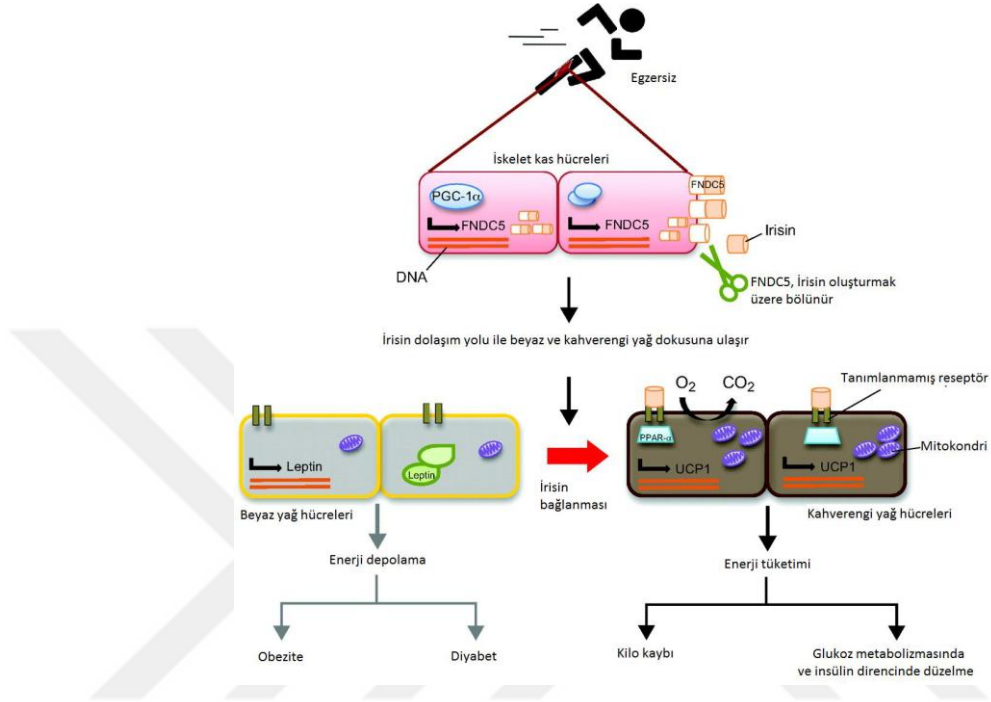
İrisin, temel olarak iskelet ve kalp kasından üretilir. İskelet kasından salınan irisin; otokrin, parakrin ve endokrin etkileri olan bir hormondur (67). İlk

zamanlarda irisin hormonunun üretiminde primer organ olarak iskelet kası sorumlu tutulmuş olmasına rağmen yakın zamanda yapılan çalışmalarda kalp kasının iskelet kasına oranla daha fazla irisin ürettiği iddia edilmiştir. Özellikle kalp kasının toplam hacminin de irisin seviyesinde etkili olduğu fikri ileri sürülmüştür (68, 69).

Roca Rivada ve ark. (67) yaptıkları çalışmada, irisinin sadece kas dokusundan sentezlenmediği, aynı zamanda FNDC5 kırılarak yağ dokudan da sentezlendiği bilgisini rapor etmişlerdir. Diğer bir anlatımla subkutan yağ dokusunun FNDC5/irisini visceral yağ dokusuna göre daha fazla salgıladığı bulunmuştur. Bu bilgiler visceral yağ dokusunun metabolik komplikasyonlarla daha fazla ilişki halinde olabileceğini tekrardan akla getirmiştir. Aynı çalışmada kısa periyotlu egzersiz çalışmalarının FNDC5 sekresyonunu beyaz yağ dokusundan arttırdığını bildirmişlerdir. Tüm bu bilgilere ek olarak irisin salınımı, belirgin bir biçimde aç bırakılan hayvanlarda azalırken, şişmanlatılmış hayvanlarda ise arttığı ileri sürülmüş ve bunun da insülin direnci ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (61, 70).

Egzersizin bir transkripsiyon co-faktörü olan PPAR gama co-aktivatörü (PGC1 α) aracılığı ile enerji metabolizmasını ve ilgili çok sayıdaki biyolojik süreci düzenlediği bildirilmiştir (70). Başta kahverengi yağ dokusu olmak üzere çok sayıdaki hücre grubunda mitokondriyal biyogenezi ve oksidatif metabolizmayı düzenleyen uncoupling protein 1 (UCP1), PGC1 α uyarısı ile salınmaktadır. Kas dokusu ile yağ dokusu arasındaki iletişim PGC1 α uyarısı ile kana salınan FNDC5 aracılığı ile olmakta ve özellikle yağ dokusundaki UCP1 düzeylerinin artması ile mitokondriyal biyogenez ve oksidatif metabolizma

düzenlenmektedir. UCP1 artışı beyaz yağ hücrelerinin kahverengi yağ hücresi gibi davranmasına sebep olmaktadır (71, 72). Egzersiz ile indüklenen PGC1 α ve irisinin yağ dokusu üzerine olan etkileri Şekil 4’de gösterilmiştir.



Şekil 4. Egzersiz ile indüklenen PGC1 α ve irisinin yağ dokusu üzerine olan etkileri (73).

İrisin immünreaktivitesine, kalp ve iskelet kasına ek olarak yağ dokusu, intrakraniyal arterler, böbrekler, miyelin kılıf, nöral hücreler, optik sinir, retina, tiroid, ovaryumlar, Purkinje hücreleri, rektum, tükürük bezleri, ekrin ter bezi, mide, akciğerler, dil, karaciğer, ince bağırsak, derinin dermis ve hipodermis tabakalarında da rastlanmıştır (61, 62, 74-82). Bu dokulara ek olarak, irisin immünreaktivitesine testis dokusunda da rastlanılmıştır (83). Aydın ve ark. (83) yaptıkları çalışmada, irisin immünreaktivitesine fötal insan testislerindeki seminifer tubullerde, spermatogenik hücrelerde ve Leydig hücrelerinde; yetişkin insan testisinde ise Leydig hücrelerinde ve epididimide rastlamışlardır.

3.5.1. İrisin ve DM

Diyabet ve kalp damar hastalıklarının patofizyolojisinde oldukça önemli rol oynayan insülin direnci ve kronik inflamasyonun kontrol altına alınabilmesinde PGC1 α 'nın oldukça kritik bir önemi vardır (73, 84, 85). Başta kahverengi yağ dokusu olmak üzere çok sayıdaki hücre grubunda mitokondrial biyogenez ve oksidatif metabolizmayı düzenleyen UCP1, PGC1 α uyarısı ile salınmaktadır. Kas dokusu ile yağ dokusu arasındaki iletişim PGC1 α uyarısı ile kana salınan FNDC5 (irisin) sayesinde olmakta ve özellikle yağ dokudaki UCP1 düzeylerinin artması ile mitokondrial biyogenez ve oksidatif metabolizma düzenlenmektedir (72). Bilinen en önemli fizyolojik rolü, beyaz yağ dokudan kahverengi yağ doku gelişimini sağlamak olan irisin, enerji deposu olarak bilinen beyaz yağ doku düzeyini azaltarak enerji açığa çıkmasını sağlar. İrisin bu farklılaşmayı başta UCP1 olmak üzere kahverengileşmeyi sağlayan diğer proteinlerin düzeylerini arttırarak gerçekleştirir. Bu sebeple gelecekte obezite ve diyabet başta olmak üzere birçok metabolik hastalığın tedavisinde umut vaad eden bir ajan olarak öngörülen (61) irisinin, sinir sisteminin oluşum ve gelişimi süreçlerinde önemli bir rolünün olduğu araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (86, 87).

Son yapılan diyabet çalışmaları, irisinin nöronal alanlardaki fizyolojik ve moleküler bir takım süreçlerde de etkin rol oynayabileceği fikrini ortaya koymuştur (88, 89).

Amaç: Sunulan tez çalışmasında sıçanlarda STZ ile deneysel olarak diyabet oluşturularak;

-Testis dokusunun histopatolojisi, irisin immünreaktivitesi ve apoptozis değerleri,

-Serum TAS ve TOS değerleri,

-Doku ve serum irisin düzeyleri,

ve bu değerler üzerine vitamin D'nin etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için gerekli etik izin, Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 16.12.2015 tarihli oturumunda 22 toplantı sayılı ve 210 nolu kararı ile alınmıştır. Hayvan deneyi Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) biriminde, laboratuvar analizleri ise Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

4.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Yapılan deneysel çalışmada 41 adet 8-10 haftalık erişkin Wistar albino ırkı erkek sıçan kullanıldı. Kullanılan sıçanlar FÜDAM biriminden alındı. Sıçanlara FÜDAM hayvan laboratuvarında, 22-25 °C ortam ısısında, 12 saat aydınlık (07:00-19:00) ve 12 saat (19:00-07:00) karanlık periyodunda ve standart kafeslerde, ad libitum besleme ile bakıldı. Hayvanlara Elazığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası'nda hazırlanan standart yemler verildi. Yemlerin içeriği Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin içeriği (90).

Sıçan Yeminin Terkibi	%
Buğday	15
Mısır	10
Arpa	27
Kepek	8
Soya	29.4
Balık Unu	8
Tuz	0.6
Kavimix VM 23-Z*	0.2
Methionin	0.2
DCP **	1.6

* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0.8 mg K₃, 0.8 mg B₁, 2.4 mg B₂, 1.2 mg B₆, 0.006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3.2 mg Cal. D. Panth. 0.32 mg Folic acid, 0.02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0.8 mg I, 0.2 mg Co, 0.06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca. ** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0.2 flor'dan oluşur.

4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Canlı ağırlıkları 200-220 g arasında olan 8-10 haftalık 41 adet Wistar albino ırkı erkek sıçan, grup (1, 2 ve 3) de 7'şer hayvan, grup (4 ve 5) de 10'ar hayvan olacak şekilde ayarlandı ve sıçanlar 5 gruba ayrıldı;

Grup I (Kontrol grubu); 8 hafta olan deney süresince sıçanlara herhangi bir işlem yapılmadı. Deney başlangıcında ve deney sonunda sıçanların glikoz seviyeleri ölçölüp kaydedildi.

Grup II (Sitrat buffer grubu); Sıçanlara tek doz 0.1 M sodyum sitrat tamponu i.p olarak uygulandı. Deney başlangıcında ve deney sonunda sıçanların kan glikoz düzeyleri ölçölüp kaydedildi.

Grup III (Vitamin D grubu); 8 hafta olan deney süresince sıçanlara her gün Vitamin D 50 IU/gün oral yolla, damlalık aracılığıyla uygulandı. Deney başlangıcında ve deney sonunda sıçanların kan glikoz düzeyleri ölçölüp kaydedildi.

Grup IV (Diyabet grubu); Streptozotosin 0.1 M sodyum sitrat tamponunda (pH:4.5) çözdürölldü ve sıçanlara 50 mg/kg, tek doz i.p olarak uygulandı. Bu uygulamadan 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kandan, kan glikoz düzeyi 250 mg/dl üzerinde olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi. Deney başlangıcında ve deney sonunda sıçanların kan glikoz düzeyleri ölçölüp kaydedildi.

Grup V (Diyabet+vitamin D grubu); Streptozotosin 0.1 M sodyum sitrat tamponunda (pH:4.5) çözdürölldü ve sıçanlara 50 mg/kg, tek doz i.p olarak uygulandı. Bu uygulamadan 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kandan, kan glikoz düzeyi 250 mg/dl üzerinde olan hayvanlar diyabetik kabul edildi. Deneysel diyabet oluşturulduktan sonra deney süresi olan 8 hafta boyunca hayvanlara her

gün vitamin D 50 IU/gün, oral yolla, damlalık aracılığı ile verildi. Deney başlangıcında ve deney sonunda sıçanların kan glikoz düzeyleri ölçülüp kaydedildi.

4.3. Diyabet İndüksiyonu

Diyabet oluşturmak için 26 gauge'lik insülin enjektörüyle STZ (Streptozosin, Zanosar, Pharmacia, France) 0.4 ml (0.1 M) sodyum sitrat tamponunda (pH:4.5) çözündürülüp, diyabet ve diyabet+vitamin D grubundaki 20 adet sıçana tek doz i.p 50 mg/kg olarak uygulandı. Bu uygulamadan 72 saat sonra, sıçanların kuyruk veninden kan alındı. Alınan kanın glukometre cihazında ölçülmesi sonucu açlık kan glikozu >250 mg/dl'nin üzerinde olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Kan şekerinin ölçümü Glucostix (Myles, Ekhart, IN) cihazı ile yapıldı. Sıçanların açlık kan glikoz seviyelerini belirlemek için, kan örnekleri 8-10 saatlik açlık sonrasında sabah saat 8-10 arasında alındı.

4.4. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Alınması

Beş grupta bulunan toplam 41 adet sıçan, 8 haftalık deney sonunda tartıldı ve canlı ağırlıkları kaydedildi. Biyokimyasal analizler için kuyruk veninden kan alındı. Daha sonra ketamin (75mg/kg)+xylazine (10mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında sıçanlar dekapite edildi. Dekapitasyon işleminden hemen sonra sıçanların testis dokuları hızlı bir şekilde çıkarıldı. Histolojik çalışma yapmak için alınan testis dokuları Bouin solüsyonunda tespit edildi. Tüm sıçanlara ait serum ve testis dokuları biyokimyasal analizlerden olan ELISA yöntemiyle çalışabilmek için alındı ve -80 °C'de saklandı.

4.5. Histolojik Çalışmalar

4.5.1. Doku Takibi ve Kesitlerin Alınması

Tüm sıçanlardan alınan testis dokuları Bouin (Biognost, BOU-OT-1L, Zagreb, Croatia) solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirildi. Histolojik takip serilerine ait prosedür Tablo 2’de verildi. Daha sonra alınan testis dokuları parafin bloklara gömüldü ve bu parafin bloklardan mikrotom (Leica, RM2125, Wetzlar, Almanya) ile 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler hematoksilen-eozin metodu ile boyandı. Boyanan preparatlar araştırma mikroskopunda incelendi ve fotoğraflandı.

Tablo 2. Histolojik takip serileri (91).

Sıra	İşlem	Süresi
1	% 70'lik Alkol	2 s
2	% 80'lik Alkol	1.5 s
3	% 96'lık Alkol I	30 dk
4	% 96'lık Alkol II	30 dk
5	% 100'lük Alkol I	30 dk
6	% 100'lük Alkol II	30 dk
7	Alkol+Ksilol	15 dk
8	Ksilol I	15 dk
9	Ksilol II	15 dk
10	Yumuşak parafin+Ksilol	45 dk
11	Yumuşak parafin	1 s
12	Yumuşak parafin+Sert parafin	1.5 s
13	Sert parafin	3 s
14	Gömme	

4.5.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu

Hematoksilen-eozin boyama prosedürü Tablo 3’de verildi.

Tablo 3. Hematoksilen-eozin boyama prosedürü (92).

Sıra	İşlem	Süresi
1	Ksilol I	5 dk
2	Ksilol II	5 dk
3	% 100’lük Alkol I	1 dk
4	% 100’lük Alkol II	1 dk
5	% 96’lık Alkol I	1 dk
6	% 96’lık Alkol II	1 dk
7	Çeşme suyu	10 dk
8	Mayer hematoksilen	15 dk
9	Ilık çeşme suyu	20 dk
10	Eozin	15sn-2dk
11	% 96’lık Alkol I	2 dk
12	% 96’lık Alkol II	2 dk
13	% 100’lük Alkol I	2 dk
14	% 100’lük Alkol II	2 dk
15	Ksilol	5 dk
16	Kapatma medyumu kullanılarak lamel ile kapatma	

4.5.3. TUNEL Boyama Metodu

Apoptozisi ortaya koymak için, Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick and labeling (TUNEL) metodu kullanıldı (93). Üretici firmanın (ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, Merck) prosedürüne uygun olarak hareket edildi.

Polilizinli lamlara alınan dokular ksilol ile deparafinize edildi ve deparafinize işleminden sonra dokular dereceli alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra dokular phosphate buffered saline (PBS) solüsyonu ile yıkandı. Yapılan bu yıkama işleminden sonra dokular % 0.05'lik proteinase K ile 10 dakika inkübe edildi. Endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için % 3'lük hydrogen peroxide ile 5 dakika inkübe edildi. Dokular PBS ile yıkandıktan sonra, 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edildi. 37 °C'de nemli ortamda çalışma solüsyonu (% 70 µl Reaction Buffer+% 30 TdT Enzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Daha sonra Stop/Wash Buffer da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Perosidaz ile 30 dakika muamele edildi. Diaminobenzidine (DAB) substratı kullanılarak apoptotik hücreler görüntülendi. Harris hematoxilen ile zıt boyası yapılan kesitler uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (Leica, DM500, Almanya) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica, DFC295, Almanya). TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoxilen ile mavi renkte görülen çekirdekler normal ve kahverengi renkte nükleer boyanma gösteren hücreler ise apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütme kullanılarak rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik olan en az 500 adet hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin toplam (normal+apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks

hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı. Pozitif kontrol dokusu olarak sıçan meme dokusu kullanıldı. Negatif kontrol için çalışma solüsyonu yerine ise Reaction Buffer uygulandı.

4.5.4. İmmünohistokimyasal Boyama Metodu

Çalışmada yer alan immünohistokimyasal analizler için immünperoksidaz yöntemi uygulandı (94, 95). İmmünohistokimyasal boyama için parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığındaki kesitler polilizinli lamlara alındı. Alınan kesitler deparafinize edildi ve dereceli alkol serilerinden geçirildi. Bu işlemten sonra antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 15 dakika süre ile kaynatıldı. Kaynatma işleminden sonra soğuması için dokular oda ısısında yaklaşık olarak 20 dakika bekletildi. Oda ısısında soğuyan dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3'er kez tekrarlanmak suretiyle 5'er dakika yani toplamda 15 dakika boyunca yıkandı. Daha sonra dokularda endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksid blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block, TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanan dokulara spesifik olmayan bağlanmaları engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandı. Yapılan bu işlemlerden sonra dokular 1/200 oranında sulandırılan primer antikor (irisin Rabbit Polyclonal H-067-17, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., California, USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse/rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation,

USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Sekonder antikor uygulanmasından sonra dokular tekrar PBS ile 3x5 dakika yıkanıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra dokular tekrar PBS ile yıkandı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate+AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatıldı ve ışık mikroskopunda görüntü sinyali alınır alınmaz dokular PBS ile yıkamaya alındı. Dokuların zıt boyaması Mayer's hematoxilen ile yapıldı. Zıt boyama işlemi tamamlandıktan sonra dokular PBS ve distile sudan geçirildi. Daha sonra boyama işlemi tamamlanan dokular uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295). Pozitif kontrol dokusu olarak sıçan kalp dokusu kullanıldı. Negatif kontrol için rabbit IgG uygulandı.

Yapılan immünohistokimyasal boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4:%26-50, 0.6:%51-75, 0.9:%76-100) ve şiddeti (0:yok, +0.5: çok az, +1:az, +2: orta, +3:şiddetli) esas alınarak, histoskor (yaygınlık x şiddet) yapıldı.

4.6. Biyokimyasal Çalışmalar

4.6.1. Kan Glikoz Düzeyleri

Kan glikoz düzeyleri deney süresi olan 8 hafta boyunca glukometre cihazı Glucostix (Myles, Ekhart, IN) ile ölçüldü.

4.6.2. Doku Homojenatlarının Hazırlanması ve Saklanması

Toplam 41 adet sıçandan alınan testis dokuları -80 °C'ye alındıktan sonra her bir örnek 200 mg olacak şekilde tartıldı. Testis dokularında bulunan kan ve artıkları ortamdan uzaklaştırmak için alınan testis dokuları üç kez fosfat tampon solüsyonu ile yıkandı. Daha sonra her bir doku içerisinde 500 KIU/ml olacak şekilde ayarlanan ependorf tüplerin içerisine yerleştirildi. Her bir ependorf tüp içerisine 200 ml 0.5 mm çaplı zirkonyum oksit boncuklarından konuldu. Bütün örnekler bir ml'ye tamamlanacak şekilde, alınan örneklerle fosfat tamponu ilave edildi. Mikrosantrifüj tüplerinin ağzları kapatılıp, homojenizatörün (Bullet Blender, USA) içerisine yerleştirildi. Dokular homojenizatörde 5 dakika süre ile homojenize edildi. Elde edilen süpernatant tabaka başka bir ependorfa aktarıldı. Tekrar 10 dakika daha 4000 rpm'de santrifüj edildikten sonra üstteki süpernatant ELISA çalışmalarında kullanılmak için ayrıldı ve hemen çalışıldı (65).

4.6.3. TAS ve TOS Ölçümleri

4.6.3.1. TAS Ölçümü

Serum TAS düzeyleri otoanalizörde (Olympus, AU2700, Hamburg, Almanya), Rel Assay Total Antioksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak, Erol'un (96) tekniği ile ölçüm yapıldı.

Örnekteki antioksidanlar, asetat tampon (0.4 mol/L, pH:3.6) solüsyonunun içerisinde konsantre halde bulunan koyu mavi yeşil renkli ABTS•+(30 mmol/L) [2.2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radikalini indirgenmiş renksiz ABTS şekline çevirir. Yüksek pH'daki asetat tampon (0.4 mol/L, pH:5.8) solüsyonu ile sulandırıldığında örneklerde bulunan antioksidanlar sayesinde

ABTS molekülü indirgenir ve renk açılır. Örneklerde bulunan antioksidan maddelerin konsantrasyonu ile renkteki açılma arasında ters bir orantı mevcuttur. Spektrofotometrik olarak saptanan absorbans değişikliği örnekteki antioksidan seviyesi ile ilişki halindedir. Stabil antioksidan standart solüsyonu (Trolox equivalent) ile kalibrasyon yapılır. Vitamin E analogu olan Trolox ile reaksiyon hızı ayarlanır ve birimi Trolox equivalent/L'dir (96).

4.6.3.2. TOS Ölçümü

Serum TOS düzeyleri otoanalizörde (Olympus, AU2700, Hamburg, Almanya), Rel Assay Total Oksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak, Erol'un (97) tekniği ile ölçüm yapıldı.

Örnekte bulunan oksidan ajanlar ferröz iyon şelatör kompleksini ferrik iyona okside eder. Bu reaksiyon okside edici moleküller tarafından devam ettirilir. Ferrik iyonu, asidik ortamda bulunan kromojen ile renkli bir kompleks oluşturur. Spektrofotometrik olarak ölçülen rengin yoğunluğu örneklerde bulunan oksidan maddelerin miktarı ile doğru orantılıdır. Bu ölçüm yöntemi hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve sonuçlar litrede mikromolar hidrojen peroksit equivalent ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L) olarak ölçüm yapılır (97).

4.7. Numunelerde İrisin Düzeylerinin Ölçümü

Sıçanlardan alınan kanlar aprotinin içeren düz biyokimya tüplerine alındı. Alınan kanlar 4000 rpm'de santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve çalışılincaya kadar -80 °C'de bekletildi. Aprotinin içeren tüplerden elde edilen serumlarda da irisın düzeyleri ölçüldü.

Ratların serum ve testis süpernatantlarında irisin düzeyleri, İrisin Enzyme immunoassay (EIA) kiti (Phoenix Pharmaceuticals, EK-067-16, Burlingame, USA) kataloglarında belirtilen çalışma prosedürlerine uyularak çalışıldı.

Kitin Intra assay CV değeri % 8 iken, inter assay CV değeri % 12 idi. Üretici firma tarafından minimum ölçüm limiti, 5 ng/ml olarak belirtilmişti. Doku süpernatantlarında irisin ölçümlerinin doğruluğunu göstermek için biyokimyasal assay geçerlik deneyleri (lineerite, recovery, specifity, sensitivity, intra ve inter assay deneyleri) daha önce tarif edildiği gibi yapıldı (98). Doku süpernatantlarında irisin seviyesinin aynı duyarlılıkla ölçüldüğü tespit edildi. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) cihazı, absorbans okumalarında Bio-Tek ELX800 cihazı ve sonuçları yazdırmada ise panosonik yazıcı kullanıldı. Test sonuçları ng/ml olarak ifade edildi.

4.8. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirlendi ve istatistiksel analizler SPSS 22 programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki değerlendirme One-way ANOVA ve Posthoc Tukey testi kullanılarak yapıldı. $P<0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Canlı Ağırlık Bulguları

Kontrol grubuna ait olan sıçanlarda; deney sonunda ölçülen canlı ağırlık, deney başlangıcında ölçülen canlı ağırlıktan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak izlendi ($p<0.05$). Sitrata buffer ve vitamin D grubunda bulunan sıçanlara ait canlı ağırlık sonuçları, kontrol grubu ile benzerdi. Diyabet ve diyabet+vitamin D gruplarında bulunan sıçanlarda; deney sonunda ölçülen canlı ağırlık, deney başlangıcında ölçülen canlı ağırlıktan kontrol grubunun aksine, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak izlendi ($p<0.05$) (Tablo 4).

Tablo 4. Deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlık ortalamaları (g).

	Kontrol (n=7)	Sitrat Buffer (n=7)	Vitamin D (n=7)	Diyabet (n=10)	Diyabet+Vitamin D (n=10)
Başlangıç vücut ağırlığı (g)	175.00±17.30	194.33±24.85	199.00±18.86	265.33±24.43	180.60±21.33
Final vücut ağırlığı (g)	262.66±33.03 ^a	277.00±31.23 ^a	298.40±9.60 ^a	191.33±8.77 ^a	141.20±16.26 ^a

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

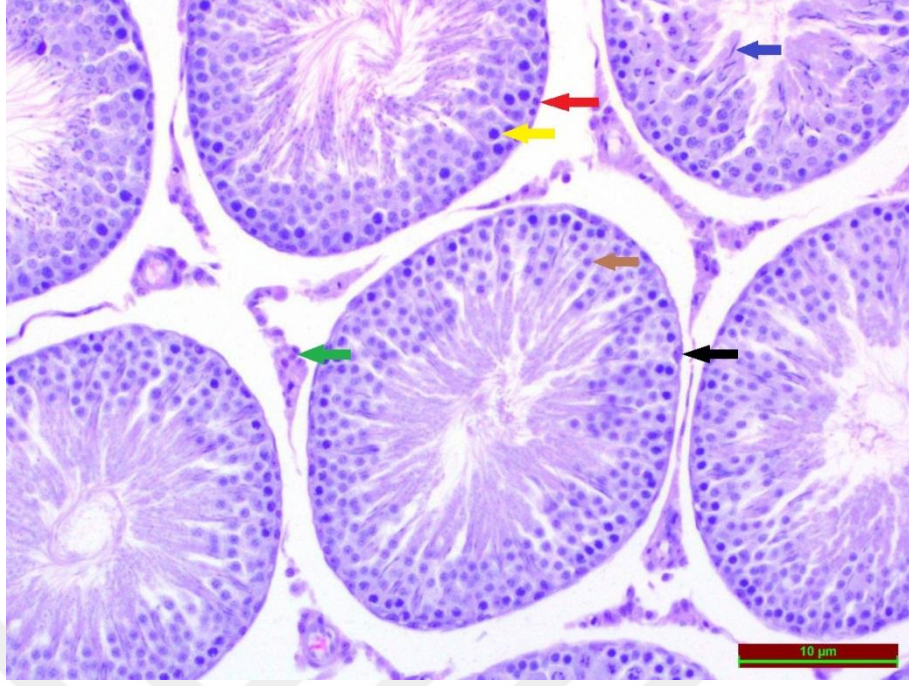
^a Başlangıç vücut ağırlığına göre karşılaştırıldığında, (p<0.05)

5.2. Histolojik Bulgular

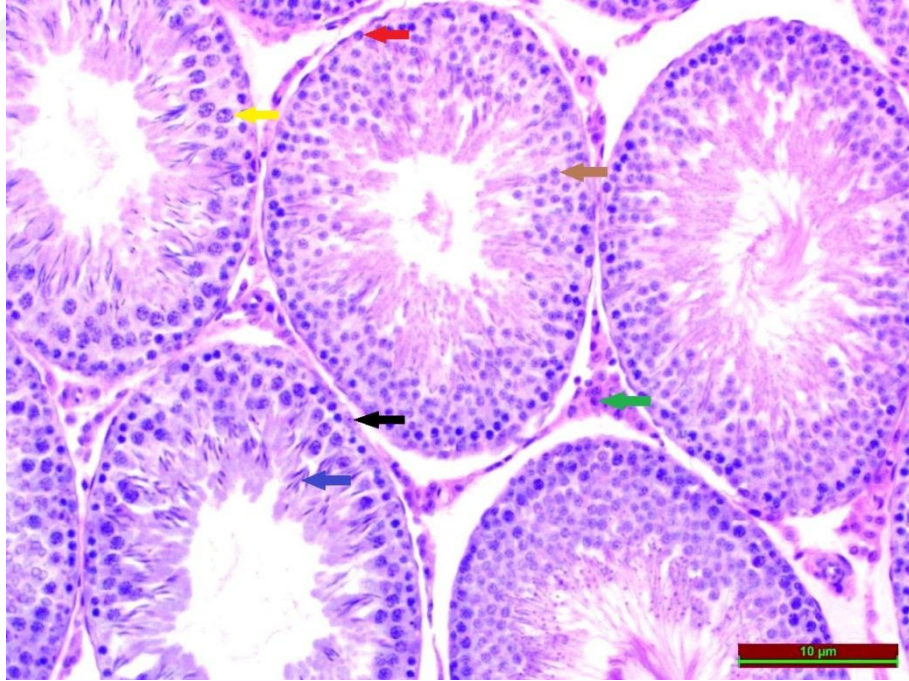
Hematoksilen-eozin boyama ile hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu altında incelendiğinde; kontrol grubuna ait sıçanların testis dokularındaki seminifer tubullerin içinde bulunan spermatogenik seri hücreler normal görünümdeydi (Şekil 5). Bazal membranlarda herhangi bir ayrılma söz konusu değildi. İntersitisyel alan ve bu alanda bulunan Leydig hücreleri de normal görünümdeydi. Sitrat buffer (Şekil 6) ve vitamin D (Şekil 7) gruplarına ait testis dokuları da kontrol grubu ile benzer görünümde olup herhangi bir farklılık izlenmedi.

Diyabet grubuna (Şekil 8) ait testis dokuları incelendiğinde ise; seminifer tubuller arasındaki intersitisyel alanlarda belirgin bir ödem (Şekil 8a,b), Leydig hücrelerinde ayrılmalar (Şekil 8a,b), bazı seminifer tubullerin etrafında belirgin konjesyon (Şekil 8c) ve bazal membran ayrılması (Şekil 8b) ile bazı alanlarda atrofik seminifer tubuller gözlemlendi (Şekil 8d).

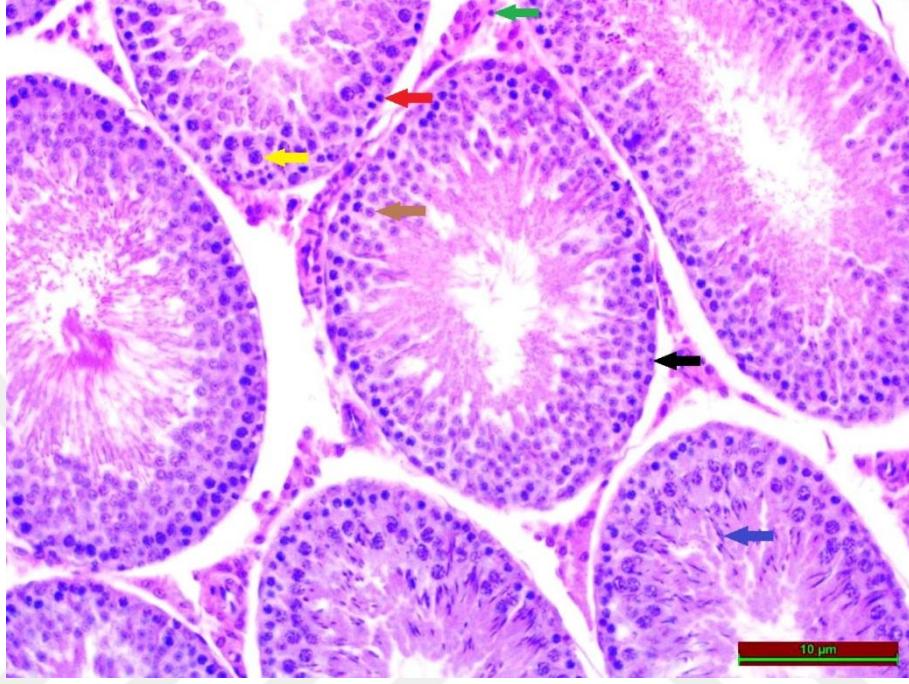
Diyabet+vitamin D grubuna (Şekil 9) ait testis dokuları incelendiğinde; atrofik tubul yapısı ve seminifer tubullerin etrafında konjesyon izlenmedi. Bununla birlikte intersitisyel alanlarda görülen ödemde azalma gözlenirken (Şekil 9a), bazal membran ayrılması ise devam etmekteydi (Şekil 9b).



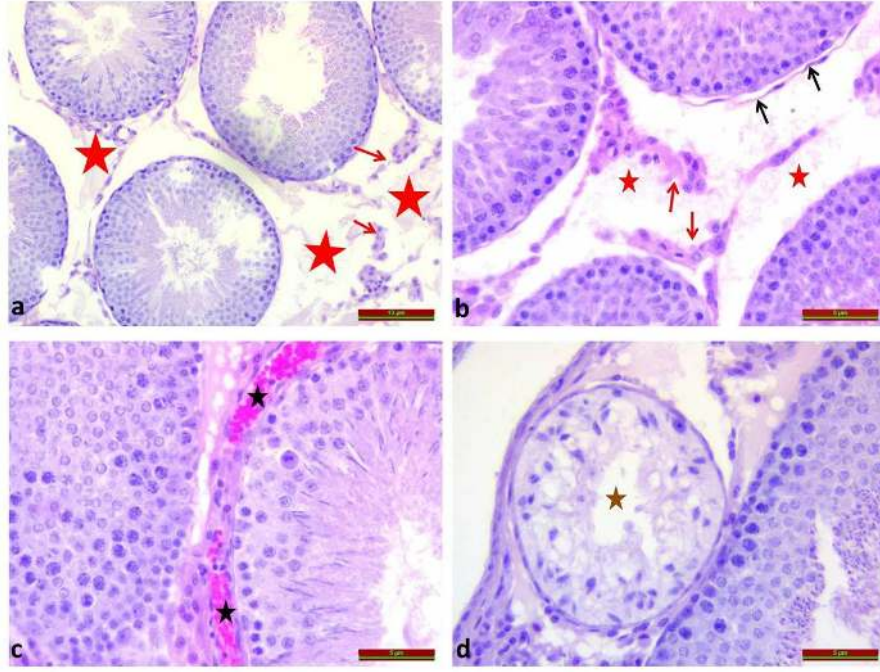
Şekil 5. Kontrol grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-eozin). Sertoli hücresi (**Siyah ok**), Spermatogoniyum (**Kırmızı ok**), Primer spermatosit (**Sarı ok**), Sekonder spermatosit (**Kahverengi ok**), Spermatozoon (**Mavi ok**), Leydig hücresi (**Yeşil ok**).



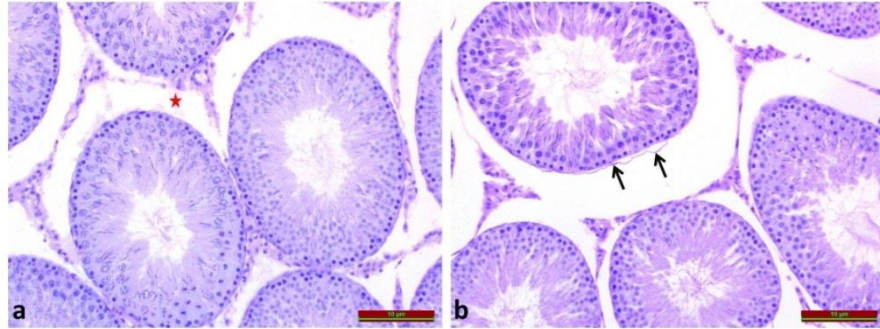
Şekil 6. Sitrat buffer grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-eozin). Sertoli hücresi (**Siyah ok**), Spermatogoniyum (**Kırmızı ok**), Primer spermatosit (**Sarı ok**), Sekonder spermatosit (**Kahverengi ok**), Spermatozoon (**Mavi ok**), Leydig hücresi (**Yeşil ok**).



Şekil 7. Vitamin D grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-eozin). Sertoli hücresi (**Siyah ok**), Spermatogoniyum (**Kırmızı ok**), Primer spermatosit (**Sarı ok**), Sekonder spermatosit (**Kahverengi ok**), Spermatozoon (**Mavi ok**), Leydig hücresi (**Yeşil ok**).



Şekil 8. Diyabet grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-eozin). İntersitisyel alanlarda ödem (**Kırmızı yıldız**)(a,b), Leydig hücrelerinde ayrılmalar (**Kırmızı ok**)(a,b), Seminifer tubullerin etrafında konjesyon (**Siyah yıldız**)(c), Bazal membran ayrılması (**Siyah ok**)(b), Atrofik seminifer tubul (**Kahverengi yıldız**)(d).



Şekil 9. Diyabet+vitamin D grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-eozin). İntersitisyel alanlarda ödem (**Kırmızı yıldız**)(a), Bazal membran ayrılması (**Siyah ok**)(b).

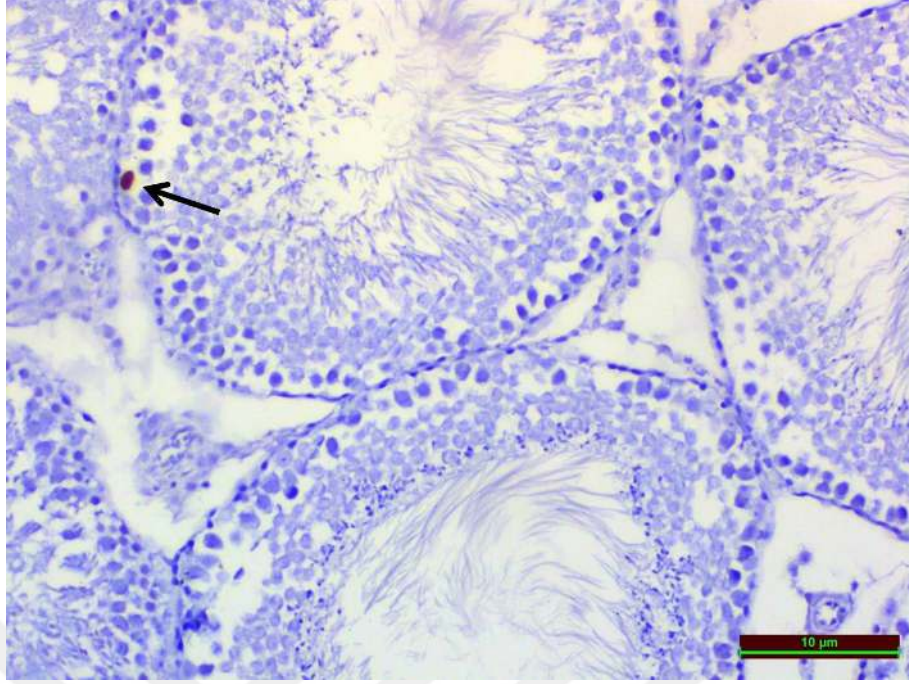
5.3. TUNEL Bulguları

Kontrol grubuna ait testis dokuları TUNEL boyama yapıldıktan sonra ışık mikroskobu ile incelendiğinde; TUNEL pozitifliğinin seminifer tubuller içinde bulunan spermatogenik seri hücrelerinde az sayıda olduğu tespit edildi (Şekil 10). İntersitisyel alan ve bu alan içinde bulunan Leydig hücrelerinde herhangi bir pozitiflik gözlenmedi. Sitrat buffer (Şekil 11) ve vitamin D (Şekil 12) gruplarına ait testis dokuları da kontrol grubu ile benzer görünümde olup herhangi bir farklılık gözlenmedi.

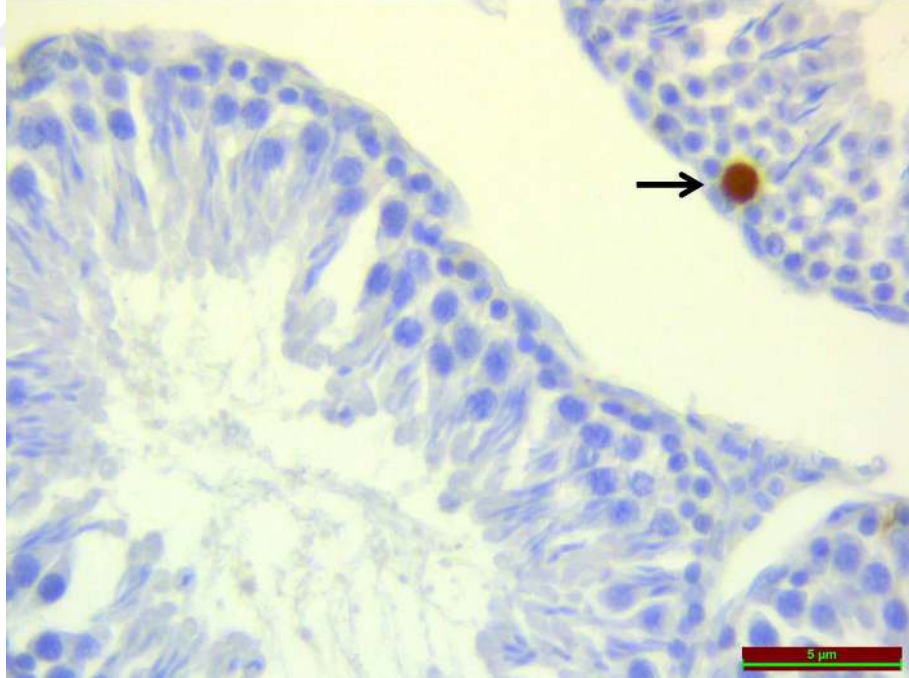
Diyabet (Şekil 13) grubuna ait testis dokularındaki TUNEL pozitifliği incelendiğinde; kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış bulundu ($p<0.05$). Bu gruptaki pozitif boyamanın da seminifer tubuller içinde bulunan spermatogenik seri hücrelerinde olduğu tespit edildi. İntersitisyel alan ve bu alan içinde bulunan Leydig hücrelerinde herhangi bir pozitiflik gözlenmedi.

Son grup olan diyabet+vitamin D (Şekil 14) grubuna ait testis dokularındaki TUNEL pozitifliği incelendiğinde; kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış, diyabet grubuna göre azalmış olarak izlendi ($p<0.05$). Yine bu grupta da TUNEL pozitifliğinin seminifer tubuller içinde bulunan spermatogenik seri hücrelerinde olduğu tespit edildi. İntersitisyel alan ve bu alan içinde bulunan Leydig hücrelerinde herhangi bir pozitiflik gözlenmedi.

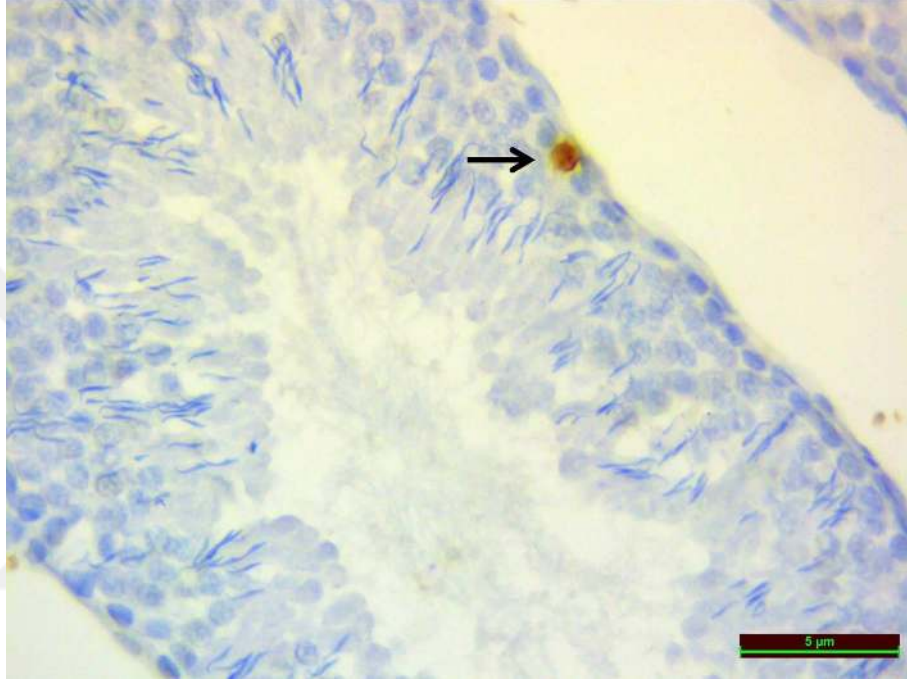
Pozitif kontrol dokusu olarak sıçan meme dokusu kullanıldı (Şekil 15). Negatif kontrol dokusu olarak meme dokusu kullanıldı ve herhangi bir TUNEL pozitifliğine rastlanmadı (Şekil 16). Apoptotik indeks Tablo 5’de verilmiştir.



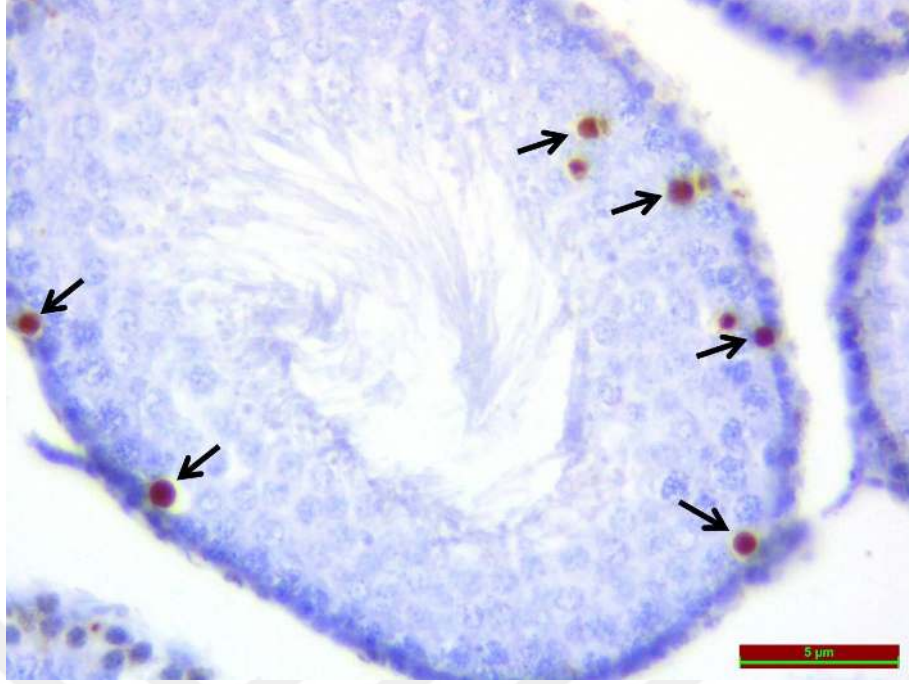
Şekil 10. Kontrol grubuna ait testis dokusu (TUNEL boyama). Spermatogenik seri hücrelerinde TUNEL pozitiflik (Siyah ok).



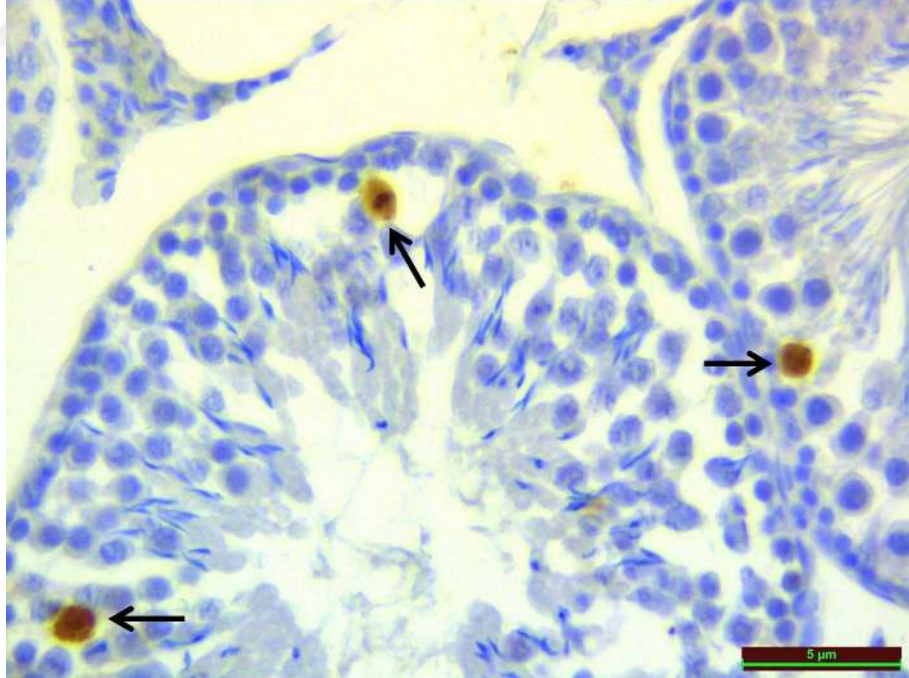
Şekil 11. Sitrat buffer grubuna ait testis dokusu (TUNEL boyama). Spermatogenik seri hücrelerinde TUNEL pozitiflik (Siyah ok).



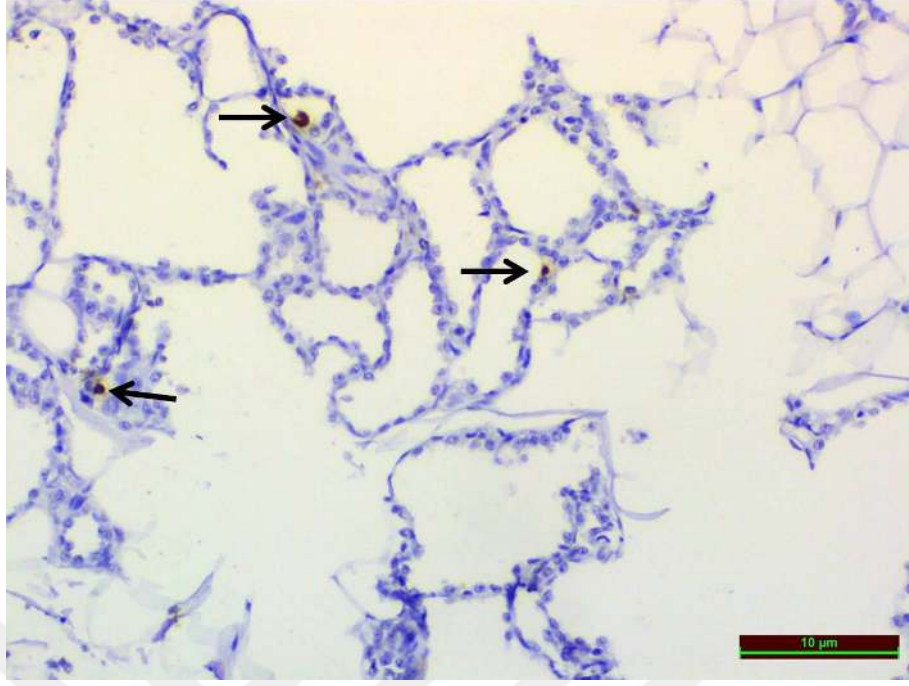
Şekil 12. Vitamin D grubuna ait testis dokusu (TUNEL boyama). Spermatogenik seri hücrelerinde TUNEL pozitiflik (**Siyah ok**).



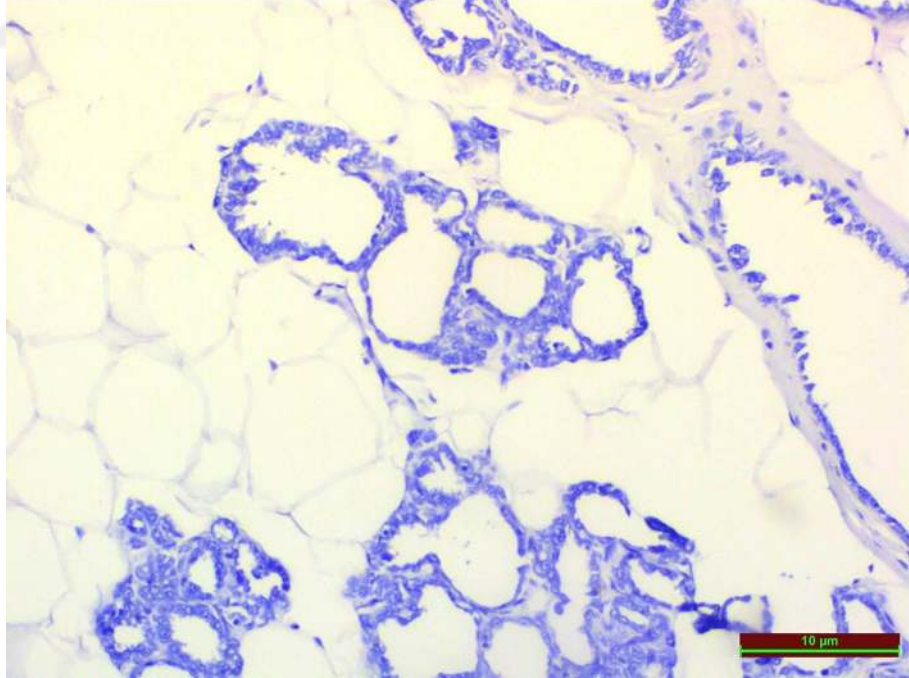
Şekil 13. Diyabet grubuna ait testis dokusu (TUNEL boyama). Spermatogenik seri hücrelerinde TUNEL pozitiflik (**Siyah ok**).



Şekil 14. Diyabet+vitamin D grubuna ait testis dokusu (TUNEL boyama). Spermatogenik seri hücrelerinde TUNEL pozitiflik (**Siyah ok**).



Şekil 15. Pozitif kontrol dokusu olarak kullanılan sıçan meme dokusu (TUNEL boyama). Meme alveol epitel hücrelerinde TUNEL pozitiflik (**Siyah ok**).



Şekil 16. Negatif kontrol dokusu (TUNEL boyama).

Tablo 5. Apoptotik indeks (%).

Grup	Apoptotik İndeks (%)
Kontrol (n=7)	4.16±2.13
Sitrat Buffer (n=7)	5.50±2.42
Vitamin D (n=7)	3.66±1.63
Diyabet (n=10)	10.33±2.65 ^a
Diyabet+Vitamin D (n=10)	4.33±2.58 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0.05).

5.4. İmmünohistokimyasal Bulgular

İrisin immünreaktivitesini belirlemek için yapılan immünohistokimyasal boyamalar ışık mikroskobu altında incelendi. Yapılan inceleme sonucunda; testis dokularındaki pozitiflik intersitisyel alanda bulunan Leydig hücrelerinde gözlemlendi. seminifer tubuller içinde bulunan spermatogenik seri hücrelerinde herhangi bir pozitifliğe rastlanmadı. Yapılan histoskor sonucunda, irisin immünreaktivitesi hakkında karar verildi.

Kontrol grubuna ait testis dokuları incelendiğinde; irisin pozitifliği intersitisyel alanda bulunan Leydig hücrelerinde gözlemlendi (Şekil 17). Seminifer tubullerin içinde bulunan spermatogenik seri hücrelerinde herhangi bir pozitifliğe rastlanmadı. Sitrat buffer (Şekil 18) ve vitamin D (Şekil 19) gruplarına ait testis dokularındaki irisin pozitifliği kontrol grubu ile benzer olup, herhangi bir farklılık gözlemlenmedi.

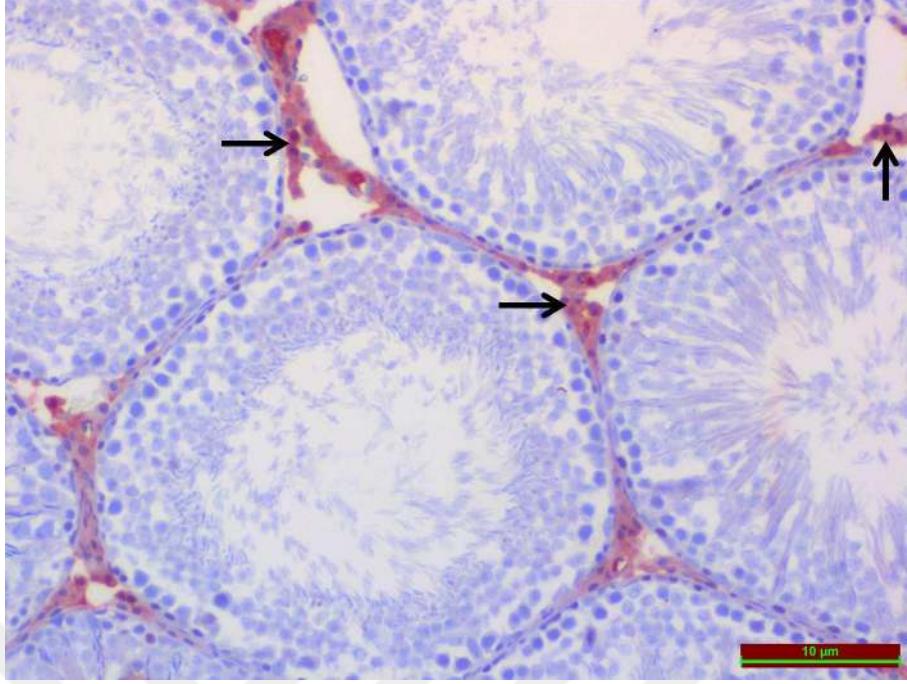
Diyabet grubuna ait testis dokuları incelendiğinde; irisin pozitifliğinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Şekil 20). Yine diğer gruplarda olduğu gibi bu grupta bulunan testis dokularında da irisin pozitifliğine testiste intersitisyel alanda bulunan Leydig hücrelerinde rastlandı. Seminifer tubullerin içinde bulunan spermatogenik seri hücrelerinde herhangi bir pozitifliğe rastlanmadı.

Son grup olan diyabet+vitamin D grubuna ait testis dokularındaki irisin pozitifliği incelendiğinde; pozitifliğin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış, diyabet grubuna göre artmış olduğu izlendi ($p<0.05$) (Şekil 21). Diğer gruplara benzer olarak bu grupta da irisin pozitifliğine testiste

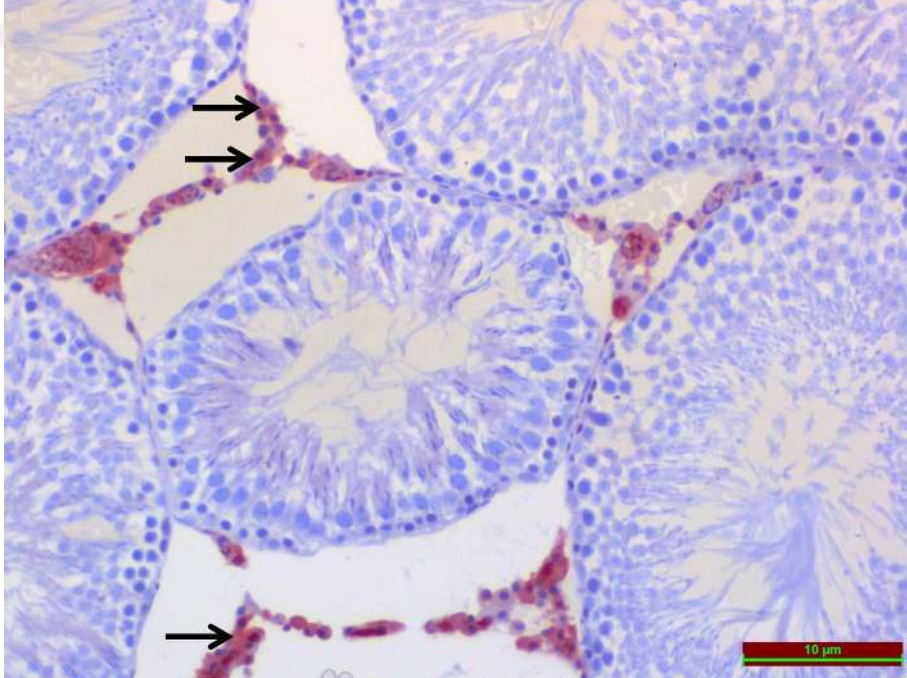
intersitisyel alanda bulunan Leydig hücrelerinde rastlandı. Seminifer tubullerin içinde bulunan spermatogenik seri hücrelerinde herhangi bir pozitifliğe rastlanmadı. Tüm gruplara ait irisin immünreaktivitesi Tablo 6’da verilmiştir.

Pozitif kontrol dokusu olarak sıçan kalp dokusu kullanıldı (Şekil 22). Negatif kontrol dokusu olarak kalp dokusu kullanıldı ve herhangi bir irisin pozitifliğine rastlanmadı (Şekil 23).

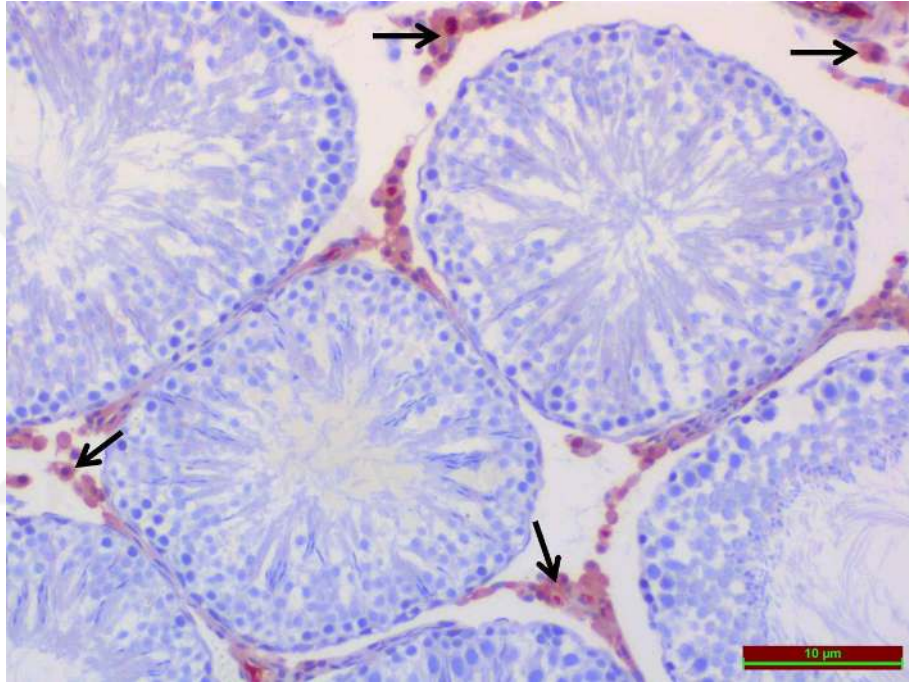




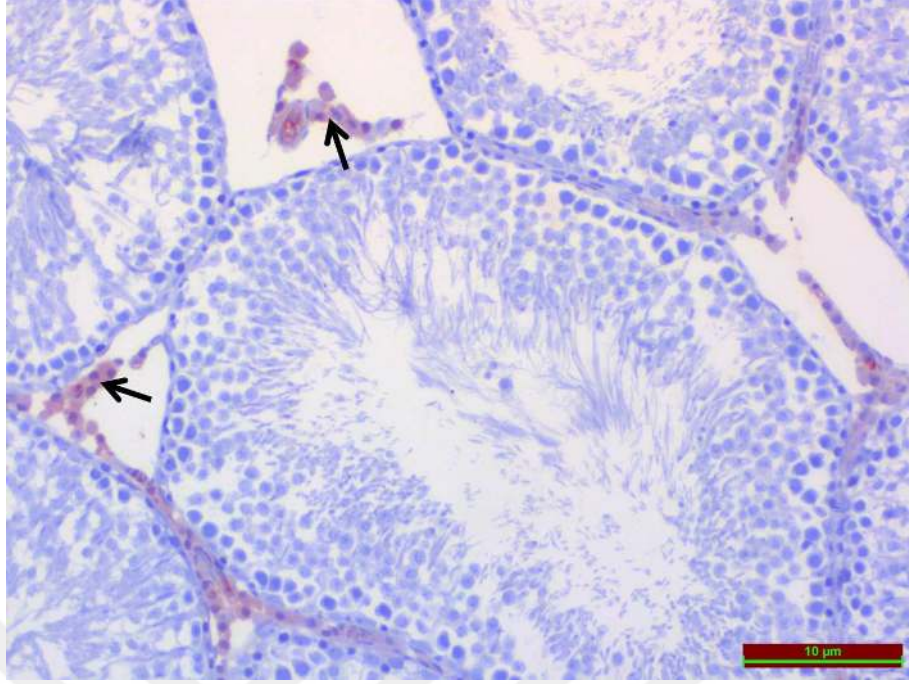
Şekil 17. Kontrol grubuna ait testis dokusu (İmmünohistokimyasal boyama). Leydig hücrelerinde irisin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



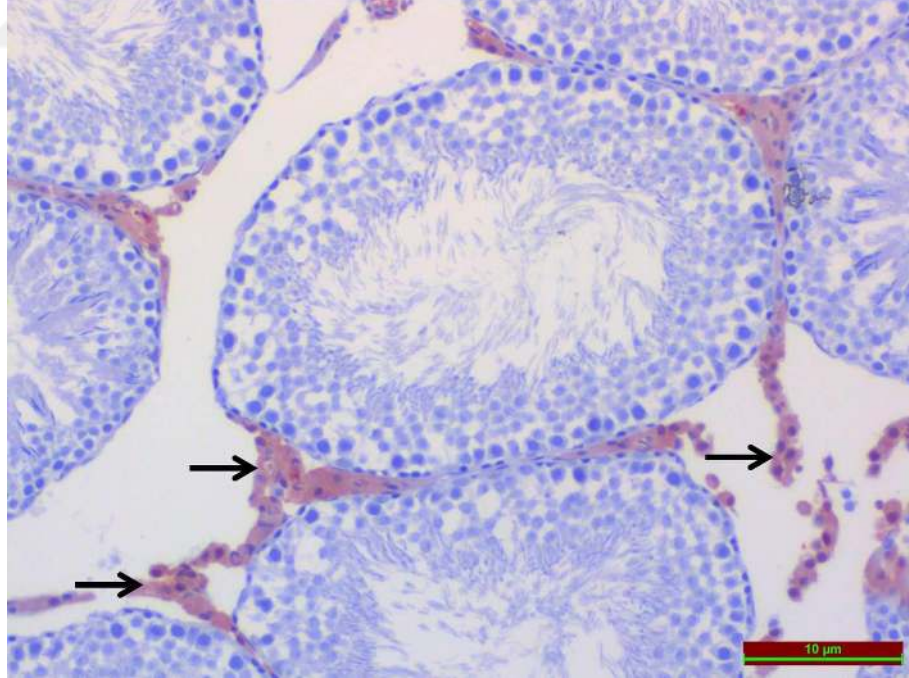
Şekil 18. Sitrata buffer grubuna ait testis dokusu (İmmünohistokimyasal boyama). Leydig hücrelerinde irisin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



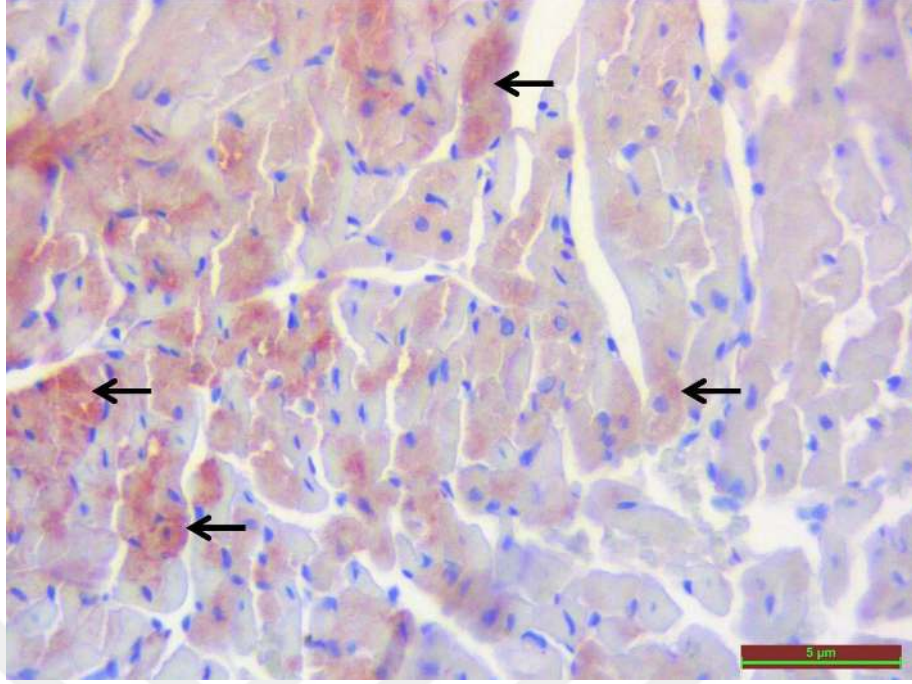
Şekil 19. Vitamin D grubuna ait testis dokusu (İmmünohistokimyasal boyama). Leydig hücrelerinde irisin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



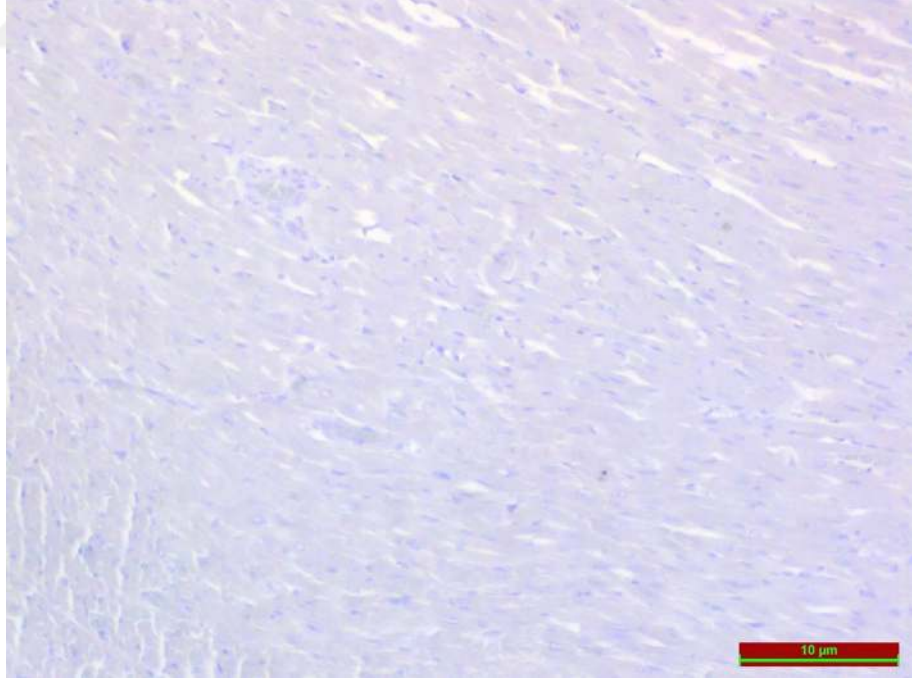
Şekil 20. Diyabet grubuna ait testis dokusu (İmmünohistokimyasal boyama). Leydig hücrelerinde irisin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



Şekil 21. Diyabet+vitamin D grubuna ait testis dokusu (İmmünohistokimyasal boyama). Leydig hücrelerinde irisin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



Şekil 22. Pozitif kontrol dokusu olarak kullanılan sıçan kalp dokusu (İmmünohistokimyasal boyama). Kalp kası hücrelerinde irisin immünreaktivitesi (**Siyah ok**).



Şekil 23. Negatif kontrol dokusu (İmmünohistokimyasal boyama).

Tablo 6. İrisin immünreaktivitesi.

Grup	Histoskor
Kontrol (n=7)	2.00±0.58
Sitrat Buffer (n=7)	2.00±0.81
Vitamin D (n=7)	1.85±0.74
Diyabet (n=10)	0.55±0.21 ^a
Diyabet+Vitamin D (n=10)	1.52±0.76 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0.05).

5.5. Biyokimyasal Bulgular

5.5.1. Kan Glikoz Miktarları

Çalışmada kullanılan 41 adet sıçanın, deneye başlarken ve deney sonlandırılırken kan glikoz miktarları ölçölüp kaydedildi. Kontrol grubuna ait olan sıçanlarda; deney sonunda ölçülen kan glikoz miktarı, başlangıçta ölçülen kan glikoz miktarı ile aynı olup herhangi bir farklılık gözlenmedi. Sitrat buffer ve vitamin D gruplarında bulunan sıçanların deney sonunda ölçülen kan glikoz miktarı, başlangıçta ölçülen kan glikoz miktarı ile aynı olup, kontrol grubu ile benzerdi.

Diyabet ve diyabet+vitamin D gruplarındaki sıçanların deney sonunda ölçülen kan glikoz miktarları, başlangıçta ölçülen kan glikoz miktarlarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak izlendi ($p<0.05$). Deney hayvanlarının başlangıç ve final kan glikoz miktarları Tablo 7’de verilmiştir.



Tablo 7. Deney hayvanlarının başlangıç ve final kan glikoz miktarları (mg/dl).

	Kontrol (n=7)	Sitrat Buffer (n=7)	Vitamin D (n=7)	Diyabet (n=10)	Diyabet+Vitamin D (n=10)
Başlangıç kan glikoz değerleri (mg/dl)	103.83±9.96	103.00±17.01	109.83±17.61	106.83±10.571	83.50±37.21
Final kan glikoz değerleri (mg/dl)	93.50±17.89	108.33±19.46	105.83±14.68	440.16±48.28 ^a	478.40±18.21 ^a

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Başlangıç vücut kan glikoz değerlerine göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

5.5.2. TAS ve TOS Düzeyleri

Tüm gruplarda bulunan sıçanlara ait serum TAS ve TOS düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; kontrol grubuna ait TAS ve TOS düzeyleri birbirine benzer olarak izlendi. Sitrat buffer ve vitamin D gruplarındaki değerler de kontrol grubu ile benzerdi.

Diyabet grubunda TAS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış izlenirken, TOS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış bulundu ($p<0.05$).

Diyabet+vitamin D grubunda ise TAS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış gözlenirken, TOS düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olarak bulundu ($p<0.05$). Tüm gruplara ait serum TAS ve TOS düzeyleri Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Serum TAS ve TOS düzeyleri.

Grup	TAS	TOS
Kontrol (n=7)	293.00±17.69	160.00±17.61
Sitrat Buffer (n=7)	286.50±18.05	151.33±10.26
Vitamin D (n=7)	286.40±15.82	154.20±18.39
Diyabet (n=10)	250.25±11.55 ^a	272.25±21.77 ^a
Diyabet+Vitamin D (n=10)	296.60±17.61 ^b	191.80±10.89 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0.05).

5.5.3. Doku ve Serum İrisin Düzeyleri

Tüm gruplarda bulunan sıçanlara ait doku ve serum irisin düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; kontrol grubuna ait doku ve serum irisin düzeyleri birbirine benzerdi. Sitrat buffer ve vitamin D gruplarındaki değerler de kontrol grubu ile benzer olarak gözlemlendi.

Diyabet grubunda doku ve serum irisin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış bulundu ($p<0.05$).

Diyabet+vitamin D grubunda doku ve serum irisin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olup, kontrole yakın olarak gözlemlendi ($p<0.05$). Tüm gruplara ait doku ve serum irisin düzeyleri Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. Doku ve serum irisin düzeyleri.

Grup	Doku irisin düzeyleri	Serum irisin düzeyleri
Kontrol (n=7)	6.02±0.22	6.65±0.77
Sitrat Buffer (n=7)	6.80±0.42	7.37±0.67
Vitamin D (n=7)	6.52±0.92	7.44±0.71
Diyabet (n=10)	2.25±0.36 ^a	2.80±0.43 ^a
Diyabet+Vitamin D (n=10)	6.40±0.47 ^b	7.42±0.66 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, (p<0.05).

6. TARTIŞMA

Diyabet, insülinin 1922 yılında keşfedilmesinden önce, hem insanlarda hem de hayvanlarda metabolik olayların akışını değiştirdiği için en önemli sağlık problemlerinin arasında yer almaktaydı ancak altında yatan neden tam olarak anlaşılamamıştı. İnsülin'in keşfi kısmi olarak bu problemin çözümüne katkı sağladıysa da günümüzde kardiyovasküler sistem hastalıkları dahil olmak üzere birçok hastalığa zemin hazırlamasından dolayı diyabet halâ önemini korumaktadır (11, 12, 99).

Günümüzde önemli bir sağlık sorunu haline gelen ve yaşam boyu devam eden diyabet, akut ve kronik komplikasyonlarından dolayı hastanın yaşam kalitesini büyük ölçüde azaltmakta ve ekonomik olarak da önem arz etmektedir (100). Diyabetin uzun dönem etkileri sonucu; çeşitli hasarlar, disfonksiyonlar, organ yetmezlikleri, özellikle de göz, böbrek, kalp ve damar hasarları oluşabilmektedir (101). Diyabetin, tüm bu komplikasyonlara ek olarak, gonadal fonksiyonları olumsuz etkileyerek, düşük testosteron düzeylerine neden olduğu, testiküler disfonksiyon ve yetersiz spermatogenezis oluşturduğu insanlarda ve deney hayvanlarında ortaya konulmuştur (7, 102-105).

Sunulan tez çalışmasında, deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanların canlı ağırlıkları, testis dokusu ve testis dokusunda irisin ve apoptozis, doku ve serum irisin düzeyleri, TAS ve TOS değerleri ve bu değerler üzerine vitamin D'nin etkileri, histolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak araştırıldı.

Sunulan tez çalışmasında, sıçanların deneye başlarken ve deney sonlandırılırken ölçülen canlı ağırlıkları incelendiğinde; kontrol grubuna ait

sıçanlarda deney bitimindeki canlı ağırlık, deney başlangıcındaki canlı ağırlığa göre artmış olarak izlendi. Diyabet ve diyabet+vitamin D gruplarındaki sıçanlarda, deney sonundaki canlı ağırlıkta, deney başlangıcındaki canlı ağırlığa oranla önemli bir azalma olduğu görüldü.

Diyabetik farelerde (106-109) ve sıçanlarda (110) yapılan deneysel diyabet çalışmalarında, deney süresince canlı ağırlık kaybının olduğu bildirilmiştir. Bingöl ve ark. (111) diyabetik farelerde yaptıkları çalışmada, her günün bir önceki örnekleme gününe göre olmasa da birkaç gün öncesine göre farelerin canlı ağırlık kaybettiğini tespit etmişlerdir. Yine, Göçmen ve ark. (107) farelerde yaptıkları çalışmada, deneyin 20. ve 30. günlerinde farelerde canlı ağırlık kaybının olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, Wada ve ark. (108) yaptıkları çalışmada, deneye başladıktan 24 hafta sonra diyabetik farelerin canlı ağırlığında kontrol grubunda bulunan farelere göre belirgin bir düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Canlı ağırlık kaybının Andallu ve ark. (112) belirttiği gibi, diyabetin neden olduğu, dokulardaki aşırı protein yıkımından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan bu çalışmalardaki canlı ağırlık kaybı verileri sunulan tez çalışmasındaki verilerle uyumludur.

Diyabete bağlı olarak testislerde, tunika albugineyada, seminifer tubullerde, intersitisyel bağ dokuda ve Leydig hücrelerinde patolojik değişikliklerin gerçekleştiği bildirilmiştir (7, 24, 103, 113-116). Diyabet, damar disfonksiyonlarına ve bununla birlikte bireylerde cinsel istek kaybına neden olmaktadır (23). Ayrıca diyabetin spermatogenez üzerine de olumsuz etkilerinin olduğu, testosteron seviyesinde düşüşe neden olduğu, FSH ve LH sentezini de azalttığı daha önce yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (23). Öztürk ve ark.

(24) STZ ile oluşturdukları deneysel diyabet çalışmalarında, diyabet grubuna ait sıçanların testis dokularında seminifer tubullerdeki spermatogenik seri hücrelerinde azalma, atrofiye olmuş tubuller, intersitisyel bağ dokudaki damarlarda duvar kalınlaşması ve yangısal hücre infiltrasyonu gözlemlemişlerdir.

Sunulan tez çalışmasında, kontrol grubuna ait sıçanların testis dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde; seminifer tubullerin içindeki spermatogenik seri hücrelerin normal görünümde olduğu görüldü. İntersitisyel alanda bulunan Leydig hücreleri ve bazal membranlarda herhangi bir patolojik durum gözlenmedi. Diyabet grubuna ait sıçanların testis dokularında ise; seminifer tubuller arasındaki intersitisyel alanlarda Leydig hücrelerinin de ayrılmasına neden olan belirgin bir dem, bazı seminifer tubullerin etrafında belirgin bir konjesyon, bazal membran ayrılması ve bazı alanlarda atrofik seminifer tubuller gözlemlendi. Diyabet grubundaki sıçanların testis dokularında görülen atrofik tubul yapısının ve seminifer tubullerin etrafındaki konjesyonun, diyabet+vitamin D grubuna ait sıçanların testis dokularında olmadığı görüldü. Yine, diyabet+vitamin D grubunda, diyabet grubuna kıyasla intersitisyel alanlarda görülen demde azalma gözlenirken, bazal membran ayrılmasının bu grupta da olduğu görüldü. Bu konu hakkında yapılan çalışmalar sunulan tez çalışmasındaki verilerle uyumluluk göstermektedir.

Yapılan birçok çalışma diyabetin apoptozise de neden olduğunu göstermiştir (90, 117-119). Türk (90) ve Yılmaz (118) yaptıkları çalışmada, diyabet grubundaki sıçanların testis dokularındaki spermatogenik seri hücrelerinde apoptozisin arttığını tespit etmiştir. Yine, Güzel ve ark. (117) yaptıkları çalışmada diyabet grubundaki sıçanların böbrek dokularındaki tubul

hücrelerinde apoptozisin arttığını rapor etmişlerdir. Ayrıca, Tunçdemir ve ark. (119) yaptıkları çalışmada diyabetik sıçanların böbrek glomerüllerinde çok az sayıda apoptotik hücre gözlemlerken, kortekste hasarlı distal tubullerde ve medulla bölgesinde çok sayıda apoptotik hücre gözlemlemişlerdir.

Sunulan tez çalışmasında, apoptotik hücelere testisdeki seminifer tubullerin içinde bulunan spermatogenik seri hücrelerinde rastlandı. Diyabet grubunda bulunan sıçanların testis dokularındaki apoptotik hücrelerin arttığı gözlemlendi. Diyabet+vitamin D grubunda ise diyabet grubuna oranla testisdeki apoptotik hücrelerde azalma gözlemlendi. Apoptozisin testis dokularında azalması ise hücrelerin daha geç zaman dilimi içerisinde yok olmasını diğer bir ifadeyle hücrelerin dayanıklılığının arttığını göstermektedir. Sunulan tez çalışması ile apoptozis hakkında yapılan çalışmalar (90, 118) birbirleriyle uyumludur.

Boström ve ark. (61) tarafından 2012 yılında keşfedilen irisin, 112 aminoasitlik peptid yapıya ve 12587 dalton a ırlı a sahip olan bir hormondur (61, 62). İrisin, sadece egzersiz ile değil aynı zamanda soğuk ile de stimüle edilen bir hormondur (120). İskelet kasından ve ya  dokusundan salınan irisin, beyaz ya  dokusu hücrelerini kahverengi ya  dokusu hücrelerine çevirir ve böylece enerji harcanmasını sağlayarak glikoz homeostazını düzenler (120). İrisin, bir transmembran proteini olan FNDC5'in proteolitik ürünüdür. Beyaz ya  dokusu hücrelerinde bir mitokondri pompası olan ve ayırıcı protein 1 (UCP1) olarak adlandırılan pompaların ekspresyonunu artırır. Artan UCP1 ekspresyonu ile hücrede ısı üretimi artar, termogenez ve glikoz homeostazisi sağlanmış olur (120).

Aydın ve ark. (83) yaptıkları çalışmada, irisin immünreaktivitesine fetal insan testislerindeki seminifer tubullerde, spermatogenik hücrelerde ve Leydig hücrelerinde; yetişkin insan testisinde ise Leydig hücrelerinde ve epididimide rastlamışlardır. Sunulan tez çalışmasında, testisteki irisin immünreaktivitesine, Aydın ve ark. (83) yaptıkları çalışmaya benzer olarak testis dokusundaki Leydig hücrelerinde rastlanmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda; irisin immünreaktivitesinin diyabetik sıçanların testis dokularındaki Leydig hücrelerinde kontrole göre azaldığı, diyabet+vitamin D grubunda ise testis dokularındaki Leydig hücrelerinde irisin immünreaktivitesinin diyabet grubuna oranla arttığı gözlemlenmiştir. Diyabetli sıçanların testis dokularındaki irisin düzeyi ve bu irisin düzeyi üzerine vitamin D uygulamasının etkilerini gösteren herhangi bir literatür çalışması bulunamamıştır ve sunulan çalışma bu konudaki ilk çalışmadır.

Sunulan tez çalışmasında, serum irisin düzeyleri ve testis dokusuna ait irisin düzeylerine biyokimyasal yöntemlerle bakılmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda, diyabet grubunda bulunan sıçanlarda serum irisin düzeyleri ve testis dokusuna ait irisin düzeyleri kontrole oranla azalmış olarak izlendi. Diyabet+vitamin D grubunda ise serum irisin düzeyleri ve testis dokusuna ait irisin düzeyleri diyabet grubuna göre artmış olarak gözlemlendi. Diyabette, doku irisin düzeyleri üzerine herhangi bir çalışma yapılmamış olup, sunulan tez çalışması bu konuda yapılan ilk çalışmadır. Diyabette, serum irisin düzeyleri için birçok çalışma yapılmıştır (121-125), ancak elde edilen sonuçlar birbiri ile çelişkilidir.

Şahin (121) yaptığı çalışmada, insanlarda serum irisin düzeylerini incelemiştir. Yaptığı incelemeler sonucunda, diyabetli insanların serum irisin düzeylerinin, diyabet olmayan insanlara oranla düşük olduğunu gözlemlemiştir. Yine, Aydın (122) hastaneye gelen ve gestasyonel diyabet tanısı konulan, 18-40 yaş arasındaki hamile bayanlardan aldığı kanlardan elde ettiği serumlarda irisin düzeylerini incelemiştir. Yaptığı incelemeler sonucunda, gestasyonel diyabetli insanlardaki serum irisin düzeyinin diyabet olmayan insanlara oranla daha düşük olduğunu rapor etmiştir. Ayrıca, Küçükkaraca (123) sıçanlarda serum irisin düzeyini belirlemek için yaptığı çalışmada, diyabetik grupta bulunan sıçanların serum irisin düzeylerini kontrole kıyasla daha düşük olduğunu bildirmiştir. Serum irisin düzeylerini belirlemek için yapılan bu çalışmalar (121-123), tez çalışmasındaki verileri destekler niteliktedir. Serum irisin düzeylerini belirlemek için yapılan bazı çalışmalar ise, tez çalışmasındaki verilerle zıtlık göstermektedir (124, 125). Örneğin, Yavuz (124) insanlardan elde ettiği serumları incelediğinde, diyabet grubunda bulunan insanların serum irisin düzeylerinin kontrole kıyasla daha yüksek olduğunu gözlemlemiştir. Yine, Gümüş (125) kliniğe getirilen ve gestasyonel diyabet tanısı konulan 30 hastadan elde ettiği serumların irisin düzeylerinin, kontrol grubunda bulunan insanlara göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Sunulan tez çalışmasında, gerek doku irisin düzeyleri gerekse serum irisin düzeyleri 2.25 ile 7.44 ng/ml arasında değişmektedir. Daha önce yapılan çalışmalar dikkate alındığında rapor ettiğimiz bu irisin düzeyleri oldukça düşüktür. İrisin düzeylerinin düşük olmasının sebebi daha önce yapılan çalışmalarda 1. ve 2. kuşak ELISA kitleri kullanılmıştır. Bu 1. ve 2. kuşak ELISA

irisin kitleri FNDC5’ide irisinle birlikte ölçmekteydi. Bu yüzden de ilk çalışmalardaki serum irisin düzeyleri yüksek bulunmuştur. Tandem mass spektrofotometresi ile yapılan çalışmada irisinin gerçek düzeylerinin 3.6 ile 4.3 arasında değiştiği rapor edilmiştir (126). Yapılan çalışmada, 2.25 ile 7.44 ölçülmesinin sebebi Tandem mass spektrofotometresine göre, ELISA kitlerinin % 10 ile % 30 arasında daha yüksek ölçmesinden kaynaklanmaktadır (126).

Sunulan tez çalışmasında, diyabetin testisleri olumsuz etkilediği ve seminifer tubullerde bulunan spermatogenik seri hücrelerinde apoptozisi arttırdığı görüldü. Vitamin D uygulamasının ise spermatogenik seri hücrelerindeki apoptozisi azalttığı gözlemlendi. Elde edilen bu bilgiler ışığında, diyabetin infertiliteye neden olduğu ve vitamin D’nin ise infertiliteyi azalttığı fikri ortaya çıkmıştır. Yine, diyabet grubunda bulunan sıçanların testis dokularındaki irisin immünreaktivitesi, serum irisin düzeyi ve testis supernatantlarındaki irisin düzeylerinin azaldığı gözlemlendi. Diyabet, irisin salgılanmasına neden olan ve hücrelerin mitokondrilerinde bulunan UCP1’leri olumsuz etkileyerek buna sebep olabileceği düşünülmektedir. Vitamin D uygulamasının ise sıçanların testis dokularındaki irisin immünreaktivitesi, serum irisin düzeyi ve testis supernatantlarındaki irisin düzeylerini arttırdığı görüldü. Bu durum, vitamin D’nin hücrelerin mitokondrilerinde bulunan UCP1’ler üzerinde olumlu etkilerinin olabileceği fikrini ortaya çıkarmıştır.

Pankreastaki beta hücrelerinden salgılanan İnsülin, hücrelere kandaki glikozun geçebilmesi için anahtar görevi yapmaktadır (99). İnsülin miktarında herhangi bir eksiklik meydana gelirse, kanda bulunan glikoz hücrelere geçemez ve kandaki glikoz miktarı sürekli olarak artar (99, 127). Diyabetin

komplikasyonlarından biride kan glikoz düzeyi üzerinedir (117). Büyükleblebici ve ark. (128) yaptığı çalışmada, diyabet grubunda bulunan sıçanların kan glikoz düzeyinin, kontrol grubundaki sıçanlardan daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Yine, Gözel ve ark. (117) yaptıkları çalışmada, diyabet grubuna ait sıçanlardaki kan glikoz düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir.

Sunulan tez çalışmasında, kontrol grubuna ait sıçanlarda; deney sonunda ölçülen kan glikoz miktarı, başlangıçta ölçülen kan glikoz miktarı ile aynı olup herhangi bir farklılık gözlemlenmedi. Diyabet ve diyabet+vitamin D gruplarındaki sıçanların deney sonunda ölçülen kan glikoz miktarları, başlangıçta ölçülen kan glikoz miktarlarına göre artmış olarak gözlemlendi. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, diyabetin kandaki glikoz düzeyini arttırdığını görmekteyiz. Diyabette, kan glikoz düzeyini belirlemek için yapılan çalışmalar (117, 128) tez çalışmasındaki sonuçlarla uyumluluk göstermektedir.

Diyabetin neden olduğu komplikasyonlardan biride oksidatif strestir (90, 117). Oksidatif stres, serbest radikallerin oluşumunu tetikleyerek DNA hasarlarına yol açmaktadır (129). Sunulan tez çalışmasındaki bir diğer amaç da diyabet oluşturulmuş sıçanlarda vitamin D'nin total oksidan ve total antioksidan kapasiteyi nasıl etkilediğini araştırmaktır. Sunulan tez çalışmasında, vitamin D suplementasyonu ile total antioksidan kapasite artarken, total oksidan kapasite ise azalmaktaydı. Buda demektir ki vitamin D total antioksidan kapasiteyi arttırarak biyolojik dokulardaki hasarı azaltmaktadır. Bu veri vitamin D'nin diyabette hayati önem taşıdığını bir kez daha teyit etmektedir.

Yapılan çalışmalarda diyabetin oksidatif stresi arttırdığı, vitamin D'nin ise oksidatif stresi azalttığı gözlemlenmiştir (117, 130). Gözel ve ark. (117) yaptıkları çalışmada, diyabetik sıçanlarda total oksidan seviyenin arttığını, total antioksidan seviyenin ise azaldığını gözlemlemişlerdir. Diyabet+vitamin D grubundaki sıçanlarda ise, total oksidan seviyenin azaldığını, total antioksidan seviyenin ise arttığını bildirmişlerdir. Yine, Memişoğulları (130) yaptığı çalışmada, diyabette total oksidan seviyenin arttığını bildirmiştir. Diyabette, total oksidan ve total antioksidan seviyeyi belirlemek için yapılan çalışmalar (117, 130) tez çalışmasındaki sonuçlarla uyumluluk göstermektedir.

Sonuç olarak, diyabet oluşturulmuş sıçanlarda vitamin D uygulamasının testis dokusunda irisin immünreaktivitesini arttırdığı, apoptozisi önlediğı ve testis dokusundaki patolojik durumları hafiflettiğı yapılan tez çalışması ile ortaya konmuştur. Konu ile ilgili daha detaylı çalışmaların yapılması gerekliliğı ve farklı yönlerden irisin hormonunun araştırılması önem kazanmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Ergün L. Erkek genital sistem. Özer A. (Editör). Veteriner Özel Histoloji. Dora Basım-Yayın Dağıtım Ltd. Şti. 1.Baskı, Bursa 2016: 251-268.
2. Tanyolaç A. Erkek genital sistem. Özel Histoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti. Ankara 1999: 132-143.
3. Committee (1992). Nomina Histologica, Revised 2nd. Ed. International committee on veterinary histological nomenclature and authorized by the World association of veterinary anatomists gent (Belgium).
4. Young B, Heath JW. Male reproductive system. Wheater's Functional Histology. A text and colour atlas. Fourth edition. Edinburgh London New York Philadelphia St. Louis Toronto 2000: 328-340.
5. Junqueira LC, Carneiro J. Erkek üreme sistemi. Aytekin Y, Solakoğlu S. (Çeviri Editörleri). Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. İstanbul 2006: 431-447.
6. 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.
7. Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. The Anatomical Record. 1985: 213:53-62.
8. Carlson BM. Human Embryology & Developmental Biology. Fifth Edition. USA Philadelphia, Elsevier Inc. 2014: 20-23.
9. O'Donnell L, Robertson KM, Jones ME, Simpson ER. Estrogen and spermatogenesis. Endocrine Reviews. 2001: 22(3):289-318.
10. Sodeman WA. TM: Sodeman's Pathologic Physiology mechanisms of disease. Cesur V, Kemal N. (Çeviri Editörleri). 1. Baskı Hekimler Birliği Vakfı, Türkiye Klinikleri Yayınevi. Ankara 1992: 2. Cild.
11. Güllü S. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. Miki Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti. Ankara 2018: 1-254.
12. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins Pathologic Basis of Disease. USA: W.B. Saunders Company. 1999: 913-920.
13. Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, Editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition. Philadelphia. Saunders 1994: 928-1001.
14. Yönm A, Özata M. Diabetes mellitus tanısı, sınıflaması, klinik özellikler. Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet. 1. Baskı, Medikal Yayıncılık. İstanbul 2006: 275-283.
15. Arslan M, Ayvaz C, Gedik O ve ark. İç Hastalıkları 2. Baskı. Güneş Kitabevi. Ankara 2003: 2279-2232.
16. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2004: 27:5-10.

17. Başkal N. Diabetes mellitusta akut metabolik dekompanseasyonlar. İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S. (Editörler). İç Hastalıkları. 2. Baskı, Öncü Basımevi. Ankara 2005: 2311-2321.
18. Gedik O. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları. Erdoğan G. (Editör). Koloğlu Endokrinoloji Temel ve Klinik. 2. Baskı, MN Medical & Nobel Yayıncılık. Ankara 2005: 367-383.
19. Gomez O, Ballester B, Romero A ve ark. Expression and regulation of insulin and the glucose transporter GLUT8 in the testes of diabetic rats. Horm Metab Res. 2009; 41:343-349.
20. Agbaje IM, Rogers DA, Mcvicar CM ve ark. Insulin dependent diabetes mellitus: implications for male reproductive function. Human Reproduction. 2007; 22:1871-1877.
21. Altan N, Dinçel A, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif stres Türk Biyokimya Dergisi. 2006; 31:51-56.
22. Memişoğulları R. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi. 2005; 3:30-39.
23. Koh PO. Streptozotocin-induced diabetes increases the interaction of Bad/Bcl-XL and decreases the binding of pbad/14-3-3 in rat testis. Life Sci. 2007; 81(13):1079-1084.
24. Öztürk F, Ağkadir M, Yağmurca U. Deneysel Diyabetin Sıçan Testislerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler. T Klin J Med Sci. 2002; 22:173-178.
25. Ballester J, Munoz Mc, Dominguez J, Guinovart J. İnsulin dependent diabetes affects testicular function by FSH-and LH-linked mechanisms. J Androl. 2004; 25:706-719.
26. Ikeda M, Kodama H, Fukuda J ve ark. Role of radical oxygen species in rat testicular germ cell apoptosis induced by heat stress. Biol Reprod. 1999; 61:393-399.
27. Kopáni M, Celec P, Danisovic L, Michalka P, Biró C. Oxidative stress and electron spin resonance. Clin Chim Acta. 2006; 364:61-66.
28. Gordon CA, Himmelfarb J. Antioxidant therapy in uremia. Evidence-Based medicine Seminars in Dialysis. 2004; 17:327-332.
29. Valko M, Leibfritz D, Mancol J ve ark. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry&Cell Biology. 2007; 39:44-84.
30. Pitkanen OM, Martin JM, Hallman M ve ark. Free radical activity during development of insülin dependent diabetes mellitus in the rat. Life Sci. 1992; 50:335-339.
31. Wollf SP, Dean RT. Glucose autooxidation and protein modification: the potensial role of Ôautoxidative glycosylationÕ in diabetes. Biochem J. 1987. 245:243-250.
32. Boynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. Diabetes. 1999; 48:1-9.
33. Kaneko J, Harvey J, Bruss J. Clinical biochemistry of domestic animals: 2th Ed. Philadelphia: Academic Pr. 1997.

34. Kajimoto Y, Kaneto H. Role of Oxidative Stress in Pancreatic Cell Dysfunction. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2004; 65:168-176.
35. Robertson Rp, Harmon J, Tran Po, Poitout V. β -cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2009; 40:119-124.
36. Mallidis C, Agbaje IM, Rogers DA ve ark. Advanced glycation end products accumulate in the reproductive tract of men with diabetes. *Int J Androl.* 2009; 32:295-305.
37. Karimi J, Goodarzi MT, Tavilani H, Khodadadi I, Amiri I. Relationship between advanced glycation end products and increased lipid peroxidation in semen of diabetic men. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011; 91:61-66.
38. Yang S, Shih HJ, Chow YC, Tsai PS, Huang CJ. Hemin induced heme oxygenase-1 over expression involves nuclear factor-E2 related factor-2, nuclear factor-kappaB and extracellular regulated kinase: an experimental study in a testicular torsion detorsion rodent model. *J Urol.* 2008; 179:2456-2563.
39. Nakamura BN, Lawson G, Chan JY ve ark. Knockout of the transcription factor NRF2 disrupts spermatogenesis in an age-dependent manner. *Free Radic Biol Med.* 2010; 49:1368-1379.
40. Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J. Diabetes and impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr. Diabetes Rev.* 2008; 4:46-54.
41. Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother.* 2005; 59:365-373.
42. Mohasseb M, Ebied S, Yehia MAH, Hussein N. Testicular oxidative damage and role of combined antioxidant supplementation in experimental diabetic rats. *J Physiol Biochem.* 2011; 67:185-194.
43. Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. Algal Antioksidanlar. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi.* 2006; 23:85-89.
44. Serbest radikaller. http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller Erişim: 10.06.2009.
45. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen Free Radicals and Iron in Relation to Biology and Medicine. Some Problems and Concepts. *Arch Biochem Biophys.* 1986; 246:501-514.
46. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. MIMOZA Yayınları, Konya 1995.
47. Önenç SS, Zümrüt A. Aromatik Bitkilerin Hayvansal Ürünlerde Antioksidan Etkileri. *Hay Üret.* 2005; 46(1):50-55.
48. Kim JV, No JK, Ikeno Y. Age-Related Changes in Redox Status of Rat Serum. *Arch Grontol Geriatr.* 2002; 34:9-17.
49. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress induced cancer. *Chemico_ Biological Interactions* 2006; 160:1-40.

50. Öngen B, Kabaroğlu C, Parıldar Z. D Vitamini'nin Biyokimyasal ve Laboratuvar Değerlendirmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*. 2008; 6:23-31.
51. Browlee M. The pathological implications of protein glycation. *Clin Invest Med*. 1995; 18:275-281.
52. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. *Biyokimya*. (Çeviri Editörü) Ulukaya E. Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden. 3. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri. 2007.
53. Bringhurst FR, Demay MB, Krane SM, Kronenberg HM. Bone and Mineral Metabolism in Health and Disease. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. (Editors). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th edition. New York: MCGraw Hill Companies. 2005: 2238-2286.
54. Holick MF. Vitamin D: a D-lightful health perspective. *Nutr Rev*. 2008; 66:182-194.
55. Hyppönen E, Boucher BJ, Berry DJ, Power C. 25-hydroxyvitamin D, IGF-1, and metabolic syndrom at 45 years of age: a cross-sectional study in the 1958 British Birth Cohort. *Diabetes*. 2008; 57:298-305.
56. Wacker M, Holick MF. Vitamin D-Effects on Skeletal and Extraskkeletal Health and the Need for Supplementation. *Nutrients* 2013; 5:111-148.
57. Whiting SJ, Calvo MS. Dietary recommendations to meet both endocrine and autocrine needs of Vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005; 97:7-12.
58. Bouillon R, Moody T, Sporn M, Barrett JC, Norman AW. NIH deltanoids meeting on vitamin D and cancer conclusion and strategic options. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005; 97:3-5.
59. Van Etten E, Mathieu C. Immunoregulation by 1, 25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005; 97:93-101.
60. Wiseman H. Vitamin D is a membrane antioxidant: ability to inhibit iron dependent lipid peroxidation in liposomes compared to cholesterol, ergosterol, and tamoxifen and relevance to anticancer action. *FEBS J*. 1993; 326:285-288.
61. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP ve ark. A PGC1 alpha-dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012; 481:463-468.
62. Bao BY, Ting HJ, Hsu JW, Lee YF. Protective role of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 against oxidative stress in nonmalignant human prostate epithelial cells. *Int J Cancer*. 2008; 122:2699-2706.
63. Aydın S. Three new players in energy regulation: Preptin, adropin and irisin. *Peptides*, 2014; 56:94-110.
64. Grimal P. *The Dictionary of Classical Mythology*. 1st ed. Oxford. Wiley-Blackwell. 1996: 614.
65. Suna Aydın. Sıçan Akciğer ve Karaciğerinde Formaldehit Maruziyetiyle Oluşan Oksidatif Hasar ve İrisin Hormon Değişimlerine Karşı Karnozinin Etkisinin Biyokimyasal, Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi, Doktora tezi, Fırat üniversitesi, Sağlık bilimleri enstitüsü, Anatomi anabilim dalı, 2015.

66. Aydın S, Kuloğlu T, Aydın S ve ark. Cardiac and Skeletal muscle serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle. *Peptides*. 2014; 52:68-73.
67. Roca-Rivada A1, Castela C, Senin LL ve ark. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS One*. 2013; 8:60563.
68. Irving BA, Still CD, Argyropoulos G. Does irisin have a bright future as a therapeutic agent in humans? *Curr Obes Rep*. 2014; 3:235-241.
69. Pubmed / Gene.
70. Pedersen, BK. Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate? *J Muscle Res Celi Motil*. 2003; 24: 113-119.
71. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V ve ark. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism*. 2012; 61:1725-1738.
72. Komatsu M, Tong Y, Li Y ve ark. Multiple roles of PPARalpha in brown adipose tissue under constitutive and cold conditions. *Genes Cells*. 2010; 15:91-100.
73. Castillo-Quan JJ. Parkin control: regulation of PGC-1 α through PARIS in Parkinson's disease. *Dis Model Mech*. 2011; 4:427-429.
74. Dunstan D. Diabetes: exercise and T2DM-move muscles more often! *Nat Rev Endocrinol*. 2011; 7:189-190.
75. 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.
76. 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.
77. 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.
78. 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.
79. 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.
80. Kuloğlu T, Aydın S, Eren MN ve ark. Irisin: A potential candidate marker for myocardial infarction. *Peptides*. 2014; 55:85-91.
81. Kuloğlu T, Çelik Ö, Aydın S ve ark. Irisin immunostaining characteristics of breast and ovarian cancer cells. *Cell. Mol. Biol*. 2016; 62(8):40-44.

82. Timurkaan S, Gür FM, Gençer Tarakçı B, Yalçın MH, Girgin M. Identification of irisin immunoreactivity in porcupine (*Hystrix cristata*) adrenal glands and kidneys. *Anatomia Histologia Embryologia*. 2018; 47(5):405-409.
83. Aydın S, Kuloğlu T, Aydın S, ve ark. A comprehensive immunohistochemical examination of the distribution of the fat-burning protein irisin in biological tissues. *Peptides*. 2014; 61:130-136.
84. Guardiola-Diaz HM, Rehnmark S, Usuda N ve ark. Rat peroxisome proliferator activated receptors and brown adipose tissue function during cold acclimatization. *Biol Chem*. 1999; 274:23368-23377.
85. Moore TR. Diabetes in pregnancy. *Maternal and fetal medicine; Principles and Practice*. Creasy RK, Resnik R, Jay D. (Editörler). 5th edition, Saunders. 2004: 1023-1057.
86. Hashemi MS, Ghaedi K, Salamian A, ve ark. Fndc5 knockdown significantly decreased neural differentiation rate of mouse embryonic stem cells. *Neuroscience*. 2013;231:296-304.
87. Moon H, 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;62:1131-1136.
88. Balgetir F, Kocaman N. Streptozotosin ile oluşturulmuş diyabetik sıçanların beyin dokusunda irisin üzerine enalaprilin etkileri. *Fırat Tıp Dergisi*. 2016;21(4):177-182.
89. Balgetir F, Kocaman N. Deneysel diyabetik ratların beyin dokusunda irisin immünreaktivitesi üzerine losartanın etkileri. *Fırat Tıp Dergisi*. 2016; 21(2):63-66.
90. Ahmet Türk. N-Asetilsistein'in diyabetik sıçan testis dokusunda transient reseptör potansiyel melastatin 2 (TRPM2) kanallarının ekspresyonuna etkileri, Yüksek lisans tezi, Fırat üniversitesi, Sağlık bilimleri enstitüsü, Histoloji ve embriyoloji anabilim dalı, 2014.
91. Demir R. Temel Histolojik Teknikler. *Histolojik boyama teknikleri*, 1. Baskı, Palme Yayıncılık. Ankara, 2001: 1-49.
92. Üstünel İ. Genel dokular için histolojik inceleme metotları. *Histolojik boyama teknikleri*, 1. Baskı, Palme Yayıncılık. Ankara, 2001: 51-96.
93. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*. 1972; 26(4): 239-257.
94. Hsu SM, Raine L, Fanger H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *Am J Clin Pathol* 1981; 75(6):816-821.
95. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29(4):577-580.
96. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37:277-285.

97. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38:1103-1111.
98. Süleyman Aydın. A comparison of ghrelin, glucose, alpha-amylase and protein levels in saliva from diabetics. *J Biochem Mol Biol* 2007; 40:29-35.
99. Coşkun A. Yüzyılın molekülü insülin. *Bilim ve Teknik*. 2010: 104-106.
100. Yeğin SÇ, Mert N. Deneysel olarak diyabet oluşturulmuş sıçanlarda hba1c, mda, gsh-px ve sod miktarlarının tayini. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2013; 24:51-54.
101. Kahn C, Weir G, King G, Jacobson A, Moses A, Smith R. *Joslin's Diabetes Mellitus*. 14th Edition. Çeviri editörü (Yumuk V.) 2008.
102. Steger RW, Rabe MB. The effect of diabetes mellitus on endocrine and reproductive function. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1997; 214(1):1-11.
103. Cai L, Chen S, Evans T, Deng DX, Mukherjee K, Chakrabarti S. Apoptotic germ-cell death and testicular damage in experimental diabetes: prevention by endothelin antagonism. *Urol Res*. 2000; 28:342-347.
104. Alexopoulou O, Jamart J, Maiter D, ve ark. Erectile dysfunction and lower androgenicity in type 1 diabetic patients. *Diabetes Metab*. 2001; 27(3):329-336.
105. Sanguinetti RE, Ogawa K, Kurohmaru M, Hayashi Y. Ultrastructural changes in mouse Leydig cells after streptozotocin administration. *Exp. Anim*. 1995; 44(1):71-73.
106. Imaeda A, Kaneko T, Aoki T, Kondo Y, Nagase H. DNA damage and the effect of antioxidants in streptozotocin treated mice. *Food Chem Toxicol*. 2002; 40:979-987.
107. Göçmen C, Seçilmiş A, Kumcu EK, ve ark. Effects of vitamin E and sodium selenate on neurogenic and endothelial relaxation of corpus cavernosum in the diabetic mouse. *Eur. J. Pharmacol*. 2000; 398:93-98.
108. Wada J, Zhang H, Tsuchiyama Y, ve ark. Gene expression profile in streptozotocin induced diabetic mice kidneys undergoing glomerulosclerosis. *Kidney Int*. 2001; 59:1363-1373.
109. Fujita A, Sasaki H, Ogawa K, ve ark. Increased gene expression of antioxidant enzymes in KKAY diabetic mice but not in STZ diabetic mice. *Diabetes Res. Clin. Pract*. 2005; 69:113-119.
110. Hayashi K, Haneda H, Koya D, Maeda S, Isshiki K, Kikkawa R. Enhancement of glomerular heme oxygenase-1 expression in diabetic rats. *Diabetes Res. Clin. Pract*. 2001; 52:85-96.
111. Bingöl SA, Kocamış H. Sağlıklı ve diabet oluşturulmuş farelerin böbrek dokusunda katalaz enziminin rt-pcr ile gen ve immunohistokimyasal olarak protein ekspresyonu. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2010; 16(5):825-834.
112. Andallu B, Varadacharyulu NC. Antioxidant role of mulberry (*Morus indica* L. cv. Anantha) leaves in streptozotocin diabetic rats. *Clin. Chim. Acta*. 2003; 338:3-10.

113. Anderson JE, Thliveris JA. Morphometry and cytochemistry of Leydig cells in experimental diabetes. *Am. J. Anat.* 1987; 180(1):41-48.
114. Murray FT, Cameron DF, Orth JM. Gonadal dysfunction in the spontaneously diabetic BB rat. *Metabolism.* 1983; 32(7 Suppl):141-147.
115. Wright JR, Yates AJ, Sharma HM, Shim C, Tigner RL, Thibert P. Testicular atrophy in the spontaneously diabetic BB Wistar rat. *Am. J. Pathol.* 1982; 108:72-79.
116. Anderson JE, Thliveris JA. Testicular histology in streptozotocin-induced diabetes. *Anat. Rec.* 1986; 214:378-382.
117. Gözel N, Genç F, Özdemir FA ve ark. Effects of Vitamin D on matrix metalloproteinase 9 and apoptosis in experimental diabetic rat kidney tissue. *Fresenius Environmental Bulletin.* 2018; Volume 27-No.5A/3766-3775.
118. Kemal YILMAZ. Deneysel diyabetik sıçan testis dokusunda adropin ve apoptozis üzerine vitamin D'nin etkileri, Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji anabilim dalı, 2018.
119. Tunçdemir M, Öztürk M. Deneysel diyabetik nefropatide irbesartan'ın apoptoz üzerine koruyucu etkileri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.* 2009;40(1):15-22.
120. İnci A, Aypak SÜ. İrisin ve Metabolik Etkileri. *Türkiye Klinikleri J. Endocrin.* 2016; 11(1):15-21.
121. Elif ŞAHİN. Yeni tanı almış tip 2 diyabetli hastalarda serum irisin seviyesinin incelenmesi, Yüksek lisans tezi, Karadeniz teknik üniversitesi, Sağlık bilimleri enstitüsü, Tıbbi biyokimya anabilim dalı, 2016.
122. İbrahim AYDIN. Gestasyonel diyabetes mellituslu hastalarda serum betatropin, irisin ve omentin düzeyleri. Tıpta uzmanlık tezi, Yüzüncü yıl üniversitesi, Tıp fakültesi, İç hastalıkları anabilim dalı. 2016.
123. Hazal KÜÇÜKKARACA. Egzersiz ile d vitamini takviyesi verilen diyabetik ratlarda irisin hormonunun metabolik sendrom üzerine etkilerinin deneysel olarak araştırılması. Yüksek lisans tezi, Ondokuz mayıs üniversitesi, Sağlık bilimleri enstitüsü, Beslenme bilimleri anabilim dalı. 2017.
124. Ahmet YAVUZ. Yeni tanı tip 2 diyabetes mellitus hastalarında, yeni tanı prediyabet hastalarında ve sağlıklı erişkinlerde irisin düzeylerinin karşılaştırılması. Tıpta uzmanlık tezi, Sağlık bilimleri üniversitesi, İstanbul Haseki eğitim ve araştırma hastanesi, İç hastalıkları anabilim dalı. 2017.
125. Tuğba ARKAN GÜMÜŞ. Gestasyonel diyabetli hastalarda irisinin insülin direnci ile olan ilişkisi. Tıpta yandal uzmanlık tezi, Dokuz eylül üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç hastalıkları anabilim dalı. 2013.
126. Jedrychowski MP, Wrann CD, Paulo JA ve ark. Detection and quantitation of circulating human irisin by tandem mass spectrometry. 2015; 22(4):734-740.
127. Filiz AK. Pankreas Fizyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol Special Topics.* 2017; 10(3):122-125.

- 128.**Büyükblebici O, Karagül H. Streptozotosin ile deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda kromun biyokimyasal etkileri. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2012; 18(1):21-26.
- 129.**Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. Redox Report. 2004; 9(3):145-152.
- 130.**Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi. 2005; 3 30-39.



8. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Mehmet Hanifi YALÇIN

Ünvanı: Araştırma Görevlisi

Çalıştığı Kurum: Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.

Göreve Başlama Tarihi: 14 Eylül 2012

Doğum Yeri / Tarihi: Elazığ / 01.06.1986

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni Hali: Bekâr

Askerlik Durumu: Yapıldı

Cep No: 0545 200 9923

E posta: mhanifiyalcin@firat.edu.tr / mhanifiyalcin@gmail.com

İlkokul: Şenova İlkokulu

Ortaokul: İsmet Paşa İlköğretim Okulu

Lise: Kovancılar Yabancı Dil Ağırlıklı Lise

Üniversite: Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Üniversite Mezuniyet Tarihi: 09.06.2011

Doktora: Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Doktora Başlama Tarihi: 17.09.2013

9. YAYINLAR

9.1. Makaleler

9.1.1. Uluslararası Makaleler

1. Timurkaan S., Gür F.M., Tarakçı Gençer B., **Yalçın M.H.**, Girgin M. Identification of irisin immunoreactivity in porcupine (*Hystrix cristata*) adrenal glands and kidneys. *Anatomia Histologia Embryologia*. 2018: 47(5):405-409.
2. Gözel N., Genç F., Özdemir F.A., Kuloğlu T., Kaya N., **Yalçın M.H.**, Genç K.Ş., Koca S.S., Dönder E. Effects of vitamin D on matrix metalloproteinase 9 and apoptosis in experimental diabetic rat kidney tissue. *Fresenius Environmental Bulletin*. 2018: 27(5A):3766-3775.
3. Gür F.M., Timurkaan S., Tarakçı Gençer B., **Yalçın M.H.**, Özkan Z.E., Baygeldi S.B., Yılmaz S., Eröksüz H. Identification of immunohistochemical localization of irisin in the dwarf hamster (*Phodopus roborovskii*) tissues. *Anatomia Histologia Embryologia*. 2018: 47(2):174-179.
4. Gür F.M., Timurkaan S., **Yalçın M.H.**, Girgin A., Tarakçı Gençer B. Immunohistochemical localization of irisin in mole rats (*Spalax leucodon*). *Biotechnic Histochemistry*. 2017: 92(4):245-251.
5. Tarakçı Gençer B., Gür F.M., Timurkaan S., Girgin M., **Yalçın M.H.** Immunohistochemical detection of serotonin in the kidney and adrenal of porcupine (*Hystrix cristata*). *Indian Journal of Animal Research*. 2017: 51(1):25-29.

6. Gür F.M., Timurkaan S., **Yalçın M.H.**, Tarakçı Gençer B. Immunohistochemical distribution of irisin in the lung and tongue of porcupine (*Hystrix cristata*). Indian Journal of Animal Research. 2017: 51(3):537-540.
7. Tarakçı Gençer B., Girgin A., Timurkaan S., **Yalçın M.H.**, Gür F.M., Karan M. Immunohistochemical localization of irisin in skin eye and thyroid and pineal glands of the crested porcupine (*Hystrix cristata*). Biotechnic Histochemistry. 2016: 91(6):423-427.
8. Kuloğlu T., Çelik Ö., Aydın S., Özercan İ.H., Acet M., Aydın Y., Artaş G., Türk A., Yardım M., Ozan G., **Yalçın M.H.**, Kocaman N. Irisin immunostaining characteristics of breast and ovarian cancer cells. Cellular and Molecular Biology. 2016: 62(8):40-44.
9. Girgin A., Tarakçı Gençer B., Timurkaan S., **Yalçın M.H.**, Gür F.M. Calbindin D 28k immunoreactivity in the brain kidney heart gastrointestinal tract and some endocrine glands of mole rat. International Journal of Biopharmaceutics. 2015: 6(2):93-97.
10. Kuloğlu T., Aydın S., Eren M.N., Yılmaz M., Şahin İ., Kalaycı M., Sarman E., Kaya N., Yılmaz O.F., Türk A., Aydın Y., **Yalçın M.H.**, Uraş N., Gürel A., İlhan S., Gül E., Aydın S. Irisin: A potentially candidate marker for myocardial infarction. Peptides. 2014: 55:85-91.

9.2. Bildiriler

9.2.1. Uluslararası Bildiriler

1. Timurkaan S., Tarakçı Gençer B., Girgin A., **Yalçın M.H.**, Baygeldi S.B., Özkan Z.E., Karan M., Yılmaz S. Immunohistochemical localization calbindin D28k in some tissues of dwarf hamsters (*Phodopus roborovskii*). 1. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 13-16 Eylül 2017. Sandıklı-Afyon/Türkiye. (Poster Sunumu).
2. Özkan Z.E., Baygeldi S.B., **Yalçın M.H.**, Timurkaan S. The investigation of the morphological structure before and after the silicon plastination in the cattle lingua. 1. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 13-16 Eylül 2017. Sandıklı-Afyon/Türkiye. (Sözlü Sunum).
3. **Yalçın M.H.**, Tarakçı Gençer B., Timurkaan S., Gür F.M., Baygeldi S.B., Özkan Z.E., Karan M., Yılmaz S. Irisin distribution in the dwarf hamsters (*Phodopus roborovskii*) kidney, lung, hepar, testis, cerebrum and cerebellum. 1. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 13-16 Eylül 2017. Sandıklı-Afyon/Türkiye. (Poster Sunumu).
4. Gür F.M., Timurkaan S., Tarakçı Gençer B., **Yalçın M.H.**, Özkan Z.E., Baygeldi S.B., Aksünger K.F., Eröksüz H. An investigation on the immunohistochemically distribution of irisin in heart and sceletal muscle, skin, eye and gastrointestinal tract of dwarf hamsters (*Phodopus*

- roborovskii). 1. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 13-16 Eylül 2017. Sandıklı-Afyon/Türkiye. (Poster Sunumu).
5. Kuloğlu T., Artaş G., Yardım M., Şahin İ., Aydın Y., Beyoğlu N., Özeran İ.H., **Yalçın M.H.**, Aydın S. Renal hücreli karsinom ayırımında irisin yeni bir biyobelirteç olabilir mi? Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği Uluslararası Katılımlı Kongre Lab Expo. 1-5 Ekim 2017. Antalya/Türkiye. (Sözlü Sunum).
6. Tarakçı Gençer B., Gür F.M., Timurkaan S., Girgin M., **Yalçın M.H.** Immunohistochemical detection of serotonin in the kidney and adrenal of porcupine (*Hystrix cristata*). 1. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 13-16 Eylül 2017. Sandıklı-Afyon/Türkiye. (Poster Sunumu).
7. Artaş G., Kuloğlu T., Yardım M., Şahin İ., Dağlı A.F., Aydın Y., Ağırbaş E.P., **Yalçın M.H.**, Aydın S. Tiroid karsinoma onkositik varyantlarının ayırımlarında hormon elabela yeni bir aday. Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği Uluslararası Katılımlı Kongre Lab Expo. 1-5 Ekim 2017. Antalya/Türkiye. (Poster Sunumu).
8. Timurkaan S., Gür F.M., Tarakçı Gençer B., **Yalçın M.H.**, Girgin M. Identification of irisin immunoreactivity in porcupine (*Hystrix cristata*) adrenal glands and kidneys. 1. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 13-16 Eylül 2017. Sandıklı-Afyon/Türkiye. (Poster Sunumu).

9. Gür F.M., Timurkaan S., **Yalçın M.H.**, Tarakçı Gençer B. Immunohistochemical distribution of irisin in the lung and tongue of Porcupine (*Hystrix cristata*). 1. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 13-16 Eylül 2017. Sandıklı-Afyon/Türkiye. (Poster Sunumu).
10. Tarakçı Gençer B., Timurkaan S., **Yalçın M.H.**, Baygeldi S.B., Özkan Z.E., Aslan Y., Yılmaz S., Karan M., Girgin A. Immunohistochemical determination of the some peptide hormones in the endocrine cells in the pancreas of the dwarf hamsters (*Phodopus roborovskii*). 1. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 13-16 Eylül 2017. Sandıklı-Afyon/Türkiye. (Poster Sunumu).
11. Gür F.M., Timurkaan S., **Yalçın M.H.**, Girgin A., Tarakçı Gençer B. Immunohistochemical localization of irisin in mole rats (*Spalax leucodon*). 1. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 13-16 Eylül 2017. Sandıklı-Afyon/Türkiye. (Poster Sunumu).
12. **Yalçın M.H.**, Timurkaan S., Tarakçı Gençer B., Gür M.F., Girgin A., Aydın A. Immunohistochemical localization of irisin in the trigeminal ganglion and superior colliculus of porcupine (*Hystrix cristata*). International Congress on Applied Biological Sciences. 16-20 Eylül 2015. State University of Tetova. Üsküp/Makedonya. (Sözlü Sunum).
13. Tarakçı Gençer B., Girgin A., Timurkaan S., **Yalçın M.H.**, Gür F.M., Karan M. Immunohistochemical study of the distribution of irisin in the dermis hypodermis retina thyroid pineal body of the porcupines (*Hystrix*

cristata). International Congress on Applied Biological Sciences. 16-20 Eylül 2015. State University of Tetova. Üsküp/Makedonya. (Sözlü Sunum).

9.2.2. Ulusal Bildiriler

1. Gözel N., Genç F., Özdemir F.A., Kuloğlu T., Kaya N., **Yalçın M.H.**, Kavak G.Ş., Koca S.S., Dönder E. Vitamin D'nin deneysel diyabetik sıçan böbrek dokusunda matrix metalloproteinase 9 ve apoptozis üzerine etkileri. Gapdiab Türkiye Diyabet Vakfı Güz Kursu. 6-8 Ekim 2017. Double Tree By Hilton. Malatya/Türkiye. (Sözlü Sunum).
2. Girgin A., Tarakçı Gençer B., Timurkaan S., **Yalçın M.H.**, Gür F.M. Immunohistochemical determination of Calbindin D 28k in the gastrointestinal tract thyroid pituitary brain kidney and heart mole rat. 12.Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi. 27-30 Mayıs 2014. Ankara/Türkiye. (Poster Sunumu).

9.3. Projeler

9.3.1. Ulusal Projeler

1. Deneysel diyabetik sıçan böbrek dokusunda matriks metalloproteinaz 9 ve apoptozis üzerine vitamin D'nin etkileri. Tıpta Uzmanlık Projesi. FÜBAP TF.16.22. Araştırmacı. 2016. (Tamamlandı).
2. Deneysel diyabetik rat modelinde retinal dokuda kolekalsiferol'ün etkisinin incelenmesi. Tıpta Uzmanlık Projesi. FÜBAP TF.18.22. Araştırmacı. 2018. (Devam ediyor).

3. Ratlarda deneysel böbrek iskemi-reperfüzyon hasarında elabela, apelin 13 ve nitrikoksit düzeyleri üzerine n-asetilsistein'in etkilerinin incelenmesi. Tıpta Uzmanlık Projesi. FÜBAP TF.18.18. Araştırmacı. 2018. (Devam ediyor).
4. Deneysel diyabetik sıçan böbrek dokusunda adropin ve betatrofin üzerine vitamin D'nin etkileri. Tıpta Uzmanlık Projesi. FÜBAP TF.18.29. Araştırmacı. 2018. (Devam ediyor).

